

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Génomique des Pathologies Humaines

Structure de Recherche : Physiologie et Physiopathologie

Discipline : Pharmacologie et Phytochimie

Spécialité : Neuropharmacologie

Présentée et soutenue le 13/ 07/ 2023 par:

Khadija BOUALAM

TITRE

**Etude de l'effet préventif de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds
contre les comorbidités liées au stress oxydatif**

JURY

Nadia DAKKA	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences - Rabat	Présidente /Rapportrice
Hamid STAMBOULI	PES, Institut de Criminalistique de la Gendarmerie Royale - Rabat	Rapporteur/Examinateur
Lhou MAJIDI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences - Rabat	Rapporteur/Examinateur
Nicolas AYEYSSOU	PES, Université Cheikh Anta Diop, Ecole Supérieure Polytechniques - Dakar	Examinateur
Mansour SOBEH	PH, Université Mohammed VI Polytechniques - Benguerir	Examinateur
Mohamed TABYAOUI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences - Rabat	Co-encadrant
Khalid TAGHZOUTI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences - Rabat	Directeur de thèse

Année Universitaire: 2022/2023

« La science n'atteint jamais son but parce que le but n'en finit pas de se dérober et qu'en vérité, il n'y a pas de but: la science est une tâche infinie. Sa grandeur est de se présenter comme un rêve toujours inassouvi. »

Jean d'Ormesson

DEDICACE

Au terme de cette passionnante aventure intellectuelle, je me tiens aujourd'hui devant vous, remplie d'émotions et de gratitude. Cette thèse est un hommage reconnaissant à tous à ceux qui ont été mes piliers, mes guides, mes inspirations, et tous ceux qui ont contribué à sa réalisation.

A ma précieuse maman, Souad Senhaj, source inépuisable d'amour, de soutien et d'inspiration. Tu as été ma première enseignante, ma confidente et mon roc tout au long de ce parcours académique. Tes encouragements inconditionnels, tes mots de sagesse et ta force inébranlable ont été les fondements sur lesquels j'ai construit cette thèse. À toi, qui as cru en moi lorsque je doutais, qui as essuyé mes larmes de frustration et qui as célébré mes victoires avec une fierté incommensurable, je te dédie humblement ces pages. Tu es la preuve vivante que le dévouement et la persévérance peuvent accomplir des merveilles. Chaque ligne de cette thèse porte la trace de ton amour inconditionnel, de ta patience infinie et de ta confiance indéfectible en mes capacités. Ta présence bienveillante a illuminé chaque étape de ce voyage, et je suis profondément reconnaissant pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi.

A mon Héros, mon cher Papa, Larbi Boualam, mon modèle de force, de sagesse et d'amour inconditionnel. Cette thèse est le fruit de notre lien unique, de ton soutien constant et de ton engagement indéfectible à me voir réussir. À toi, qui m'as transmis le goût de la connaissance, qui m'as encouragée à poursuivre mes rêves et qui as toujours cru en mes capacités, je dédie humblement ces pages. Ton influence positive a façonné ma pensée critique et m'a guidée tout au long de ce voyage académique. Chaque ligne de cette thèse est imprégnée de ton héritage, de tes conseils avisés et de tes mots d'encouragement. Tu as été mon confident et mon meilleur allié dans les moments de doute et de difficulté. Cette dédicace témoigne de l'amour filial profond et de l'immense gratitude que j'ai envers toi, mon cher père. Tu es un exemple de détermination, de persévérance et de générosité, et je suis profondément reconnaissant pour tout ce que tu as fait pour moi. Que ces mots rendent hommage à ton rôle inestimable dans ma vie et marquent l'éternelle reconnaissance de ta fille. Ta présence et ton amour continuent de guider mes pas et d'illuminer mon chemin.

A mes petits frères Saad et Fahd, En témoignage de tout l'amour que j'ai pour vous, je souhaite exprimer ma gratitude infinie pour votre présence dans ma vie. Vous êtes de véritables rayons de soleil qui ont illuminé mon quotidien et qui ont rendu ma vie plus belle. Je tiens également à vous présenter mes plus sincères excuses si, parfois, j'ai pu représenter une source de pression pour vous, qu'on vous ait demandé de suivre mon exemple ou d'être à ma hauteur. Je réalise maintenant que vous êtes uniques, dotés d'intelligence et de talents qui vous sont

propres. Vous avez le pouvoir de façonner votre propre destinée. J'ai une foi inébranlable en vos capacités et je crois en chacun de vous. Je souhaite ardemment que vous puissiez réaliser tous vos rêves, trouver le bonheur dans chaque pas que vous franchissez et connaître le succès dans tous les domaines de votre vie. Sachez que je serai toujours là pour vous, prête à vous soutenir, à vous encourager et à vous tendre la main dans les moments de joie comme dans les moments de difficulté.

A mon aimable tante Nadia Elhrech, C'est avec une profonde admiration et une gratitude infinie que je dédie les pages de ma thèse à votre honneur. Vous avez été la première source d'inspiration qui a éveillé en moi la passion pour la recherche scientifique. Votre dévouement et votre amour pour la science ont été non seulement captivants, mais aussi contagieux. Depuis mon enfance, j'ai grandi en admirant votre parcours, en aspirant à suivre vos pas et à devenir, un jour, comme vous. Aujourd'hui, Je vous dédie ce travail, ainsi qu'à votre merveilleux mari, Oncle Mustapha Elyamani, car il est le fruit direct de votre encouragement, de votre motivation incessante et de votre soutien inébranlable, tant sur le plan moral que financier, ce qui allégé le fardeau des charges matérielles et m'a permis de me concentrer pleinement sur mes recherches. À travers cette dédicace, je souhaite vous exprimer ma gratitude sincère et durable. Vous avez été un mentor, un guide et un pilier solide dans ma vie.

A ma grande merveilleuse Famille, je suis remplie d'une profonde affection et d'une gratitude infinie envers chacun des membres qui composent notre unité. Vous êtes les fondements solides sur lesquels repose ma réussite, et je suis profondément reconnaissante pour votre soutien inconditionnel, votre amour sincère, vos encouragements constants et votre présence réconfortante. Chaque membre de notre famille a joué un rôle unique et précieux dans mon parcours. Que ce soit par des conseils avisés, des encouragements chaleureux, des exemples inspirants ou des sacrifices généreux, vous avez tous contribué, directement ou indirectement, à ma croissance personnelle et à ma réussite académique. Je me considère comme une personne incroyablement chanceuse d'avoir chacun de vous à mes côtés. Votre soutien indéfectible m'a donné la confiance nécessaire pour poursuivre mes rêves. Votre amour inconditionnel m'a enveloppée de chaleur et de réconfort dans les moments de doute et de difficulté. Puissent ces mots transmettre toute la sincérité de mes sentiments et exprimer l'amour et la reconnaissance que je ressens à votre égard.

A mes amies, Mariam Laarabi, Sara El Bernoussi, Hind Ibork, et Sara El Idrissi, je vous dédie mon travail car vous m'avez accompagnée durant toute cette aventure. Nous avons partagé des moments précieux qui me marqueront à vie. Je vous suis reconnaissante pour votre présence, votre fidélité, votre empathie et votre bienveillance. Merci pour votre écoute et

d'avoir toujours trouvé les mots de m'apaiser et m'encourager. Je vous adore et espère que rien ne brisera notre belle amitié.

A Zakaria, je te dédie ce travail car je te suis infiniment reconnaissante d'exister dans ma vie et partager avec moi ton soutien et ton engagement indéfectibles. Tu m'as connue en tant que femme aux grands rêves, avec la tête dans les nuages, et tu as transformé mes rêves en les faisant tiens. Tu as apporté une stabilité émotionnelle précieuse à ma vie. On dit souvent que l'on avance rapidement lorsque l'on est seul, mais que l'on va bien plus loin lorsque l'on est deux, j'espère alors que la vie nous réserve une longue aventure agréablement originale.

Enfin, je dédie cette thèse à la petite fille que j'étais, et je la remercie de ne pas avoir grandi, et d'avoir continué d'exister quelque part en moi. Elle est cette voix qui ne cessait de me rappeler de ne pas baisser les bras à chaque fois que j'étais à bord de l'épuisement. Elle ne cessait de projeter en moi l'image de la femme qui fut mon rêve de devenir, la femme que je deviens aujourd'hui désormais. Je la remercie car elle est demeurée cette facette de moi, indomptable et féroce, qui croit à l'impossible, qui croit à son potentiel, et qui défie sa réalité. Cette petite fille, je lui dois tant, car elle a gardé vivante en moi la flamme de l'espoir et de l'aspiration. À travers les hauts et les bas de ma vie, elle m'a rappelé que je suis capable de réaliser de grandes choses, que je suis digne de succès et que je suis plus forte que je ne l'imagine.

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas avoir lieu sans la contribution de nombreuses personnes. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude en remerciant tous ceux qui m'ont aidé à mener bien ce travail.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire **Physiologie et Physiopathologie** de la Faculté des Sciences Rabat pour m'avoir accueillie durant les années de ma thèse, et permis de réaliser mes travaux de recherches dans une ambiance amicale et positive.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à monsieur **Khalid TAGHZOUTI**, professeur d'enseignement supérieur à la faculté des sciences Rabat et chef du Laboratoire Physiologie et Physiopathologie, d'avoir accepté de m'encadrer durant ma thèse. Sa générosité et son ouverture d'esprit m'ont permis de bénéficier d'une expérience unique et enrichissante. J'ai eu la chance d'apprendre énormément de son expertise et de ses précieux conseils. Sa présence bienveillante, sa disponibilité constante, son écoute attentive et sa contribution active ont été d'une valeur inestimable tout au long de mon parcours. Son soutien indéfectible a été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Je lui suis profondément reconnaissante pour la confiance qu'il m'a accordée et la liberté qu'il m'a offerte au sein de son laboratoire. Sa reconnaissance de mon potentiel et sa volonté de me confier des responsabilités ont été des témoignages de son engagement envers ma réussite. Monsieur, je vous adresse ce témoignage sincère de ma gratitude, de ma profonde reconnaissance et de ma grande estime.

Ma sincère et profonde reconnaissance va également à monsieur **Mohamed TABYAOUI**, qui a également supervisé de près mes travaux de recherches. Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et Pédagogiques de la Faculté des Sciences et membre du Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies, et Environnement, Il a joué un rôle essentiel en tant que co-encadrant tout au long de la préparation de ma thèse et m'a ouvert les portes de son laboratoire de Recherche. Je suis lui suis extrêmement reconnaissante pour sa présence constante et son engagement inébranlable. Sa passion pour la recherche et son dévouement envers la formation des jeunes chercheurs ont été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Je lui suis particulièrement reconnaissante pour m'avoir offert l'opportunité inestimable de réaliser un stage de mobilité au Sénégal. Grâce à cette expérience exceptionnelle, j'ai pu entamer ma thèse avec une source d'inspiration abondante et une richesse d'apprentissage qui resteront à jamais gravées dans ma mémoire. Veuillez monsieur trouver-ici, l'expression de ma très grande considération et reconnaissance.

Je remercie madame **Nadia DAKKA**, professeur d'enseignement supérieur à la Faculté des Sciences Rabat, pour avoir accepté d'être présidente et rapportrice de ma thèse. Sa vaste expertise, son engagement et son mentorat précieux ont grandement contribué à la qualité

de ce travail de recherche.

Je remercie monsieur **Hamid STAMBOULI**, professeur d'enseignement supérieur et directeur de l'Institut de Criminalistique de la Gendarmerie Royale à Rabat, d'avoir accepté le rôle de rapporteur de ma thèse. Son expertise et son engagement envers l'excellence académique ont été des éléments essentiels dans l'évaluation de mon travail de recherche. Ses commentaires judicieux, ses suggestions constructives et son examen minutieux ont grandement contribué à l'amélioration de cette thèse.

Je remercie monsieur **Lhou MAJIDI**, professeur d'enseignement supérieur à la Faculté des Sciences Rabat pour avoir accepté la responsabilité de rapporteur de ma thèse. Ses compétences et son expertise ont été d'une importance capitale dans l'évaluation de mon travail.

Je tiens à exprimer mes chaleureux remerciements à monsieur **Nicolas AYEISSOU**, professeur d'enseignement supérieur et chef du laboratoire d'Electrochimie et de Procédés membranaires de l'École Polytechnique Supérieure de Dakar, pour m'avoir aimablement accueillie au sein de son laboratoire. Sa gentillesse et sa bienveillance ont grandement contribué à mon intégration au sein de son équipe. Je lui suis profondément reconnaissante pour sa patience et son dévouement à l'égard de ma formation en recherche scientifique. Grâce à ses conseils éclairés, j'ai pu acquérir des connaissances précieuses et développer des compétences essentielles dans mon domaine d'étude. Veuillez Monsieur trouver ici l'expression de ma gratitude la plus profonde.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers monsieur **Mansour SOBEH**, professeur habilité à l'Université Mohammed VI Polytechniques de Benguerir. Sa bienveillance et son professionnalisme ont été des éléments clés de mon expérience au sein de son équipe. Je lui suis extrêmement reconnaissante de m'avoir offert l'opportunité d'intégrer son équipe. Grâce à lui, j'ai pu élargir mes connaissances en phytochimie et en techniques d'analyse, domaines essentiels pour le développement de mon travail de recherche. Sa grande expertise dans le domaine et sa volonté de partager ses connaissances ont été d'une valeur inestimable. J'ai énormément appris à travers ses enseignements et ses conseils éclairés. Sa gentillesse et sa disponibilité ont également contribué à créer un environnement de travail favorable, propice à l'apprentissage et à l'épanouissement. Monsieur, je vous adresse mes sincères remerciements pour votre professionnalisme et votre gentillesse. Votre contribution a été essentielle pour mon développement académique et professionnel. Je suis profondément reconnaissante d'avoir eu la chance de travailler sous votre guidance et de bénéficier de votre expertise.

J'aimerais exprimer ma profonde gratitude envers madame **Nezha BOUHADDOU** de l'équipe Physiologie et Physiopathologie de la faculté des sciences de Rabat pour son aide inestimable tout au long de mon parcours. Sa contribution inconditionnelle et généreuse a été d'une importance cruciale pour mon développement académique.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers **la Fondation de France** pour m'avoir offerte l'opportunité de recevoir le prix d'excellence "Khadija Baddouri". Grâce à cette généreuse reconnaissance, j'ai pu bénéficier d'un financement qui a considérablement amélioré les conditions dans lesquelles j'ai entamé ma thèse.

RESUME

Cette thèse explore les propriétés antioxydantes de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds., une plante traditionnellement utilisée au Maroc. L'extrait aqueux de la plante s'est révélé riche en composés tels que le Kaempferol glucuronide, tandis que l'huile essentielle est principalement composée d'oxyde de piperitenone. L'extrait aqueux a présenté la meilleure activité antioxydante. L'étude a également évalué l'activité anti-inflammatoire et analgésique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *M. rotundifolia*, montrant une activité anti-inflammatoire remarquable dans les deux cas. L'effet analgésique était comparable au paracétamol pour certaines doses. De plus, une administration orale chronique de l'hydrolat a eu des effets significatifs sur des animaux âgés de 2 ans, tant sur le plan physique que biochimique. Enfin, l'extrait aqueux a atténué le stress oxydatif et la neurotoxicité induits par le H₂O₂ via l'axe foie-cerveau. En conclusion, *Mentha rotundifolia* présente un potentiel prometteur en tant que stratégie de prévention ou de traitement des comorbidités liées au stress oxydatif.

Mots clés : *Mentha rotundifolia* (L.) Huds., stress oxydatif, activité antiinflammatoire, neurotoxicité, douleur, kaempférol glucuronide, oxyde de piperitenone

ABSTRACT

This thesis explores the antioxidant properties of *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, a plant traditionally used in Morocco. The aqueous extract of the plant was found to be rich in compounds such as Kaempferol glucuronide, while the essential oil is primarily composed of piperitenone oxide. The aqueous extract exhibited the highest antioxidant activity. The study also assessed the anti-inflammatory and analgesic activity of the essential oil and hydrosol of *M. rotundifolia*, demonstrating remarkable anti-inflammatory activity in both cases. The analgesic effect was comparable to paracetamol for certain doses. Furthermore, chronic oral administration of the hydrosol had significant effects on 2-year-old animals, both physically and biochemically. Finally, the aqueous extract attenuated oxidative stress and neurotoxicity induced by H₂O₂ via the liver-brain axis. In conclusion, *Mentha rotundifolia* holds promising potential as a strategy for the prevention or treatment of comorbidities related to oxidative stress.

Keywords: *Mentha rotundifolia* (L.) Huds., oxidative stress, antiinflammatory activity, neurotoxicity,pain, kaempferol glucuronide, piperitenone oxide

FICHE PRESENTATIVE DE LA THESE

- Doctorante : Khadija BOUALAM
- Formation Doctorale : Pharmacologie et Phytochimie
- Intitulé du travail : Etude de l'effet préventif de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. contre les comorbidités liées au stress oxydatif
- Encadrant : Khalid TAGHZOUTI (PES)
Equipe Physiologie et Physiopathologie, Faculté des sciences Rabat
- Co-encadrant : Mohamed TABYAOUI (PES)
Laboratoire des Matériaux, Nanotechnologies, et Environnement ; Faculté des sciences Rabat
- Lieux de réalisation des travaux :
 - Faculté des sciences Rabat
 - Université Mohammed VI Polytechniques de Benguerir
- Période de réalisation du travail de thèse : Février 2019 – Mai 2023

PRINCIPALES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

1. Publications :

K. Boualam, B. Ndiaye, H. Harhar, M. Tabyaoui, N. Ayessou, K. Taghzouti, "Study of the Phytochemical Composition, the Antioxidant and the Anti-Inflammatory Effects of Two Sub-Saharan Plants: *Piliostigma reticulatum* and *Piliostigma thonningii*", *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, vol. 2021, Article ID 5549478, 8 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5549478>

K. Boualam , N. Bouhaddou, M. Sobeh, M. Tabyaoui, K. Taghzouti, *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. aqueous extract attenuates H₂O₂ induced oxidative stress and neurotoxicity. *Front. Neurosci.* 17:1121029 ; 2023;17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1121029>

2. En soumission:

K. Boualam, Z. Lahboub, H. Harhar, M. Tabyaoui, K. Taghzouti, "*Mentha rotundifolia* Huds (L) essential oil and hydrolate are promising painkillers against neuropathic pain", *Food Bioscience Journal* (Submitted), Submission ID: FBIO-D-23-00536

3. Communications dans les congrès nationaux et internationaux :

Z. Ibn Lahmar Andaloussi, **K. Boualam**, K. Taghzouti, O. Abboussi, "Do fathers matter: Behavioural and epigenetic effects of paternal exposure to cannabinoids during adolescence on offspring vulnerability to stress ", La première édition du Symposium: Recherche pour la Valorisation Pharmacologique de la plante Cannabis Sativa", 10 juillet 2021, Hôtel Marchica Lagoon Resort, Nador

K. Boualam, B. Ndiaye, H. Harhar, M. Tabyaoui, N. Ayessou, K. Taghzouti, "Study on the anti-inflammatory effect of two sub-Saharan plants for their use against Epilepsy" International Symposium of Young Researchers in Neuroscience, 12-14 November 2021, Faculty of Sciences Rabat

A. Madkour, N. Messy, **K. Boualam**, H. Ibork, S. Benaich, O. Abboussi, A. Moufid, K. Taghzouti "When the ExAO system is transformed from a pedagogical tool to an RD tool in animal reproduction: The study of the effect of medicinal plant extracts on uterine contractions in the rat with polycystic ovary syndrome" 7th Summer School (ExAO 2022), May 27-28, 2022, Innovation City, Agadir

K. Boualam, H. Harhar, M. Tabyaoui, K. Taghzouti, "Preliminary study of the effect of chronic administration of hydrolates on aging-related comorbidities", Doctoral Days by CEDoc, 20-25 June 2022, Faculty of Sciences Raba

K. Boualam, H. Ibork, M. Tabyaoui, K. Taghzouti, " Effect of *Salvia Officinalis* and *Mentha rotundifolia* leaves extracts on LPS induced Neuroinflammation", 2nd edition of the

International Congress Valorisation of Natural Resources (VARENA 2022), Faculté des sciences Rabat

K. Boualam, Z. Lahboub, H. Harhar, M.Tabyaoui, K. Taghzouti, “ Effect of flowering on the chemical composition, antioxidant activity and analgesic effect of essential oil and hydrolate of *Mentha rotundifolia* L. ”2nd edition of the International Congress Valorisation of Natural Resources (VARENA 2022), Faculty of sciences Rabat

LISTE DES ABREVIATIONS

AMPK: AMP-activated protein kinase	PDI: Protéines disulfure isoméras
ATP: Adénosine triphosphate	PGC-1α : Peroxisome proliferator-activated
ASAT: Aspartate aminotransférase	PON1: Paraoxonase-1
CAT: Catalase	RL: Radicaux libres
CYP2E: cytochrome P450 2E1	SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique
DHLA: Acide dihydrolipoïque	SOD : Superoxyde dismutase
DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle	SRIS : Syndrome de réponse inflammatoire systémique
ERN: Espèces réactives de l'azote	TNF: Facteurs de nécrose tumorale
ERO: Espèces réactives oxygénées	
FM: Fibromyalgie	
FM: Fibromyalgie	
Gamma-GT: Gamma-glutamyltranspeptidase	
GPx: Glutathion peroxydase	
GR: Glutathion réductase	
GSH: Glutathion	
HNE: 4-Hydroxynonéal	
HE: Huile essentielle	
HRBC: Human red blood cell membrane (Membrane des globules rouges humaines)	
IGF-1: Insulin-like Growth Factor One	
MAPK: Mitogen-activated protein kinases	
MDA: Malondialdéhyde	
MPO: Myéloperoxydase	
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	
NOS : Synthases d'oxyde nitrique	
NOX : NADPH oxydase	
OHdG: 8-deoxyguanosine	
OMS: Organisation mondiale de la santé	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Production des ERO au niveau de la mitochondrie	20
Figure 2: Production des ERO au niveau des peroxysomes	21
Figure 3: Production des ERO au niveau du réticulum endoplasmique	22
Figure 4 : Homéostasie Redox	25
Figure 5: Implication du système enzymatique antioxydant dans la défense contre les ROS	27
Figure 6 : Analyse bibliométrique des données relatives aux publications scientifiques sur les effets pharmacologiques des plantes médicinales	41
Figure 7: Exemple de phénol simple (acide gallique)	43
Figure 8: Structure de base des flavonoïdes.....	44
Figure 9: exemples de tannins.....	45
Figure 10: Structure de base des coumarines.....	46
Figure 11: Exemple de stilbènes: Resvératrol.....	47
Figure 12: Exemples d'alcaloïdes	48
Figure 13: Exemple de saponines : Aescine	49
Figure 14: Terpènes commun du genre <i>Mentha</i>	50
Figure 15: Parties aériennes de la plante <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds	55
Figure 16: Distribution géographique de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) huds	55
Figure 17: Description géographique de la zone de récolte.....	61
Figure 18: Profil chromatographique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de <i>M. rotundifolia</i>	65
Figure 19: Profil chromatographique (GC) de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i>	66
Figure 20: Activité antioxydante de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i>	68
Figure 21: Exemple de contorsions abdominales induites par l'administration intrapéritonéale de l'acide acétique.....	74
Figure 22 : Activité anti-inflammatoire in vitro de l'HE et de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> ...	76
Figure 23: Cinétique de l'effet analgésique de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i>	79
Figure 24: Schéma descriptif du déroulement de l'étude.....	82
Figure 25 : Enceinte de l'Open Field.....	83
Figure 26: Appareil du Rotarod	84
Figure 27: Enceinte du Dark/Light Box	85
Figure 28: Enceinte du labyrinthe en Y (test Y-maze)	86
Figure 29 : Deux rats de la même portée assignés à deux groupes différents.....	88

Figure 30 : Effet du vieillissement et du traitement avec l'hydrolat de <i>M.rotundifolia</i> sur la locomotion et la coordination motrice	89
Figure 31 : L'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> prévient significativement l'effet du vieillissement sur le nombre d'entrées dans la zone centrale de l'Open Field (A) et dans la chambre éclairée du Dark/Light Box (B).....	90
Figure 32 : L'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> prévient significativement l'effet du vieillissement sur le nombre le temps passé dans la zone centrale de l'Open Field (A) et dans la chambre éclairée du Dark/Light Box (B).....	90
Figure 33 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> sur le nombre total d'entrées dans le test d'Y-maze.....	91
Figure 34 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> sur le nombre d'entrées dans le nouveau bras.....	92
Figure 35 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> sur l'hyperalgésie liée au vieillissement	93
Figure 36 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> sur l'allydonie liée au vieillissement.....	93
Figure 37 : Schéma descriptif du déroulement de l'étude	98
Figure 38 : La variation de poids corporel des animaux pendant la période de test	100
Figure 39 : Effet de l'interaction entre le traitement de la plante et l'exposition à H ₂ O ₂ sur la locomotion évaluée par le test Open Field.	101
Figure 40 : Effet de l'interaction entre le traitement par la plante et l'exposition à H ₂ O ₂ sur les symptômes de type anxieux évalués par le test Open Field.	102
Figure 41 : Effet de l'interaction entre le traitement à base de plantes et l'exposition à H ₂ O ₂ sur la coordination motrice évaluée par le test du rotarod. Le temps passé sur le cylindre a été calculé	103
Figure 42 : Effet de l'interaction entre le traitement des plantes et l'exposition au H ₂ O ₂ sur la mémoire à court terme évaluée par le test du labyrinthe en Y.	104
Figure 43 : Effet de l'interaction entre le traitement de la plante et l'exposition à H ₂ O ₂ sur l'hyperalgésie évaluée par le test d'immersion de la queue.....	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Liste des ERO et ERN produits durant le métabolisme (Di Meo et al., 2016)	16
Tableau 2: Résultats du dosage des composés phénoliques dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de <i>Mentha rotundifolia</i>	64
Tableau 3 : Phytoconstituants identifiés par LC-MS dans l'extrait aqueux de <i>M.rotundifolia</i>	65
Tableau 4: Phytoconstituants identifiés dans l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i>	66
Tableau 5: Valeurs IC50 de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de <i>M.rotundifolia</i> dans le test DPPH et ABTS	68
Tableau 6 : Valeurs IC50 de l'huile essentielle et l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> (L.) Huds. dans l'activité antiinflammatoire in-vitro	76
Tableau 7: Résultats de l'étude de la toxicité aiguë préliminaire	77
Tableau 8: Effet de l'HE et de l'hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> et du paracétamol sur les douleurs abdominales provoquées par l'acide acétique	77
Tableau 9 : Effet analgésique de l'HE de <i>M. rotundifolia</i> , de l'hydrolat et de la morphine contre le réflexe de retrait de la queue induit par l'eau chaude.....	78
Tableau 10 : Récapitulatif des signes de vieillissement apparus chez les animaux à l'âge de 2 ans.....	87
Tableau 11: Concentrations des marqueurs hépatiques	94
Tableau 12 : Concentrations des enzymes hépatiques	106

SOMMAIRE

DEDICACE	ii
REMERCIEMENT.....	v
RESUME	viii
ABSTRACT.....	iv
FICHE PRESENTATIVE DE LA THESE.....	ix
PRINCIPALES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	x
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xii
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xv
SOMMAIRE	xvi
INTRODUCTION GENERALE.....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I. ESPECES REACTIVES.....	5
1. Définition	5
2. Propriétés des espèces réactives	6
2.1. Radical ionique superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)	6
2.2. Radical hydroxyl (OH^{\cdot}).....	6
2.3. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	7
2.4. Radical peroxyde (ROO^{\cdot})	7
2.5. Oxygène singulet (1O_2).....	7
2.6. Ozone (O_3).....	7
2.7. Acide hypochloreux ($HOCl$)	7
2.8. Monoxyde d'azote (NO^{\cdot})	7
2.9. Peroxynitrite ($OONO^{\cdot}$) et autres espèces réactives de l'azote	8
3. Sources des espèces réactives.....	9
3.1. Sources endogènes	9
3.2. Sources exogènes	11
4. Rôles biologiques des espèces réactives	12

4.1.	Dans les voies de signalisation cellulaires.....	12
4.2.	Dans le muscle squelettique.....	13
4.3.	Dans le système immunitaire.....	13
4.4.	Dans le système nerveux.....	13
II.	HOMEOSTASIE REDOX.....	13
1.	Définition.....	13
2.	Les niveaux d'action des antioxydants.....	14
2.1.	Première ligne de défense.....	14
2.2.	Deuxième ligne de défense.....	14
2.3.	Troisième ligne de défense.....	15
2.4.	Quatrième ligne de défense.....	15
3.	Les classes d'antioxydants.....	15
3.1.	Antioxydants enzymatiques.....	15
3.2.	Antioxydants endogènes non-enzymatiques.....	16
III.	STRESS OXYDATIF ET SES COMORBIDITES.....	20
1.	Définition du stress oxydatif.....	20
2.	Cibles moléculaires des radicaux libres.....	21
2.1.	Acide désoxyribonucléique (ADN).....	22
2.2.	Acide ribonucléique (ARN).....	22
2.3.	Lipides.....	22
2.4.	Protéines.....	22
3.	Physiopathologie du stress oxydatif.....	23
3.1.	Vieillessement.....	23
3.2.	Inflammation chronique.....	23
3.3.	Diabète sucré Type II.....	24
3.4.	Maladies neurodégénératives.....	24
3.5.	Neuropathie chronique.....	26

3.6.	Cancers	26
3.7.	Troubles psychiques	27
3.8.	Maladies hépatiques	28
3.9.	Fibromyalgie	28
IV. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LA PRISE EN CHARGE DES MALADIES		
LIEES AU STRESS OXYDATIF.....		
		29
1.	Généralités.....	29
2.	Plantes médicinales au Maroc	30
3.	Métabolites secondaires et leurs propriétés pharmacologiques	31
3.1.	Les composés phénoliques	31
3.2.	Alcaloïdes.....	36
3.3.	Saponines	37
3.4.	Huiles essentielles.....	38
4.	DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i> (L.) HUDS	41
1.	Présentation de la famille des Lamiacées.....	41
2.	Présentation du genre <i>Mentha</i>	42
3.	Classification botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds.....	43
4.	Description botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds	43
5.	Usages traditionnels de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds.....	44
6.	Composition chimique de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds.....	46
7.	Propriétés pharmacologiques de <i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds	46
7.1.	Activité antioxydante	46
7.2.	Activité anti-inflammatoire	47
7.3.	Activité analgésique et antinociceptive.....	47
7.4.	Activité neuroprotectrice.....	47
7.5.	Activité hépatoprotectrice	48
7.6.	Activité antibactérienne et antifongique	48

PARTIE EXPERIMENTALE.....	49
CHAPITRE 1 : MATERIEL VEGETAL ET ETUDE PHYTOCHIMIQUE	50
I. INTRODUCTION.....	50
II. MATERIEL ET METHODES.....	50
1. Matériel végétal	50
1.1. Sélection du matériel végétal.....	50
1.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	50
1.3. Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat.....	61
2. Dosage phytochimique.....	51
2.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC)	51
2.2. Teneur en flavonoïdes totaux (TFC).....	52
2.3. Teneur en tanins totaux (TTC)	52
3. Analyse LC-MSMS de l'extrait aqueux de <i>Mentha rotundifolia</i>	52
4. GC-MS de l'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i>	52
5. Activité antioxydante	53
5.1. Test DPPH.....	53
5.2. Test ABTS.....	53
6. Analyse statistique	54
III. RESULTATS	54
1. Rendement d'extraction	54
2. Teneur en composés phénoliques	54
3. Caractérisation phytochimique de l'extrait aqueux de <i>M. rotundifolia</i>	54
4. Caractérisation de la composition chimique de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i>	56
5. Activité antioxydante	57
IV. DISCUSSION	58
V. CONCLUSION	60
CHAPITRE 2 : EFFET PREVENTIF DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'HYDROLAT	

DE <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i> (L.) HUDS. CONTRE LES DOULEURS NEUROPATHIQUES	60
I. INTRODUCTION.....	61
II. MATERIEL ET METHODES.....	61
1. Inhibition de la dénaturation d'albumine induite par la chaleur	61
2. Stabilisation de la membrane des erythrocytes.....	62
3. Toxicité aigüe de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> (L.) Huds	62
4. Activité analgésique.....	63
4.1. Groupes d'animaux.....	63
4.2. Contorsions abdominales induites par l'acide acétique	63
4.3. Test de l'immersion de la queue dans l'eau chaude.....	64
5. Analyse statistique	65
III. RESULTATS	65
1. Activité antiinflammatoire <i>in-vitro</i>	65
2. Toxicité aigüe préliminaire.....	66
3. Activité analgésique.....	67
3.1. Test des contorsions abdominales induites par l'acide acétique.....	67
3.2. Test de l'immersion de la queue dans l'eau chaude.....	77
IV. DISCUSSION	69
V. CONCLUSION	70
CHAPITRE 3 : EFFET DE L'ADMINISTRATION CHRONIQUE DE L'HYDROLAT DE <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i> (L.) HUDS SUR LA PREVENTION DES COMORBIDITES LIEES AU VIEILLISSEMENT.....	71
I. INTRODUCTION.....	71
II. MATERIEL ET METHODES.....	71
1. Groupes d'animaux et conception de l'étude	72
2. Analyse des changements physiques	72

3.	Tests de comportement.....	73
3.1.	Test de l'Open Field.....	73
3.2.	Test du Rotarod	73
3.3.	Test de Dark/Light Box.....	74
3.4.	Test du Y-maze.....	75
4.	Test de l'immersion de la queue	76
5.	Test d'acétone pour tester l'allodynie	76
6.	Dosage des biomarqueurs hépatiques	77
7.	Analyse statistique	77
III.	RESULTATS	77
1.	Analyse des changements physiques	77
2.	Troubles comportementaux	78
2.1.	Troubles de locomotion et de coordination motrice.....	78
2.2.	Symptômes de type anxieux.....	79
2.3.	Troubles cognitifs	80
3.	Hyperalgésie liée à l'âge	82
4.	Allodynie liée à l'âge	83
5.	Concentrations des biomarqueurs hépatiques.....	84
	DISCUSSION.....	84
	CONCLUSION.....	85
	CHAPITRE 4 : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE <i>IN-VIVO DE</i> L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i> (L.) HUDS. CONTRE LE STRESS OXYDATIF ET LA NEUROTOXICITE INDUITE PAR H ₂ O ₂	87
I.	INTRODUCTION.....	87
II.	MATERIEL ET METHODES.....	88
1.	Animaux et conception de l'étude	88
2.	Tests de comportement.....	88

3. Sacrifice et dosage des biomarqueurs hépatiques.....	89
4. Analyse statistique	89
RESULTATS	89
1. Suivi des poids des animaux.....	89
2. Tests de comportement	90
2.1. Open Field	90
2.2. Rotarod.....	92
2.3. Y-maze	93
2.4. Test d’immersion de la queue	94
3. Concentrations des biomarqueurs hépatiques	95
III. DISCUSSION	96
IV. CONCLUSION.....	98
CONCLUSION GENERALE.....	98
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	101

INTRODUCTION GENERALE

La chaîne respiratoire mitochondriale joue un rôle clé dans la production d'énergie de la cellule puisque 36 molécules d'adénosine diphosphate (ATP) à fort potentiel énergétique sont générées suite à la réduction de l'oxygène (Antonucci et al., 2021). Cependant, dans des conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % des électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Ježek and Hlavatá, 2005). Il s'agit soit de radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) ou le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2) (Phaniendra et al., 2015). Devant s'adapter à leur présence, l'organisme a développé des méthodes pour utiliser les ERO à son avantage. Ainsi, ils sont impliqués dans plusieurs processus physiologiques complexes tels que la régulation de la croissance, l'apoptose et d'autres voies de signalisation, la régulation de la pression sanguine, la fonction cognitive et la défense immunitaire (Aruoma, 1998). Les organismes aérobies équilibrent les niveaux des ERO grâce à leur système de défense antioxydant sans les éliminer. En outre, dans certains cas, les antioxydants peuvent être incapables d'intercepter certaines ERO tels que (OH^{\cdot}) qui est très réactif et peut réagir rapidement et est donc pratiquement impossible à éliminer. Ainsi, lorsqu'une surcharge de radicaux libres (RL) se produit à la suite d'un métabolisme cellulaire très actif ou d'une mauvaise hygiène de vie (pollution, tabagisme, radiations, médicaments), elle génère un état de stress oxydatif, qui joue un rôle majeur dans l'apparition de maladies chroniques et dégénératives (Birben et al., 2012). Les antioxydants endogènes agissent à plusieurs niveaux pour prévenir ou arrêter le stress oxydatif. Les antioxydants de première ligne de défense comprennent la catalase, le superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase. Ils agissent en empêchant la formation de RL ou des ERO dans les cellules. Les antioxydants de deuxième ligne de défense sont l'acide ascorbique, l'acide urique, le glutathion, l'alpha-tocophérol et l'ubiquinol. Ils neutralisent les RL en donnant des électrons et deviennent eux-mêmes des radicaux libres, mais avec des effets moins nocifs. Les antioxydants de troisième ligne de défense comprennent les systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN et les enzymes protéolytiques (Aziz et al., 2019). Cependant, lorsque l'équilibre oxydant/antioxydant est contrebalancé, l'apport d'antioxydants exogènes, tels que des extraits naturels de plantes, des polyphénols, et des vitamines, est crucial pour minimiser les dommages causés par les EROs. En effet, Il a été démontré que le stress oxydatif participe à un large éventail de maladies, notamment l'athérosclérose, la bronchopneumopathie chronique obstructive, les maladies cardiovasculaires, le diabète type II, les troubles mentaux, la fibromyalgie, les maladies

neurodégénératives et le cancer, ce qui a révélé les multiples mécanismes par lesquels les oxydants contribuent aux dommages cellulaires (Shankar and Mehendale, 2014). Cependant, la mesure dans laquelle le stress oxydatif participe à la pathologie des maladies est très variable. Comprendre lesquelles des espèces réactives causent des dommages aux macromolécules permet de justifier l'amélioration des approches thérapeutiques de la défense antioxydante.

Le genre *Mentha* fait partie de la famille des *Lamiaceae* et contient environ 42 espèces avec une distribution subcosmopolite dans toutes les conditions agroclimatiques (Mimica-Dukic and Bozin, 2008). Le genre est largement connu pour ses huiles essentielles qui sont estimées à plus de 400 millions de dollars US (El-Shemy, 2017). Différentes préparations (teintures, décoctions et cataplasmes) du genre sont traditionnellement utilisées pour traiter plusieurs affections, telles que la mauvaise haleine, les gingivites et les ondoles, les crampes menstruelles, les infections respiratoires et gastro-intestinales, ainsi que comme agents sédatifs, diurétiques, carminatifs et antispasmodiques (Tafrihi et al., 2021).

Mentha rotundifolia (L.) Huds. (*M. rotundifolia*) est une herbe hybride pérenne issue d'un croisement entre *M. suaveolens* et *M. longifolia* (Denslow and Poindexter, 2009). La plante est traditionnellement utilisée pour ses propriétés analgésique, antiseptique et anti-inflammatoire contre les plaies et les infections (Ben Haj Yahia et al., 2019a). Elle a également fourni une pléthore d'activités biologiques, parmi lesquelles des activités antioxydantes, antityrosinase, anti-acétylcholinestérase et insecticides. Ces propriétés ont été attribuées à sa richesse en plusieurs composés phénoliques avec l'acide Rosmarinique comme métabolite principal (Ben Haj Yahia et al., 2019b).

Ainsi, l'objectif de ce travail est de valoriser l'effet antioxydant de l'huile essentielle, l'hydrolat et l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* dans la prévention ou le traitement de plusieurs comorbidités liées au stress oxydatif à savoir le vieillissement, les douleurs neuropathiques, l'inflammation, et la neurotoxicité. La plupart des travaux antérieurs sur les effets biologiques de *M. rotundifolia* n'incluent que des tests *in-vitro* ou ne s'intéressent qu'à son huile essentielle. Désormais, notre intérêt est de valider ses propriétés pharmacologiques *in-vivo* avec des modèles animaux adaptés pour mieux comprendre sa pharmacocinétique, ses mécanismes d'action et sa toxicité.

Ce manuscrit est divisé en deux parties principales ; la première est dédiée à la revue bibliographique et la deuxième à la partie expérimentale que nous avons choisi de structurer en chapitres. La première partie a permis de situer le contexte général du travail en présentant l'état de connaissance actuelle sur le stress oxydatif et le rôle causal qu'il joue dans les comorbidités auxquelles nous nous sommes intéressés. Elle inclue également les données botaniques et

phytochimique de *M. rotundifolia*, ainsi que ses propriétés pharmacologiques déjà confirmées par les études scientifiques précédentes. Quant à la partie expérimentale, elle est subdivisée en quatre chapitres distincts. Le premier est l'étude phytochimique où la composition chimique de l'huile essentielle, l'hydrolat et l'extrait aqueux, leur teneur en polyphénols et leur activités antioxydantes in-vitro ont été étudiées. Le deuxième chapitre est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et analgésique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *M. rotundifolia*. Le troisième chapitre est une étude de l'effet préventif potentiel de l'administration orale chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* contre les comorbidités liées au vieillissement. Et le quatrième chapitre est une étude qui met en évidence l'activité antioxydante et neuroprotectrice de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia*. A la fin, nous avons terminé par une conclusion générale et les perspectives tirées de ce travail.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ESPECES REACTIVES

1. Définition

Les espèces réactives ou oxydants, sont les termes communs pour les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Ce sont des sous-produits des processus cellulaires aérobie clés de la respiration, du métabolisme et de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale (Devi et al., 2014). Elles sont éliminées en permanence par une série de mécanismes antioxydants. Ces espèces peuvent être des radicaux libres ou des espèces non radicalaires (Tableau 1). Les radicaux libres sont les espèces qui contiennent au moins un électron non apparié dans les coquilles autour du noyau atomique et qui sont capables d'une existence indépendante. La grande réactivité de ces radicaux est due à la présence d'un électron non apparié qui a tendance à le donner ou à obtenir un autre électron pour atteindre la stabilité (Phaniendra et al., 2015). Les espèces non radicalaires ne contiennent pas d'électrons non appariés, mais peuvent facilement conduire à des réactions radicalaires dans les organismes vivants (Çiçek, 2022).

Tableau 1: Liste des ERO et ERN produits durant le métabolisme (Di Meo et al., 2016)

		Symbole	Demi-vie	
Radicaux libres	-Espèces réactives d'oxygène:			
	Superoxyde	$O^{\cdot -}$	10^{-6} s	
	Hydroxyl	OH^{\cdot}	10^{-10} s	
	Radical Alcoxyle	RO^{\cdot}	10^{-6} s	
	Radical peroxyde	ROO^{\cdot}	17 s	
	-Espèces réactives d'azote:			
	Oxyde nitrique	NO^{\cdot}	variable	
	Dioxyde d'azote	NO_2^{\cdot}	variable	
	Espèces non-radicalaires	-Espèces réactives d'oxygène:		
		Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Stable
Oxygène singulet		1O_2	10^{-6} s	
Ozone		O_3	-	
Peroxyde organique		$ROOH$	Stable	
Acide hypochloreux		$HOCl$	Stable	
Acide hypobromeux		$HOBr$	Stable	
-Espèces réactives d'azote:				
Peroxynitrite		$ONOO^-$	10^{-3} s	
Cation nitrosyle		NO^+	variable	
Anion nitroxyle		NO^-	variable	
Trioxyle de diazote		N_2O_3	variable	
Tétraoxyde de diazote		N_2O_4	variable	
Acide nitreux		HNO_2	variable	
Acide peroxyde nitreux		$ONOOH$	Assez stable	
Chlorure de nitrile	NO_2Cl	variable		

2. Propriétés des espèces réactives

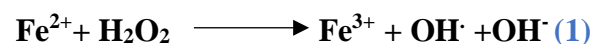
2.1. Radical ionique superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

Le radical anionique superoxyde est l'ERO la plus répandue formée par le processus enzymatique, la réaction d'auto-oxydation, et les réactions non enzymatiques de transfert d'électrons dans lesquelles un électron est transféré à l'oxygène moléculaire (Sailaja Rao et al., 2011). Il est principalement produit dans les mitochondries et sa réactivité avec les biomolécules est faible. Les enzymes qui peuvent produire du superoxyde comprennent la xanthine oxydase, la lipooxygénase, la cyclooxygénase et l'oxydase dépendante du NADPH (Montezano and Touyz, 2012). Le superoxyde peut exister sous deux formes : $O_2^{\cdot-}$ ou radical hydroperoxyde (HO_2) dans les conditions à faible pH. Ce dernier est le plus important et peut facilement pénétrer dans la bicouche phospholipidique. Sous un Ph physiologique, la forme la plus présente est le superoxyde. Il peut agir comme agent réducteur et réduire les complexes de fer tels que le cytochrome-c et l'acide ferrique-éthylène-diamine-tétra-acétique (Fe^+-EDTA), dans lequel Fe^{3+} est réduit en Fe^{2+} (Aruoma, 1998). Il peut également agir comme agent oxydant et oxyder l'acide ascorbique et le tocophérol.



2.2. Radical hydroxyl (OH^{\cdot})

Le radical hydroxyle est un radical libre très réactif. Il peut réagir fortement avec les molécules organiques et inorganiques, y compris l'ADN, les protéines, les lipides et les hydrates de carbone, et causer de graves dommages aux cellules (Birben et al., 2012). Il est formé dans une réaction de Fenton, dans laquelle H_2O_2 réagit avec des ions métalliques (Fe^{2+} ou Cu^+), souvent liés en complexe avec différentes protéines telles que la ferritine (une protéine intracellulaire qui stocke le fer) et la céruloplasmine (protéine plasmatique transportant le cuivre) ou d'autres molécules (Lloyd et al., 1997). Dans des conditions de stress, un excès d' $O_2^{\cdot-}$ libère le fer libre de la ferritine qui participe à la réaction de Fenton (Eq. 1) pour former OH^{\cdot} . Il est également formé par la réaction entre le radical superoxyde et H_2O_2 dans une réaction appelée réaction de Haber-Weiss (Eq. 2).



2.3. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène se forme *in vivo* dans une réaction de dismutation catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) (Eq. 3). Ce n'est pas un radical libre mais il peut causer des dommages à la cellule à une concentration relativement faible (10 µM) comme il peut facilement pénétrer les membranes biologiques. H₂O₂ n'a pas d'effet direct sur l'ADN mais peut endommager l'ADN en produisant un radical hydroxyle (OH⁻) en présence d'ions de métaux de transition (Valko et al., 2016).

Cu, Zn, Mn, SOD

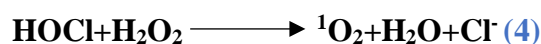


2.4. Radical peroxyde (ROO•)

Il est dérivé de l'oxygène dans les systèmes vivants. La forme la plus simple du radical peroxyde est le radical perhydroxyle (HOO⁻) qui est formé par la protonation du superoxyde. Environ 0,3 % de l'O₂^{•-} total dans le cytosol d'une cellule typique est sous la forme protonée. Il déclenche la peroxydation des acides gras et peut également favoriser le développement de tumeurs (Valko et al., 2007).

2.5. Oxygène singulet (¹O₂)

Il s'agit d'un état électroniquement très excité et métastable de l'oxygène moléculaire. Il s'agit d'un agent oxydant très puissant qui peut causer des dommages à l'ADN et aux tissus (Kuncewicz et al., 2019). L'oxygène singulet est produit *in-vivo* par l'activation des neutrophiles (Eq. 4) et des éosinophiles. Il est également formé par certaines des réactions enzymatiques catalysées par des enzymes telles que les lipoxigénases, les dioxygénases et la lactoperoxydase (Tarr and Valenzano, 2003).

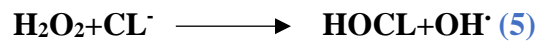


2.6. Ozone (O₃)

L'ozone est un oxydant puissant qui peut être produit *in vivo* par la voie d'oxydation de l'eau catalysée par les anticorps et qui joue un rôle important dans l'inflammation. Il peut former des radicaux libres et d'autres intermédiaires réactifs en oxydant les molécules biologiques (Lerner and Eschenmoser, 2003). Il peut provoquer la peroxydation des lipides et oxyder différents groupes fonctionnels présents dans les protéines et les acides nucléiques (Pryor et al., 2002). Il peut également provoquer des aberrations chromosomiques qui peuvent être dues à une attaque directe par l'O₃ ou par les radicaux libres qu'il génère (Halliwell and Aruoma, 1991).

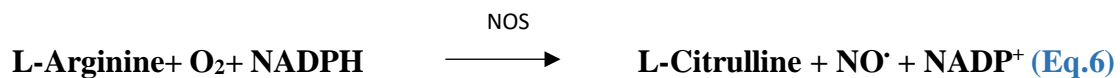
2.7. Acide hypochloreux (HOCl)

C'est un oxydant majeur produit par les neutrophiles activés au site de l'inflammation à partir de peroxyde d'hydrogène et de chlorure dans une réaction catalysée par l'enzyme myéloperoxydase (Eq.5) (Kettle and Winterbourn, 1997). Le HOCl est une espèce fortement réactive impliquée dans les réactions d'oxydation et de chloration. Il peut oxyder les thiols et d'autres molécules biologiques, notamment l'ascorbate, l'urate, les nucléotides de pyridine et le tryptophane (Winterbourn and Kettle, 2000). Le HOCl chlore plusieurs composés tels que les amines, les résidus tyrosyl, le cholestérol et les lipides insaturés ce qui en résulte la formation des chloramines, des produits chlorés cycliques, et des chlorhydrines (Andrés et al., 2022).



2.8. Monoxyde d'azote (NO•)

Il s'agit d'une molécule produite dans les tissus par différentes synthèses d'oxyde nitrique (NOS) qui convertissent la L-arginine en L-citrulline (Eq.6). Dans cette réaction, l'un des atomes d'azote guanido terminaux subit une oxydation et produit du NO• (Boucher et al., 1999). Trois types d'isoformes de NOS existent, notamment la NOS neuronale (nNOS), la NOS endothéliale (eNOS) et la NOS inductible (iNOS). Il est à la fois soluble dans l'eau et dans les lipides et se diffuse donc facilement à travers le cytoplasme et la membrane plasmique (Rauhala et al., 2005). Le NO• est un important second messager intracellulaire qui stimule la guanylate cyclase et les protéines kinases et contribue à la relaxation des muscles lisses dans les vaisseaux sanguins. Il peut également agir comme un important régulateur redox cellulaire et réguler l'activité enzymatique en nitrosylant les protéines (Murad, 2011)



2.9. Peroxynitrite (OONO⁻) et autres espèces réactives de l'azote

Le peroxynitrite (OONO⁻) est formé par la réaction entre O₂ et NO. Il est très toxique et peut réagir directement avec le CO₂ pour former d'autres nitroso peroxy carboxylate (ONOOCO₂⁻) ou de l'acide peroxynitrique (ONOOH) très réactifs. Les ONOOH subissent ensuite une homolyse pour former à la fois OH⁻ et NO₂ ou se réarrangent pour former NO₃. OONO peut oxyder les lipides, les résidus de méthionine et de tyrosine dans les protéines et l'ADN pour former de la nitroguanine (Tvrdá and Benko, 2020). Les résidus de nitrotyrosine sont considérés comme des marqueurs de dommages cellulaires induits par le peroxynitrite. Le NO réagit avec O₂ et l'eau pour former des ions nitrate et nitrite. L'oxydation du NO• par un

électron donne le cation nitrosonium (NO_2^+) tandis que la réduction par un électron donne l'anion nitroxyle (NO^-). Ces deux ions peuvent réagir avec NO et former N_2O et OH^\cdot . NO^\cdot peut réagir avec une variété de radicaux tels que H_2O_2 et HOCl pour former N_2O_3 , NO_2^- et NO_3^- (McIlvin and Altabet, 2005).

3. Sources des espèces réactives

3.1. Sources endogènes

Les radicaux libres endogènes sont générés par l'activation des cellules immunitaires, l'inflammation, le stress mental, l'exercice excessif, l'ischémie, l'infection, le cancer, et le vieillissement. La formation des ERO et de ERN peut se produire dans les cellules de deux manières : par des réactions enzymatiques et non enzymatiques (Pham-Huy et al., 2008). Les réactions enzymatiques générant des radicaux libres incluent celles impliquées dans la chaîne respiratoire, la phagocytose, la synthèse des prostaglandines et le système du cytochrome P450. Les processus non-enzymatiques impliquent les réactions de l'oxygène avec des composés organiques, ainsi que ceux initiés par les radiations ionisantes. Le processus non enzymatique peut également se produire pendant la phosphorylation oxydative dans les mitochondries (Chen et al., 2012).

3.1.1. Au niveau de la mitochondrie

Le transfert d'électrons du complexe I ou II au coenzyme Q ou à l'ubiquinone (Q) entraîne la formation de la forme réduite du coenzyme Q (QH_2). La forme réduite QH_2 régénère le coenzyme Q via un anion semiquinone intermédiaire instable $^\cdot\text{Q}$ dans le cycle Q (Zorov et al., 2014). Le Q formé transfère immédiatement des électrons à l'oxygène moléculaire, ce qui conduit à la formation du radical superoxyde (**Figure 1**). La génération de superoxyde n'est pas enzymatique et, par conséquent, plus le taux métabolique est élevé, plus la production des ERO est importante (Andruxhiv et al., 2006). Les autres composants mitochondriaux qui contribuent à la formation des ERO sont la monoamino oxydase, l'akéto-glutarate déshydrogénase, le glycérol phosphate déshydrogénase et la p66shc (Antonucci et al., 2021).

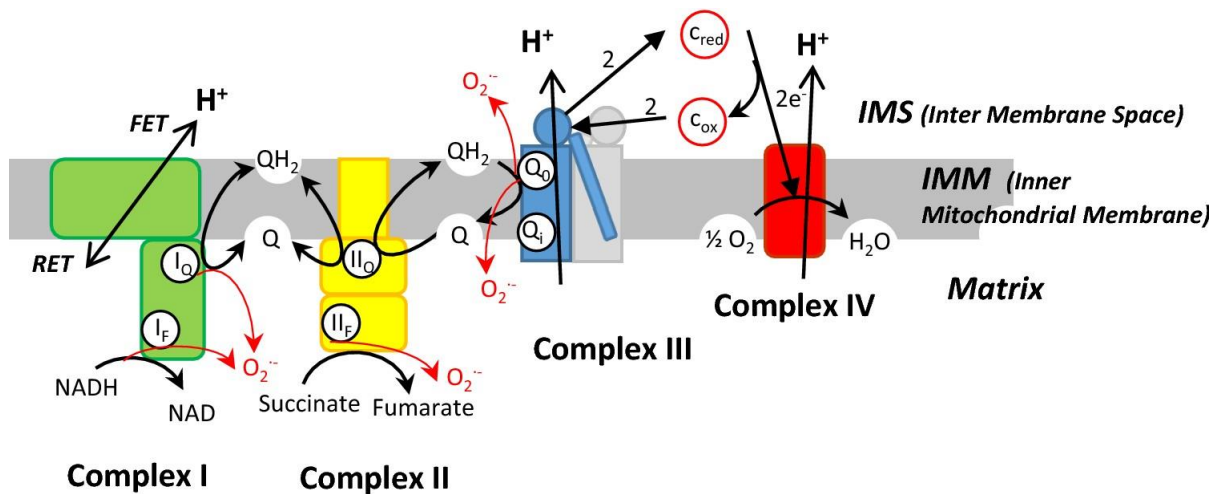


Figure 1: Production des ERO au niveau de la mitochondrie : Sites possibles de production des ERO (flèches rouges) dans la chaîne respiratoire. FET transport direct d'électrons (avec NADH), RET transport inverse d'électrons (avec succinate) (Mazat et al., 2020)

3.1.2. Au niveau des peroxysomes

Dans les peroxysomes, la voie respiratoire implique le transfert d'électrons de divers métabolites vers l'oxygène, ce qui conduit à la formation de H_2O_2 , mais elle n'est pas couplée à la phosphorylation oxydative pour produire de l'ATP ; au contraire, l'énergie libre est diffusée sous forme de chaleur (Sandalio et al., 2013). Les autres radicaux libres produits dans les peroxysomes comprennent H_2O_2 , O_2 , OH^- et NO^- . La β -oxydation des acides gras est le principal processus métabolique produisant H_2O_2 dans les peroxysomes (Figure 2). Il a été démontré que les différentes enzymes peroxysomales, telles que les acyl CoA oxydases, la D-aminoacide oxydase, la L- α -hydroxy oxydase, l'urate oxydase, la xanthine oxydase, la D-aspartate oxydase, produisent différents ERO (Antononkov et al., 2010).

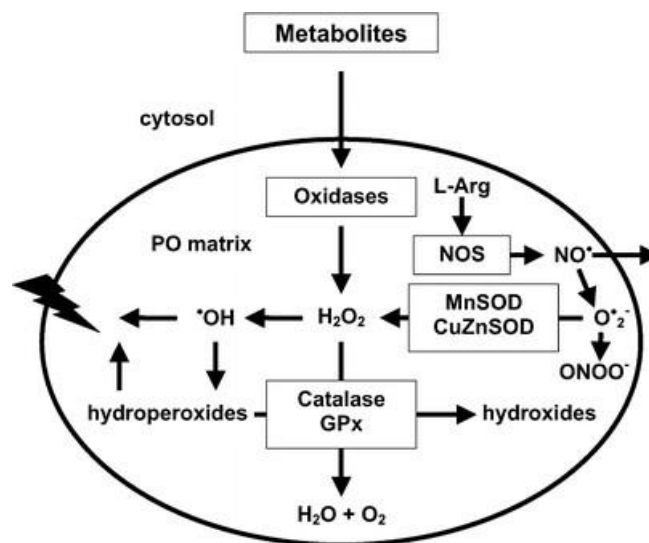


Figure 2: Production des ERO au niveau des peroxysomes (Schrader and Fahimi, 2004)

3.1.3. Au niveau du réticulum endoplasmique

À l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE), les ERO sont produits à partir de processus catalytiques par l'oxydoréductase Ero1 et par au moins un membre de la famille des NADPH oxydases (NOX) (Yoboue et al., 2018)(Figure 3). Ero1 utilise le pouvoir oxydant de l'oxygène moléculaire pour initier des relais redox qui conduisent finalement à la génération de liaisons disulfure dans les protéines nouvellement synthétisées et repliées, identifiant ainsi le repliement oxydatif des protéines comme une source cellulaire majeure des ERO (Sevier and Kaiser, 2002). Les partenaires importants de ce relais sont les membres de la famille des protéines disulfure isomérases (PDI), des assistants de repliement avec des domaines semblables à la thiorédoxine (Trx) qui catalysent la formation ou l'isomérisation de liaisons disulfure inter- et intra-moléculaires dans les protéines du RE. La PDI réduite conserve des fonctions catalytiques en tant qu'isomérase, mais aussi en tant qu'enzyme nécessaire pour éliminer les protéines mal repliées du RE via son pouvoir réducteur, potentiellement en collaboration avec une autre oxydoréductase du RE (Määttä et al., 2010).

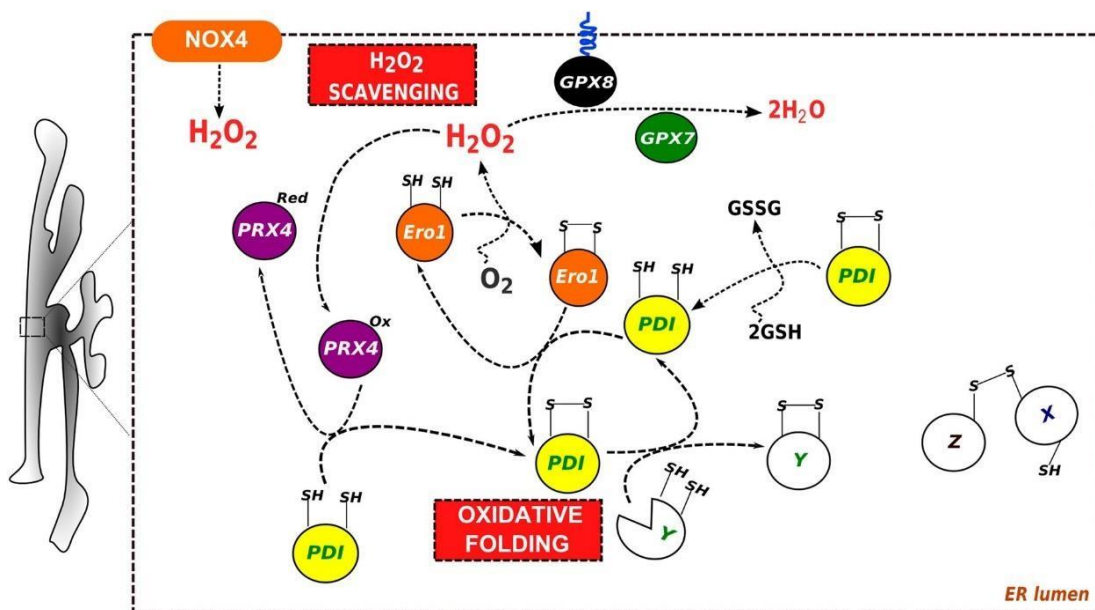


Figure 3: Production des ERO au niveau du réticulum endoplasmique (Yoboue et al., 2018)

3.2. Sources exogènes

Les ERO/ERN exogènes proviennent de la pollution de l'air et de l'eau, de la fumée de cigarette, de l'alcool, des métaux lourds ou de transition (Cd, Hg, Pb, Fe, As), de certains médicaments (cyclosporine, tacrolimus, gentamycine, bléomycine), des solvants industriels, de la cuisine (viande fumée, huile usagée, graisse), ou des radiations (Phaniendra et al., 2015). Après avoir pénétré dans l'organisme par différentes voies, ces composés exogènes sont décomposés ou métabolisés en radicaux libres.

4. Rôles biologiques des espèces réactives

4.1. Dans les voies de signalisation cellulaires

Les ERO jouent un rôle important dans la promotion et l'inhibition des processus cellulaires, qui contrôlent la concentration des hormones, l'équilibre chimique et l'activation des enzymes. Leur régulation est donc cruciale pour le bon fonctionnement des fonctions physiologiques. Toute modification dans leur concentration a un impact significatif sur l'état physiologique de nombreux systèmes biologiques. L'expression accrue de certaines protéines cytoprotectrices, telles que les protéines de choc thermique, peut réduire la formation des ERO. Elles sont également responsables des réponses cellulaires aux facteurs de stress. Par exemple, les ERO peuvent induire l'activation du facteur nucléaire kappa-lightchain-enhancer des cellules B activées (NF- κ B), un complexe protéique responsable du contrôle de la transcription de l'ADN. En outre, les ERO peuvent influencer les changements dans la fonction mitochondriale, l'expression de certaines protéines de stress et l'activité des antioxydants. La concentration des ERO est réduite par les antioxydants, ce qui peut entraîner des cascades biologiques qui influencent le métabolisme, la régulation vasculaire et l'absorption du glucose (L. Zuo et al., 2015).

4.2. Dans le muscle squelettique

Au cours d'une activité contractile intense des muscles squelettiques, les mitochondries des myotubes génèrent des flux élevés des ERO: cela fait du muscle squelettique un tissu où les ROS revêtent une importance particulière. En fonction de leur nature hormétique, les ERO peuvent déclencher dans les muscles différentes voies de signalisation conduisant à des réponses divergentes, de l'adaptation à la mort cellulaire. La prédominance d'une réponse "positive" ou "négative" dépend de nombreuses variables telles que le site de production des ERO, la persistance de leur flux ou le statut antioxydant des cellules cibles (Barbieri and Sestili, 2012). Les ERO activent des molécules de signalisation clés spécifiques telles que PGC-1 α , AMPK et MAPK, qui contrôlent les mécanismes cellulaires d'adaptation musculaire (métabolisme oxydatif, biogenèse mitochondriale et fonctionnalité mitochondriale) ainsi que les enzymes antioxydantes qui fonctionnent comme des régulateurs des niveaux intracellulaires des ERO (Adhietty et al., 2003). Une légère accumulation de ces derniers inhibe également les pyrophosphatases et favorise l'état de phosphorylation de nombreuses protéines impliquées dans les réponses de signalisation du muscle. De plus, de faibles niveaux des ERO jouent un rôle important dans l'induction de la régulation à la hausse de facteurs de croissance tels que l'IGF-1, qui a des effets bénéfiques sur l'équilibre protéique musculaire, soutient le métabolisme oxydatif et contribue au développement d'un phénotype résistant aux oxydants, prévenant ainsi

les dommages oxydatifs et les maladies chroniques (Damiano et al., 2019). Ainsi, de faibles niveaux des ERO provoquent des effets positifs sur les réponses physiologiques des muscles.

4.3. Dans le système immunitaire

Les ERO jouent de nombreux rôles importants dans le système immunitaire et sont intimement impliqués dans divers aspects de la réponse immunitaire, tels que la défense de l'hôte, l'interaction et l'activation des cellules immunitaires, et la suppression immunitaire. Lors de la rencontre avec un agent pathogène, notre système immunitaire a développé un certain nombre de stratégies pour contenir et éliminer les agents pathogènes (Yang et al., 2013). Parmi celles-ci, les ERO, principalement dérivés de la NADPH oxydase et des mitochondries, sont une arme conservatrice utilisée par les cellules immunitaires (Schröder, 2019). On pensait auparavant que la défense de l'hôte médiée par les ERO s'effectuait simplement par leur activité microbicide directe. Cependant, des découvertes récentes ont montré que les ERO ne tuent pas seulement les agents pathogènes par eux-mêmes, mais mobilisent également d'autres stratégies antimicrobiennes (Dryden, 2018). En outre, les ERO sont impliqués dans la détection de la présence d'agents pathogènes, ainsi que dans la détection des lésions tissulaires.

4.4. Dans le système nerveux

La signalisation des ERO est un régulateur important de la différenciation et de la polarisation neuronale, de la croissance des axones, de la formation et de la maturation des synapses (Oswald et al., 2018). Les ERO peuvent agir comme des signaux pour la neurogenèse adulte dans les systèmes nerveux central et périphérique. Le H_2O_2 endogène régule la signalisation de la croissance pour maintenir la prolifération des cellules progénitrices hippocampiques adultes. En outre, La croissance des axones et des dendrites polarisés est une étape critique dans le développement des circuits cérébraux, et les ERO semblent être des régulateurs positifs de ce processus. La synthèse de H_2O_2 par les NOX peut donc induire la formation et la maturation des axones et des dendrites (Biswas et al., 2022).

II. HOMEOSTASIE REDOX

1. Définition

Les ERO sont présents de manière intracellulaire à des doses appropriées. Leurs concentrations sont régulées par l'équilibre entre les taux de production et d'élimination par le système antioxydant. Ainsi, au repos, la balance entre antioxydants et pro-oxydants (balance redox) doit être équilibrée (Halliwell and Gutteridge, 2015). Comme il a été déjà présenté, les ERO participent à plusieurs fonctions physiologiques et contribuent à l'homéostasie globale de l'organisme (**Figure 4**). En revanche, l'accumulation excessive des ERO, qui se manifeste par

une perte de la capacité de signalisation et des dommages non spécifiques aux macromolécules cellulaires qui contribue à différentes pathologies, est qualifiée de mauvais stress ou de détresse (Milkovic et al., 2019). C'est pourquoi, au lieu de les éliminer, l'organisme possède une machinerie antioxydante comprenant des enzymes et des antioxydants non enzymatiques.

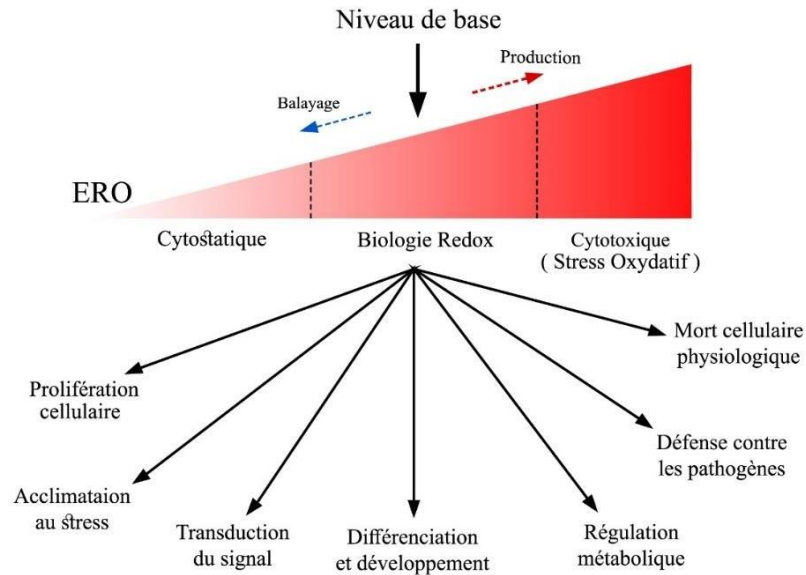


Figure 4 : Homéostasie Redox (Mittler, 2017)

2. Les niveaux d'action des antioxydants

2.1. Première ligne de défense

Il s'agit d'antioxydants qui agissent pour supprimer ou prévenir la formation de radicaux libres ou d'espèces réactives dans les cellules. Ils neutralisent très rapidement toute molécule ayant le potentiel de se transformer en radical libre ou tout radical libre ayant la capacité d'induire la production d'autres radicaux. Trois enzymes clés sont en tête de liste : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes dismutent respectivement le radical superoxyde, décomposent les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes en molécules inoffensives (H_2O_2 /alcool et O_2). La classe comprend également des protéines liant les ions métalliques comme la transferrine et la caeruloplasmine qui chélatent ou séquestrent respectivement le fer et le cuivre, les empêchant ainsi de former des radicaux libres (Pham-Huy et al., 2008).

2.2. Deuxième ligne de défense

Ce groupe d'antioxydants est souvent appelé antioxydants piègeurs. Ils piègent les radicaux actifs pour inhiber les réactions d'initiation et de propagation de la chaîne. Ils neutralisent ou éliminent les radicaux libres en leur donnant des électrons et, ce faisant, deviennent eux-mêmes des radicaux libres, mais avec des effets nocifs moindres. Ces "nouveaux radicaux" sont facilement neutralisés et rendus totalement inoffensifs par d'autres

antioxydants de ce groupe. La plupart des antioxydants, notamment l'acide ascorbique, l'acide urique, le glutathion, qui sont hydrophiles, l'alpha-tocophérol (vitamine E) et l'ubiquinol qui sont lipophiles, appartiennent à ce groupe (Aziz et al., 2019).

2.3. Troisième ligne de défense

Cette catégorie d'antioxydants n'entre en jeu qu'après que les dommages causés par les radicaux libres se soient produits. Ce sont des novo-enzymes qui réparent les dommages causés par les radicaux libres aux biomolécules et reconstituent la membrane cellulaire endommagée. Ils constituent un groupe d'enzymes pour la réparation de l'ADN, des protéines et des lipides endommagés. Elles effectuent également une sorte de "travail de nettoyage", en reconnaissant, décomposant et éliminant les protéines, l'ADN et les lipides oxydés ou endommagés, afin d'éviter leur accumulation qui peut être toxique pour les tissus de l'organisme. Parmi les exemples courants, citons les systèmes d'enzymes de réparation de l'ADN (polymérase, glycosylases et nucléases), les enzymes protéolytiques (protéases, protéases et peptidases) qui sont situées à la fois dans le cytosol et dans les mitochondries des cellules de mammifères (Skala et al., 2016).

2.4. Quatrième ligne de défense

L'action de ces "antioxydants" implique essentiellement un mécanisme d'adaptation dans lequel ils utilisent les signaux nécessaires à la production et à la réaction des radicaux libres pour empêcher la formation ou la réaction de ces radicaux. Le signal généré par le radical libre formé induit la formation et le transport d'un antioxydant approprié au bon endroit (Ighodaro and Akinloye, 2018).

3. Les classes d'antioxydants

3.1. Antioxydants enzymatiques

La SOD, la CAT et la GPx sont des enzymes antioxydantes qui jouent un rôle indispensable dans la capacité de protection antioxydante des systèmes biologiques contre l'attaque des radicaux libres. Le radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ou le radical oxygène singlet ($^1\text{O}_2$) généré dans les tissus par le métabolisme ou les réactions dans les cellules est converti catalytiquement en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2) par la SOD. Le H_2O_2 , lorsqu'il s'accumule, est toxique pour les tissus ou les cellules de l'organisme. De plus, en présence de Fe_2^+ , il est converti en radical hydroxyle (OH^{\cdot}) délétère par la réaction de Fenton. Afin de prévenir ce phénomène, la CAT qui est abondante dans les peroxysomes, décompose H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire, réduisant ainsi les dommages induits par les radicaux libres (Kovač et al., 2022). Cependant, la CAT étant absente des mitochondries, la réduction de H_2O_2 en eau et des peroxydes lipidiques en alcools correspondants est effectuée

par la GPx (**Figure 5**). Cet effort de protection collectif est appelé défense antioxydante de première ligne. Le rôle et l'efficacité des antioxydants impliqués, sont donc indispensables dans l'ensemble de la stratégie de défense des antioxydants, en particulier en ce qui concerne le radical anionique superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) qui est perpétuellement généré dans le métabolisme normal du corps par plusieurs processus.

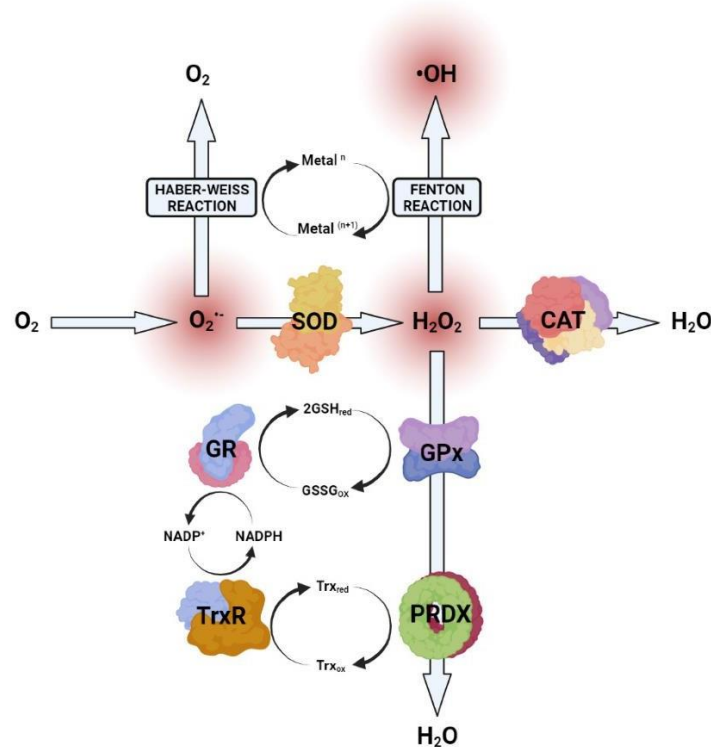


Figure 5: Implication du système enzymatique antioxydant dans la défense contre les ROS (Kovač et al., 2022)

3.2. Antioxydants endogènes non-enzymatiques

3.2.1. Glutathion

Le glutathion (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine; GSH) est un tripeptide et l'antioxydant intracellulaire le plus abondant qui protège les cellules normales des lésions oxydatives grâce à son rôle de substrat des enzymes qui éliminent les ERO. Le glutathion est principalement présent sous sa forme réduite (GSH) dans des conditions normales, seule une petite quantité étant présente à l'état totalement oxydé (GSSG) (Arredondo et al., 2016). Le glutathion fonctionne comme un antioxydant non enzymatique en piégeant les radicaux libres dans les cellules et sert de cofacteur pour plusieurs enzymes, notamment la GPx, la glutathion réductase (GR) et la glutathion transférase (GST) (Pizzorno, 2014).

3.2.2. Acide urique

L'acide urique, en cas d'hyperuricémie, est un puissant piègeur de radicaux libres et sa capacité à piéger les radicaux libres dans le plasma est estimée à environ 60 % (Ames et al.,

1981). L'acide urique est un antioxydant physiologique et une prévention efficace de la production d'ERO pendant l'action de la xanthine oxydase (XO) dans la réaction de catalyse de la xanthine et de l'hypoxanthine (Skowrya, 2014). Une étude a illustré la capacité de l'urate à piéger les radicaux oxygénés et à protéger la membrane érythrocytaire de l'oxydation lipidique, caractérisée en outre par Ames et al. par l'effet de l'acide urique dans la protection des cellules contre les oxydants, ce qui est lié à une variété de situations physiologiques (Ames et al., 1981). Néanmoins, il est probable que l'augmentation du taux sérique d'acide urique soit une réponse pour se protéger contre les effets néfastes des radicaux libres extrêmes et du stress oxydatif.

3.2.3. Acide lipoïque

L'acide lipoïque est un antioxydant puissant, et il révèle une grande capacité d'antioxydant lorsqu'il est administré naturellement ou comme médicament synthétique. L'acide lipoïque est un acide gras à chaîne courte, composé de soufre dans leur structure qui est connu pour sa contribution dans la réaction qui catalyse l'oxydation décarboxylation des α -acides cétoniques, par exemple le pyruvate et l' α -cétoglutarate, dans le cycle de l'acide citrique. L'acide lipoïque et sa forme réduite, l'acide dihydrolipoïque (DHLA), sont capables d'éteindre les radicaux libres dans les domaines lipidique et aqueux. L'acide lipoïque et l'acide dihydrolipoïque ont des propriétés pharmacologiques antioxydantes, cardiovasculaires, antiviellissement, détoxifiantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et neuroprotectrices (Packer et al., 1995), (Salehi et al., 2019).

3.2.4. Bilirubine

La bilirubine, produit final du catabolisme de l'hème chez les mammifères, est généralement considérée comme un déchet potentiellement cytotoxique et liposoluble qui doit être excrété. Cependant, à des concentrations micromolaires in vitro, la bilirubine élimine efficacement les radicaux peroxydes générés chimiquement dans une solution homogène ou des liposomes multilamellaires (Stocker et al., 1987). L'activité antioxydante de la bilirubine augmente lorsque la concentration expérimentale d'oxygène est réduite de 20% (celle de l'air normal) à 2% (concentration physiologiquement pertinente). De plus, sous 2% d'oxygène, dans les liposomes, la bilirubine supprime l'oxydation plus que l' α -tocophérol, qui est considéré comme le meilleur antioxydant de la peroxydation lipidique. En plus, lorsque la bilirubine agit comme un antioxydant, elle peut protéger contre des concentrations 10 000 fois plus élevées de H_2O_2 (Doré et al., 1999).

3.2.5. Aliments antioxydants

L'organisme ne peut pas synthétiser tous les antioxydants dont il a besoin pour contrer les radicaux libres. De ce fait, l'alimentation adéquate est un élément clé dans la défense

antioxydante. Les vitamines et les oligoéléments constituent les principaux antioxydants que nous procure l'alimentation végétale.

3.2.6. Vitamine E

La vitamine E, un antioxydant majeur liposoluble, fonctionne comme le plus important antioxydant lié à la membrane, neutralisant les radicaux libres et empêchant l'oxydation des lipides au sein des membranes (Arredondo et al., 2016). La vitamine E est le piègeur de radicaux libres dans la prévention des maladies chroniques (Herrera and Barbas, 2001). L' α -tocophérol est la principale forme de vitamine E ayant des fonctions antioxydantes et immunitaires. L' α -tocophérol s'est révélé être un inhibiteur plus efficace de la peroxydation lipidique et des réactions inflammatoires induites par les peroxy-nitrites (McCormick and Parker, 2004). Les tocotriénols (forme rare de vitamine E constituée de quatre variantes plus ou moins méthylées) in vitro ont une excellente activité antioxydante et il a été proposé de retenir les ERO plus efficacement que les tocophérols (Schaffer et al., 2005).

3.2.7. Vitamine C

Dans les fluides extracellulaires, la vitamine C, une vitamine hydrosoluble, est l'antioxydant le plus important et peut protéger les biomembranes contre les lésions de peroxydation lipidique en éliminant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant le début de la peroxydation. La vitamine C est un antioxydant efficace situé dans la phase aqueuse des cellules ; elle perd simplement des électrons pour donner de la stabilité aux espèces réactives telles que les ERO (Arredondo et al., 2016). Outre ses fonctions biologiques de piégeage des radicaux superoxyde et hydroxyle, la vitamine C joue également le rôle de cofacteur enzymatique (Pehlivan, 2017) .

3.2.8. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels structurellement et fonctionnellement différents que l'on trouve dans de nombreux fruits et légumes. Une combinaison de caroténoïdes et de tocophérols antioxydants dans la phase lipidique des membranes biologiques peut assurer une meilleure protection antioxydante que les tocophérols seuls. Les caractéristiques antioxydantes des caroténoïdes comprennent l'élimination des radicaux simples d'oxygène et de peroxyde, des radicaux de thiyle, de sulfonyle, de soufre et de NO_2 et la protection des lipides contre l'attaque des radicaux superoxyde et hydroxyle (Rahman, 2007).

3.2.9. Vitamine A

La vitamine A, une vitamine liposoluble, est importante pour la santé humaine et possède des caractéristiques de piégeage des radicaux libres qui l'aident à agir comme un antioxydant physiologique dans la protection d'un certain nombre de maladies chroniques telles que les

maladies cardiovasculaires et le cancer. Les transrétinols, le composé parent, sont la forme alimentaire la plus abondante de la vitamine A qui se trouve naturellement sous forme d'esters d'acides gras comme le palmitate de rétinyle, tandis que le rétinol et l'acide rétinoïque sont les composants alimentaires naturels mineurs de la vitamine A (Arredondo et al., 2016). La vitamine 'A' a d'abord été étiquetée comme un inhibiteur de l'effet de l'acide linoléique sur les processus d'oxydation. Actuellement, la vitamine A et les caroténoïdes sont connus pour leurs actions antioxydantes qui dépendent de leur capacité à interagir avec les radicaux et à empêcher la peroxydation des lipides cellulaires (Zadák et al., 2009).

3.2.10. Sélénium

Le sélénium (Se) est un constituant essentiel d'un certain nombre d'enzymes, dont certaines ont des fonctions antioxydantes. La carence de cet élément chez les animaux les rend sensibles aux lésions causées par certains types de stress oxydatif (Burk, 2002). Le Se peut exister sous de nombreuses formes chimiques différentes dans les matières biologiques, soit sous forme de composés organiques du Se, tels que la sélénométhionine et le diméthylsélénium, soit sous forme de sélénites et de sélénates inorganiques. Dans les aliments, le Se est principalement présent sous forme de sélénométhionine, qui est une source importante de Se alimentaire chez l'homme, et également sous une forme chimique qui est couramment utilisée pour les suppléments de Se dans les essais cliniques. Les préoccupations relatives aux maladies carencielles potentielles associées à un faible statut en Se ont conduit à l'établissement des besoins journaliers recommandés en Se dans de nombreux pays. Cependant, les apports excessifs en Se par le biais de la supplémentation et son utilisation abusive potentielle en tant que thérapie de santé pourraient également présenter un risque d'effets indésirables sur la santé si son utilisation n'est pas correctement réglementée (Tinggi, 2008).

3.2.11. Zinc

Le zinc est essentiel à de multiples fonctions cellulaires, il protège contre les rayons UV, améliore la cicatrisation des plaies, contribue aux fonctions immunitaires et neuropsychiatriques et diminue le risque relatif de cancer et de maladies cardiovasculaires. Tous les tissus de l'organisme contiennent du zinc. Dans la peau, il est cinq à six fois plus concentré dans l'épiderme que dans le derme. Le zinc est nécessaire à la croissance, au développement et au fonctionnement normal des mammifères. Il est un élément essentiel de plus de 200 métalloenzymes, dont l'enzyme antioxydante, superoxyde dismutase. Il affecte sa conformité, sa stabilité et son activité (Rostan et al., 2002). Le zinc topique, sous forme d'ions zinc divalents, a été signalé comme assurant une photoprotection antioxydante de la peau. Deux mécanismes antioxydants lui ont été proposés: les ions zinc peuvent remplacer les molécules actives en termes d'oxydoréduction, telles que le fer et le cuivre, sur des sites critiques dans les

membranes cellulaires et les protéines ; les ions zinc peuvent également induire la synthèse de la métallothionéine, des protéines riches en sulfhydryle qui protègent contre les radicaux libres (Zago and Oteiza, 2001).

3.2.12. Polyphénols

Les polyphénols alimentaires constituent un groupe important de substances phytochimiques naturelles qui comprennent principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes, les catéchines, les tanins, les lignanes, les stilbènes et les anthocyanidines. Ils possèdent des propriétés antioxydantes, chimiopréventives et un large éventail de propriétés pharmacologiques (Khan et al., 2021). Les polyphénols agissent comme des piègeurs efficaces de radicaux libres et d'ERO (selon la théorie des piègeurs biochimiques) en raison de la présence de caractéristiques structurales aromatiques, de multiples groupes hydroxyle et d'un système hautement conjugué (Salisbury and Bronas, 2015). Ils ont la capacité de neutraliser les ERO ou de supprimer les dommages cellulaires, donc préviennent l'oxydation des biomolécules (lipides, protéines, ADN) et aident à diminuer ainsi l'inflammation des tissus (Zhang and Tsao, 2016).

III. STRESS OXYDATIF ET SES COMORBIDITES

1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif a été défini comme une perturbation de l'équilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses antioxydantes, ce qui peut entraîner des lésions tissulaires. Les quantités des ERO sont déterminées par l'équilibre entre la production et l'élimination, et une modification de cet équilibre en faveur de l'accumulation (stress oxydatif) génère à son tour des réponses adaptatives dans les systèmes antioxydants maintenant l'homéostasie redox (Shankar and Mehendale, 2014). Dans les conditions basales, il existe une faible concentration des ERO ; cependant, lorsque ce niveau est dépassé, des voies de signalisation sensibles à l'état redox sont activées. Cette modification de l'équilibre est régulée en générant des conditions environnementales de stress oxydatif, impliquant les antioxydants qui sont des systèmes fiables pour restaurer l'état initial. Cependant, dans certaines conditions, la production des ERO augmente de manière plus forte et plus persistante et les réponses antioxydantes peuvent ne pas être suffisantes pour rétablir l'équilibre au niveau initial, générant un nouvel équilibre, où les concentrations des ERO sont plus élevées et le modèle d'expression génétique est modifié en raison de la stimulation soutenue des voies de signalisation sensibles à l'état redox (Ortiz et al., 2017). Des quantités excessives de radicaux libres sont impliquées dans la pathogenèse de nombreuses maladies.

2. Cibles moléculaires des radicaux libres

Lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production de radicaux libres (ERO/ERN) et les défenses antioxydantes, un stress oxydatif et un stress nitrositif surviennent. Comme ces radicaux libres sont très réactifs, ils peuvent endommager les trois classes importantes de molécules biologiques, notamment les acides nucléiques, les protéines et les lipides.

2.1. Acide désoxyribonucléique (ADN)

Les ERO/ERN peuvent endommager les acides nucléiques par oxydation. L'ADN mitochondrial est plus vulnérable à l'attaque des ERO que l'ADN nucléaire, car il est situé à proximité immédiate du lieu de leur production. Les ERO, et plus particulièrement le radical OH^* , réagissent directement avec tous les composants de l'ADN, tels que les bases puriques et pyrimidiques, le squelette du sucre désoxyribose et provoquent un certain nombre d'altérations, notamment des cassures simples et doubles de l'ADN (Friedberg et al., 2005). Le radical OH^* absorbe des atomes d'hydrogène pour produire un certain nombre de purines modifiées ainsi que des sous-produits de la base pyrimidine et des liaisons transversales ADN-protéines. L'attaque de la pyrimidine par OH^* produit différents produits d'addition de la pyrimidine comme la thymine glycol, l'uracile glycol, la 5-hydroxydésoxy uridine, la 5-hydroxydésoxycytidine, l'hydantoïne et autres (Liu et al., 2008). Les produits d'addition de purine formés par l'attaque des radicaux hydroxyles comprennent la 8-hydroxydeoxy guanosine, la 8-hydroxy deoxy adenosine, la 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine. Les autres adduits des bases de l'ADN induits par les radicaux libres comprennent le 5-formyl uracile, la cytosine glycol, la 5,6-dihydrothyronine, la 5-hydroxy-6-hydro-cytosine, le 5-hydroxy-6-hydro uracile, l'uracile glycol et l'alloxane. Les principaux adduits induits par les radicaux libres de la partie sucre de l'ADN sont l'acide glycolique, le 2-déoxytétradialdose, l'érythrose, la lactone de l'acide 2-déoxypentonique, le 2-déoxypentose-4-ulose (Phaniendra et al., 2015). La 8-hydroxy déoxyguanosine est considérée comme le biomarqueur des dommages oxydatifs de l'ADN et est impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement. D'autre part, les ERN, et plus particulièrement le peroxy-nitrite (OONO-) interagit avec la guanine pour produire des lésions nitratives et oxydatives de l'ADN telles que la 8-nitroguanine et la 8-oxodéoxyguanosine respectivement (Tvrdá and Benko, 2020). La 8-nitroguanine formée est instable et peut être spontanément éliminée, entraînant la formation d'un site apurinique. Inversement, l'adénine peut être appariée avec la 8-nitroguanine pendant la synthèse de l'ADN, ce qui entraîne une transversion G-T. En conséquence, la 8-nitroguanine est une lésion mutagène de l'ADN impliquée dans la carcinogenèse (Hoki et al., 2007).

2.2. Acide ribonucléique (ARN)

L'ARN est plus sujet aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature monocaténaire, de l'absence d'un mécanisme de réparation actif pour l'ARN oxydé, d'une protection moindre par les protéines et de leur proximité des mitochondries où des charges d'ERO sont produites (Evans and Cooke, 2004). La 7,8-dihydro-8-oxoguanosine (8-oxoG) est le produit de dégradation de l'ARN le plus étudié et ses niveaux sont élevés dans diverses conditions pathologiques comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, l'hémochromatose et les myopathies (López-Gruoso, 2019).

2.3. Lipides

Les lipides membranaires, en particulier les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides, sont plus sensibles à l'oxydation par les radicaux libres (Catalá, 2009). La peroxydation lipidique est très importante in vivo en raison de son implication dans divers états pathologiques. La peroxydation lipidique entraîne la perte du fonctionnement de la membrane, par exemple, une diminution de la fluidité, l'inactivation des enzymes et des récepteurs liés à la membrane (Catala, 2007). La peroxydation lipidique est initiée lorsqu'un radical libre attaque et extrait l'hydrogène d'un groupe méthylène (CH_2) dans un acide gras (LH), ce qui entraîne la formation d'un radical lipidique (L^\cdot) centré sur le carbone. Le radical lipidique peut réagir avec l'oxygène moléculaire pour former un radical peroxyde lipidique (LOO^\cdot). Le radical peroxyde lipidique résultant subit un réarrangement via une réaction de cyclisation pour former des endoperoxydes, qui forment finalement du malondialdéhyde (MDA) et du 4-hydroxyl nonenal (4-HNA), les produits finaux toxiques de la peroxydation lipidique qui endommagent l'ADN et les protéines (Yin et al., 2011). Ces radicaux peroxydes lipidiques peuvent encore propager le processus de peroxydation en arrachant des atomes d'hydrogène aux autres molécules lipidiques. Les isoprostanes (substances de type prostaglandine produites dans l'organisme par l'estérification de l'acide arachidonique) constituent le produit important de la peroxydation lipidique de l'acide arachidonique et sont considérés comme les responsables des dommages lipidiques (Pratt et al., 2011).

2.4. Protéines

L'oxydation des protéines peut être induite par des espèces radicalaires telles que $\text{O}_2^{\cdot-}$, OH, peroxyde, alkoxyde, hydroperoxyde ainsi que par des espèces non radicalaires telles que H_2O_2 , O_3 , HOCl, oxygène singulet, OONO^\cdot (Zhang et al., 2013). Les ERO oxydent différents acides aminés présents dans les protéines, provoquant la formation de liaisons croisées protéine-protéine, entraînant la dénaturation des protéines, la perte d'activité enzymatique, de la fonction

des récepteurs et celle des protéines de transport. Les acides aminés contenant du soufre tels que la méthionine et la cystéine sont plus sensibles à l'oxydation par les ERO et sont convertis respectivement en disulfures et en sulfoxyde de méthionine (Höhn et al., 2014). Cependant, dans les systèmes biologiques, seules ces deux formes oxydées de protéines peuvent être reconverties en leur forme native par deux enzymes différentes, à savoir la disulfure réductase et la méthionine sulfoxyde réductase (Drazic and Winter, 2014). Les dommages oxydatifs induits par les ERO sur les résidus d'acides aminés tels que la lysine, la proline, la thréonine et l'arginine produisent des dérivés carbonylés. La présence de groupes carbonyles dans les protéines a été considérée comme le marqueur de l'oxydation des protéines. Les autres marqueurs spécifiques de l'oxydation des protéines sont la O-tyrosine (un marqueur du radical hydroxyle) et la 3-nitrotyrosine (un marqueur du ERN) (Akagawa, 2021). Une augmentation des niveaux de carbonyles protéiques est observée dans un certain nombre de conditions pathologiques telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la dystrophie musculaire, la cataractogenèse, l'arthrite rhumatoïde, le diabète, la progeria, l'athérosclérose, le syndrome dystros respiratoire, le syndrome de Werner et le vieillissement (Dalle-Donne et al., 2003).

3. Physiopathologie du stress oxydatif

3.1. Vieillessement

Le vieillissement est la perte progressive de la fonction des tissus et des organes au fil du temps. La théorie du vieillissement par les radicaux libres, appelée ensuite théorie du vieillissement par le stress oxydatif, repose sur l'hypothèse des dommages structurels selon laquelle les pertes fonctionnelles associées à l'âge sont dues à l'accumulation de dommages oxydatifs causés aux macromolécules (lipides, ADN et protéines) par les ERO/ERN (Liguori et al., 2018; Lin and Flint Beal, 2003). Le mécanisme exact du vieillissement induit par le stress oxydatif n'est pas encore clair, mais il est probable que l'augmentation des niveaux des espèces réactives conduise à la sénescence cellulaire, un mécanisme physiologique qui arrête la prolifération cellulaire en réponse aux dommages qui se produisent pendant la réplication. Plusieurs études supportent la théorie du vieillissement par les radicaux libres et ont démontré que le processus du vieillissement s'accompagne de l'augmentation des dommages cellulaires dus à l'oxydation, l'altération de l'homéostasie redox, et de la régulation aberrante des voies de signalisation au redox (Kregel and Zhang, 2007).

3.2. Inflammation chronique

Le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) est un trouble causé par une réponse inflammatoire exagérée de l'organisme entier à des agents pathogènes infectieux ou à

des atteintes non infectieuses (Margraf et al., 2020) . Le SRIS implique la libération d'oxydants et de cytokines inflammatoires conduisant à un dysfonctionnement réversible ou irréversible des organes cibles, voire à la mort. Le sepsis est un SRIS causé par une infection, qui partage des caractéristiques communes d'inflammation et de stress oxydatif avec les SRIS causés par des atteintes non infectieuses, et qui est plus fréquemment étudié. Il a été signalé que les taux plasmatiques de F2-isoprostanes, hydroxy-2-nonenal, et 8-deoxyguanosine (8-OHdG) augmentent de manière significative chez les patients atteints de sepsis grave (Zotova et al., 2020). Chez les patients présentant un syndrome de détresse respiratoire aiguë provenant d'un SIRS, le niveau de 8-iso-PGF2 α est augmenté dans le condensat de l'haleine expirée, tout comme la nitrotyrosine dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire (Sasannejad et al., 2019) . Les oxydants dans le sepsis proviennent de plusieurs sources en fonction des tissus et/ou des cellules, et incluent l'oxyde nitrique synthase (iNOS), les monoxydes d'azote (NOXs), la xanthine oxydase et les mitochondries dysfonctionnelles. En outre, les niveaux d'antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E et le GSH sont réduits dans les cas de sepsis.

3.3. Diabète sucré Type II

Les patients atteints de diabète sucré de type 2 présentent des signes importants de stress oxydatif qui entraînent des complications microvasculaires et macrovasculaires. Les marqueurs du stress oxydatif, notamment le rapport OxLDL/LDL, le 8-OHdG, le 8-iso-PGF2 α , les carbonyles protéiques et la conjugaison du GSH à l'hémoglobine, sont considérablement élevés dans le plasma des patients atteints de diabète de type 2, tout comme les taux urinaires de 8-OHdG et de 8-iso-PGF2 α (Vodošek Hojs et al., 2020) . L'augmentation des oxydants dans le diabète sucré de type 2 provient des mitochondries dysfonctionnelles et de NOX1 activés par les anomalies diabétiques d'hyperglycémie et de dyslipidémie (Forman and Zhang, 2021) .

3.4. Maladies neurodégénératives

Les dommages causés par le stress oxydatif peuvent s'accumuler avec l'âge et contribuer à la progression des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique. Les ERO peuvent également provoquer une inflammation et une apoptose cellulaire, ce qui peut altérer la fonction neuronale et entraîner la perte de neurones, ce qui est considéré comme étant un facteur important dans le développement de ces maladies.

3.4.1. Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer se caractérise par l'accumulation progressive de plaques extracellulaires d'amyloïde- β et d'enchevêtrements neurofibrillaires à l'intérieur des neurones. Plusieurs facteurs de risque (âge, génétique, sexe, traumatisme et pollution atmosphérique) ont

été identifiés, mais la cause exacte reste floue. Cependant, de nombreuses études ont démontré une augmentation du stress oxydatif dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, notamment des taux accrus de F2-isoprostane- α dans le liquide céphalo-rachidien et les pôles frontal et temporal, d'acroléine dans l'amygdale et l'hippocampe, et de HNE dans le liquide ventriculaire, l'hippocampe, et le cortex (Zuo et al., 2022). Des niveaux accrus d'oxydation de l'ADN nucléaire et mitochondrial ont également été constatés dans les lobes frontal, pariétal et temporal du cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer par rapport aux sujets témoins appariés selon l'âge. En outre, l'oxydation des protéines dans l'hippocampe et les carbonyles protéiques dans le cortex cérébral étaient significativement élevés dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Il a été affirmé que l'A β (1-42), la microglie activée, l'accumulation de fer et les mitochondries dysfonctionnelles contribuent à une production accrue d'oxydants (Wang et al., 2005).

3.4.2. Maladie de Parkinson

Le stress oxydatif peut induire la maladie de Parkinson en plusieurs mécanismes moléculaires impliquant les dommages aux neurones dopaminergiques par les radicaux libres ce qui aboutit à leur dégénérescence et leur mort (Chen et al., 2012), la réduction de la production de dopamine en affectant les enzymes impliqués dans sa synthèse ou en altérant les mécanismes de son transport (Juárez Olguín et al., 2015), l'accumulation de protéines anormales, telles que l' α -synucléine, qui peuvent former des agrégats toxiques endommageant les neurones (Deas et al., 2016), l'induction d'une neuroinflammation qui contribue à l'évolution de la maladie, et finalement, l'induction des modifications post-traductionnelles des protéines, telles que des phosphorylations ou des nitrations, qui peuvent altérer leur fonction normale et entraîner leur accumulation anormale (Yamakura and Kawasaki, 2010).

3.4.3. Sclérose latérale amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative qui affecte les neurones moteurs. La pathogenèse de la sclérose latérale amyotrophique est mal comprise. Chez un ou deux pour cent des patients, on sait que des mutations du gène SOD1 sont à l'origine de la maladie. Pourtant, le mécanisme de la mort cellulaire reste flou. La plupart des recherches s'accordent sur le fait que les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène sont impliqués dans ce processus, mais on ne sait pas si ces dernières jouent un rôle primordial ou sont un épiphénomène (Robberecht, 2000). Des preuves de stress oxydatif sont trouvées non seulement dans la sclérose latérale amyotrophique familiale liée à la SOD1 mutante, mais aussi dans la sclérose latérale amyotrophique sporadique. Une production excessive d'espèces réactives associée à une défense antioxydante inefficace représente une caractéristique pathologique importante dans la SLA. Des preuves substantielles indiquent que le stress

oxydatif est impliqué dans la perte de neurones moteurs et dans le dysfonctionnement mitochondrial, contribuant de manière décisive à la neurodégénérescence dans la SLA (Cunha-Oliveira et al., 2020) .

3.5. Neuropathie chronique

La neuropathie est la conséquence de la chronicité de plusieurs maladies liées au stress oxydatif et nitrositif comme le diabète, le cancer et les maladies auto-immunes (Carrasco et al., 2018). Lorsque le corps est submergé par des espèces réactives, il en résulte un dysfonctionnement mitochondrial qui a été montré impliqué dans la démyélinisation des fibres nerveuses, la perturbation de la conductivité nerveuse et l'inflammation (Khuankaew et al., 2021) De plus, le stress oxydatif peut réduire la capacité antioxydante de l'organisme, ce qui peut accroître la production des ERO et accentuer les dommages causés aux nerfs. Cette combinaison de dommages peut entraîner une perte fonctionnalité des nerfs, une douleur et une sensibilité accrues, ainsi qu'une perte de sensibilité et une faiblesse musculaire, ce qui peuvent être des symptômes de la neuropathie périphérique (Hammi and Yeung, 2022).

3.6. Cancers

Les oxydants sont impliqués dans diverses phases de la tumorigenèse, notamment la transformation des cellules normales en cellules tumorales, la croissance, la prolifération, l'invasion, l'angiogenèse et les métastases des cellules tumorales, en modifiant de manière aberrante les voies de transduction de la signalisation qui endommagent l'ADN et exacerbent l'inflammation (Prasad et al., 2017), À l'inverse, le stress oxydatif peut également déclencher l'apoptose et la ferroptose, et réduire les possibilités de transformation, empêchant ainsi la tumorigenèse (Chiang et al., 2021). En outre, le stress oxydatif est le principal mécanisme d'action des radiations et de nombreux médicaments chimiothérapeutiques. Par conséquent, le stress oxydatif est impliqué dans presque toutes les phases du cancer. Les cellules cancéreuses produisent plus d'oxydants que les cellules normales, et les cellules cancéreuses sont donc exposées à un stress oxydatif accru. L'augmentation des oxydants dans les cellules cancéreuses provient principalement des mitochondries, de NOX4 et de la 5-lipoxygénase (Sahoo et al., 2022) . L'augmentation des marqueurs oxydatifs a été observée dans divers types de cancer. Par exemple, il a été démontré que les patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules exhale plus de H₂O₂ que les individus témoins (Ho et al., 2007). En outre, des niveaux accrus de 8-OHdG ont été détectés dans les tissus du cancer du sein par rapport aux tissus normaux appariés, et le 8-OHdG était significativement élevé dans les cancers de la prostate et du poumon (Weiss et al., 2005) .

3.7. Troubles psychiques

Lorsque la production de métabolites dérivés de l'oxygène l'emporte sur les systèmes de défense du cerveau, des dommages oxydatifs peuvent survenir au niveau des acides nucléiques, des protéines et des lipides de la membrane neuronale, qui sont riches en acides gras hautement polyinsaturés. En présence d'un stress oxydatif, la constitution riche en lipides du cerveau favorise la peroxydation lipidique qui entraîne une diminution de la fluidité membranaire et des dommages aux protéines membranaires, ce qui désactive les récepteurs, les enzymes et les canaux ioniques. En conséquence, le stress oxydatif peut altérer la neurotransmission, la fonction neuronale et l'activité cérébrale globale. Le stress oxydatif a été associé à plusieurs maladies neuropsychiatriques, comme l'anxiété, la schizophrénie et le trouble dépressif majeur. Il a été constaté que, dans le cerveau, l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme antioxydant, à savoir la glutathion réductase 1 et la glyoxalase 1, est fortement corrélée aux phénotypes liés à l'anxiété. En outre, l'activité de ces enzymes est plus élevée chez les souris anxieuses (Bouayed et al., 2009). D'un autre côté, il a été démontré que les taux d'antioxydants totaux et de glutathion étaient plus faibles dans le plasma des patients atteints de schizophrénie. Des niveaux accrus d'ERO ont été trouvés dans la périphérie des patients schizophrènes, en conjonction avec des niveaux réduits de SOD et de GPx. Les études post-mortem font également état de niveaux réduits de glutathion dans le cerveau des patients schizophrènes, en particulier dans le cortex préfrontal et le caudate nucleus, avec une expression protéique anormale dans le cortex cingulaire antérieur, résultat d'un stress oxydatif accru (Murray et al., 2021). Finalement, il est bien établi que les patients souffrant de dépression présentent des taux plasmatiques plus élevés de cytokines pro-inflammatoires et de la protéine C-réactive. Certaines études ont révélé que l'augmentation des niveaux de marqueurs inflammatoires combinée au stress oxydatif est une caractéristique omniprésente de dépression. De plus, la réduction de la réponse au traitement antidépresseur était liée à des niveaux de base plus élevés des principaux marqueurs du stress oxydatif, tels que les F2-isoprostanés et 8-OHdG (Bhatt et al., 2020).

3.8. Maladies hépatiques

L'inflammation du foie produit les ERO en excès qui attaquent les cellules hôtes, ce qui entraîne des dommages cellulaires. La peroxydation de l'ADN joue un rôle important dans la pathogenèse des mutations du foie. L'activité des SOD et de la GPx dans la cirrhose chronique du foie et l'hépatite est significativement plus faible que le contrôle, ce qui est négativement corrélé avec le niveau d'alanine aminotransférase (ALAT) sérique (Zhang et al., 2017). Il a été démontré que la SOD sérique diminuait de manière significative chez les patients de maladies hépatiques. En outre, la concentration de malondialdéhyde (MDA) et d'acide ascorbique était

significativement supérieure aux valeurs normales chez les individus atteints d'hépatites B chronique. Le niveau d'ALAT est positivement lié au MDA, il peut donc être utilisé comme un indicateur important des dommages au foie (Al-Kanaan et al., 2019). Chez cette même catégorie de patients, une forte expression de 8-OHdG a été constatée, notamment dans la zone de nécrose hépatique et d'infiltration inflammatoire autour de la veine porte (Ghamry et al., 2022). La quantité de 8-OHdG dans les lésions pathologiques du foie est liée aux dommages oxydatifs, qui provoquent des mutations de l'ADN et induisent le cancer du foie (Yugawa et al., 2020). Chez les patients atteints de cirrhose du foie, une activité antioxydante dans le sérum a été supérieure à celle des personnes non porteuses de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), tandis que l'activité antioxydante des témoins normaux était significativement inférieure (Duygu et al., 2012). Le facteur de nécrose tumorale (TNF)- α et le facteur de croissance transformant (TGF)- β sont considérablement augmentés chez les patients atteints d'hépatite virale, et les dommages oxydatifs sont étroitement liés aux dommages pathologiques de la fibrose hépatique (Alshanwani et al., 2022). Dans l'hépatite C chronique, le stress oxydatif est accru et les mécanismes de défense antioxydants sont insuffisants. Les taux sériques des produits de l'oxydation des protéines, tels que le MDA, NO, et les activités de la myéloperoxydase (MPO), de l'arylesterase (AE) et de la paraoxonase-1 (PON1), sont plus élevés chez les patients atteints d'hépatite C chronique que chez les individus sains, ce qui indique que ces molécules pourraient être des outils utiles comme biomarqueurs. Plusieurs études ont suggéré que les marqueurs du stress oxydatif augmentent chez les patients atteints d'hépatite alcoolique, comme le CYP2E, dont le nombre de plis a augmenté, ce qui entraîne une fuite excessive d'électrons et la libération d'ERO, provoquant un stress oxydatif et des réponses immunitaires (Elufioye and Habtemariam, 2019).

3.9. Fibromyalgie

La fibromyalgie (FM) est une condition chronique caractérisée par des douleurs musculaires et articulaires diffuses, de la fatigue et des troubles du sommeil. La persistance de la douleur, l'altération des fonctions cognitives et l'impact négatif sur l'état psychologique ont un effet néfaste sur la qualité de vie des patients (Assavarittirong et al., 2022). Cependant, à ce jour, le traitement et les mécanismes de cette maladie restent à établir. Le stress oxydatif pourrait jouer un rôle essentiel dans la pathophysiologie de la FM. Des niveaux accrus de facteurs pro-oxydatifs tels que le NO, la peroxydation lipidique et la mitophagie peuvent provoquer une sensibilisation à la douleur dans la fibromyalgie (Vaamonde-García and López-Armada, 2019). Les processus prooxydatifs chez les patients atteints de FM sont associés à des variantes génétiques spécifiques, qui participent à l'équilibre oxydatif. Par exemple, le fonctionnement réduit de la SOD, de la CAT et de la NADPH oxydase est corrélé avec la

douleur et la sévérité de la fatigue (Goswami et al., 2009) . De plus, on observe chez les sujets atteints de FM, une concentration élevée de NO qui est considéré comme est un neurotransmetteur crucial impliqué dans la voie de la douleur spinale (Meeus and Nijs, 2007). Ainsi, l'approche de l'estimation des marqueurs anti- et pro-oxydatifs peut aider à gérer cette maladie plus efficacement. Des études récentes montrent l'efficacité de nouveaux aspects du traitement antioxydant chez les patients atteints de fibromyalgie, notamment l'oxygénothérapie hyperbare, les exercices d'aérobic et les modifications diététiques (Assavarittirong et al., 2022).

IV. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LA PRISE EN CHARGE DES MALADIES LIÉES AU STRESS OXYDATIF

1. Généralités

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit la phytothérapie comme "l'utilisation de plantes, de leurs parties (feuilles, tiges, fleurs, racines, écorces, fruits, graines) et de leurs principes actifs pour la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies" (OMS, 1998). Cette définition inclut l'utilisation de plantes médicinales sous forme de médicaments à base de plantes, ainsi que l'utilisation de plantes entières ou de préparations à base de plantes à des fins thérapeutiques. La phytothérapie est souvent considérée comme une approche plus naturelle pour traiter les maladies, ce qui peut être attrayant pour les personnes qui souhaitent éviter les médicaments synthétiques et les effets secondaires associés. De plus, de nombreuses plantes médicinales sont relativement peu coûteuses et peuvent être cultivées à domicile, ce qui peut rendre la phytothérapie plus accessible que d'autres formes de traitement médical (Builders, 2019). Etant donné qu'une plante médicinale peut avoir plusieurs activités biologiques à la fois, la phytothérapie est donc considérée comme une approche plus holistique pour traiter les maladies, en prenant en compte les aspects physiques, émotionnels et spirituels de la santé (Li and Zhang, 2013). Ces dernières années, les scientifiques se sont de plus en plus intéressés aux activités biologiques des métabolites secondaires et leur utilisation pour la prévention ou le traitement de plusieurs pathologies (**Figure 6, A**). Plusieurs études scientifiques s'accordent aujourd'hui sur l'efficacité des plantes médicinales et leurs métabolites dans la prise en charge des maladies liées au stress oxydatif, notamment le diabète, l'inflammation, les maladies neurodégénératives, les maladies hépatiques et les maladies cardiovasculaires (**Figure 6, B**).

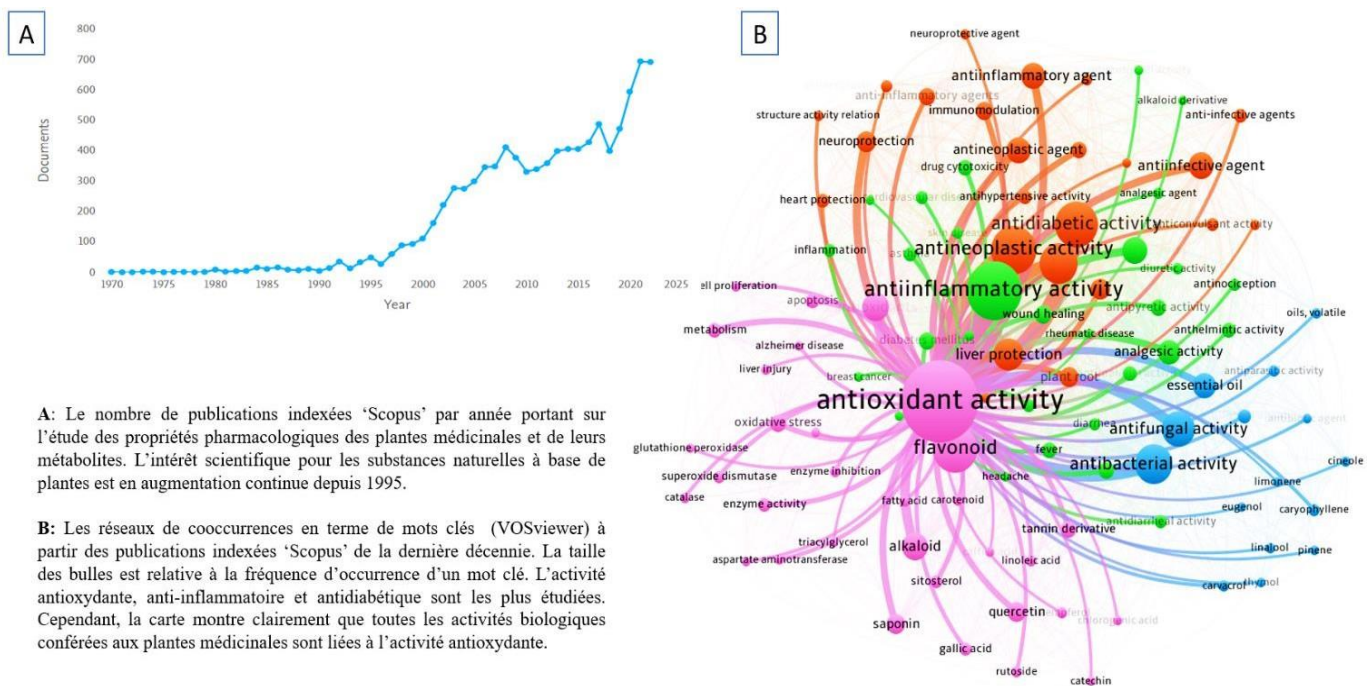


Figure 6 : Analyse bibliométrique des données relatives aux publications scientifiques sur les effets pharmacologiques des plantes médicinales. Elles ont été acquises dans la base de données en ligne Scopus en février 2023, à l'aide de la requête suivante "Medicinal plants" AND "Diseases". 1351 documents ont été sélectionnés puis analysés en fonction d'année de publication (A). Ensuite, la recherche a été limitée aux publications de la dernière décennie (PUBYEAR >2013 AND PUBYEAR <2023) et les données brutes ont été exportées sous format Excel. Afin de les rendre visuellement exploitables, la fonctionnalité de regroupement de cooccurrences de mots-clés du logiciel VOSviewer 1.6.19 (van Eck and Waltman, 2010) a été utilisée (B).

2. Plantes médicinales au Maroc

Le Maroc est un pays doté d'une biodiversité très riche, avec un grand nombre d'écosystèmes différents et des habitats naturels variés, allant des zones côtières aux montagnes, en passant par les déserts et les plaines (Blondel et al., 2010). Cette diversité se traduit par une grande richesse en termes de flore et de faune. La flore du Maroc est particulièrement remarquable, avec plus de 4 000 espèces végétales différentes, dont certaines sont endémiques au pays, dont l'arganier, qui est un arbre très important pour l'économie locale et la préservation de l'environnement, le tamaris de plomb, le cèdre de l'Atlas et le sapin de Thuya (Mouhadjir, 2002). En matière de plantes médicinales, il est estimé que plus de 1 000 espèces végétales différentes présentes dans le pays sont utilisées à des fins thérapeutiques, aromatiques ou cosmétiques. Cela représente environ un quart de la flore marocaine (Labiad et al., 2020). Certaines de ces plantes sont largement répandues à travers le bassin méditerranéen. Le savoir traditionnel associé à l'utilisation des plantes médicinales est très répandu au Maroc, et de nombreuses communautés locales ont développé des connaissances spécialisées dans leur

utilisation pour soigner diverses affections (Elachouri, 2018). Cela a conduit à l'émergence d'un secteur économique important basé sur la production et la commercialisation de plantes médicinales qui sont souvent utilisées sous forme de tisanes, d'huiles essentielles, de baumes ou de crèmes, et sont recherchées pour leurs propriétés curatives, tonifiantes, apaisantes ou régénératrices (El Mansouri et al., 2011). Le gouvernement marocain a créé en 2003 la Pharmacopée Marocaine, un recueil officiel des plantes médicinales utilisées dans le pays, qui recense plus de 300 espèces. Elle est l'une des plus riches et des plus diversifiées du monde, en grande partie en raison de la variété des climats et des écosystèmes du Maroc (Bnouham, 2010).

3. Métabolites secondaires et leurs propriétés pharmacologiques

Les plantes sont capables de produire une grande variété de composés chimiques appelés métabolites secondaires, qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance ou la reproduction de la plante, mais peuvent avoir une grande variété de fonctions biologiques, telles que la défense contre les herbivores et les pathogènes, l'attraction des pollinisateurs, la protection contre les radiations UV et la régulation du développement de la plante (Vining, 2003). Les métabolites secondaires sont souvent des molécules complexes avec une structure chimique diversifiée, et forment plusieurs classes dont : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les coumarines, les saponines, les anthocyanes et les terpènes. Il a été démontré que certaines plantes produisent des alcaloïdes amers, toxiques ou répulsifs qui dissuadent les herbivores et les pathogènes de consommer ou d'endommager la plante (Matsuura and Fetto-Neto, 2015). Les composés phénoliques et les terpènes peuvent agir comme des insecticides naturels, tuant les insectes qui mangent les feuilles ou les racines de la plante. En plus, Les fleurs de nombreuses plantes produisent des composés aromatiques pour attirer les pollinisateurs, tels que les abeilles et les papillons, ou les prédateurs naturels pour lutter contre les herbivores et les pathogènes. Par exemple, certaines plantes produisent des composés qui attirent les guêpes parasitoïdes pour lutter contre les chenilles (Daayf and Lattanzio, 2009). Les phenylpropanoïdes et l'acide cinnamique ont été démontré capable d'absorber les rayons UV, protégeant ainsi la plante contre les dommages (Takshak and Agrawal, 2019). Enfin, les métabolites secondaires peuvent également réguler la croissance et le développement des plantes via les phytohormones et les cytokinines qui stimulent la croissance cellulaire et la division et l'acide abscissique qui inhibe la croissance et favorise la dormance des bourgeons (Xu et al., 2018).

3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent une classe principale de métabolites secondaires dans les plantes et sont divisés en acides phénoliques et en polyphénols. Ces composés sont

combinés à des mono- et polysaccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénoliques, ou peuvent se présenter sous forme de dérivés, tels que les esters ou les esters méthyliques. Parmi les différentes classes de composés phénoliques, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux composés phénoliques alimentaires (Minatel et al., 2017).

3.1.1. Phénols simples

Les phénols simples, également connus sous le nom de monophénols, sont une classe de composés organiques caractérisés par un seul groupe fonctionnel hydroxyle (-OH) attaché à un anneau aromatique. L'anneau aromatique dans les phénols simples peut contenir un ou plusieurs substituants, tels que des groupes méthyle, éthyle ou méthoxy (Burton et al., 1985). Des exemples de phénols simples comprennent des composés tels que le phénol (également connu sous le nom d'acide carbolique), les crésols et les xylenols. Ces composés se trouvent couramment dans une variété de sources naturelles, notamment les plantes, les champignons et les micro-organismes. Chez les plantes, L'acide gallique est largement répandu et c'est le composé parent des gallotannins (Builders, 2019). C'est un acide trihydroxybenzoïque avec la formule moléculaire $C_6H_2(OH)_3COOH$. Le composé possède un anneau aromatique avec trois groupes fonctionnels hydroxyle (-OH) qui y sont attachés (**figure 7**). L'acide gallique est bien connu pour ses propriétés astringentes mais a démontré de nombreuses autres activités in vitro, notamment des actions antibactériennes, antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, antitumorales, antianaphylactiques, antimutagènes, cholérétiques et bronchodilatatrices. Il inhibe également la dégradation de l'insuline et favorise la relaxation des muscles lisses.

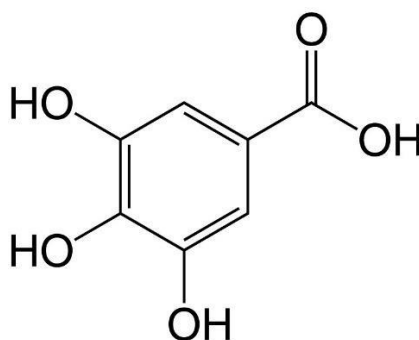


Figure 7: Exemple de phénol simple (acide gallique)

3.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de phénols naturels. On connaît aujourd'hui plus de 2000 de ces composés, dont près de 500 sont présents à l'état libre. Le squelette structurel des flavonoïdes comprend un cycle chromane portant un cycle aromatique en position 2, 3 ou 4 (Corcoran et al., 2012). Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs

classes selon le degré d'oxydation de l'anneau central (anneau C) (**figure 8**). Les plus courantes sont les anthocyanines, les flavones et les flavonols. Les flavones et leurs proches parents sont souvent de couleur jaune (latin flavus, jaune). Ils sont largement répandus dans la nature mais sont plus fréquents chez les plantes supérieures et dans les jeunes tissus, où ils sont présents dans la sève cellulaire (Samanta et al., 2011). Ils sont abondants dans les Polygonaceae, Rutaceae, Leguminosae, Umbelliferae et Compositae. Des recherches récentes ont démontré l'action médicinale de plantes riches en flavonoïdes tels que *Glycyrrhiza glabra* (racine de réglisse), *Chamaemelum nobile* (camomille romaine) et *Ginkgo biloba* (gingko) (Builders, 2019). Un certain nombre de plantes contenant des flavonoïdes ont été incluses dans la Pharmacopée britannique, dont *Betula pendula* (feuille de bouleau), *Calendula officinalis* (fleur), *Sambucus nigra* (fleur de sureau), *Equisetum ramosissimum* (prêle), *Tilia cordata* (fleur de tilleul), *Leonurus cardiaca* (agripaume) et *Passiflora edulis* (passiflore) (Kandar, 2021). Le groupe est connu pour ses effets anti-inflammatoires et antiallergiques, pour ses propriétés antithrombotiques et vasoprotectrices, pour l'inhibition de la promotion des tumeurs et comme protecteur de la muqueuse gastrique (Builders, 2019).

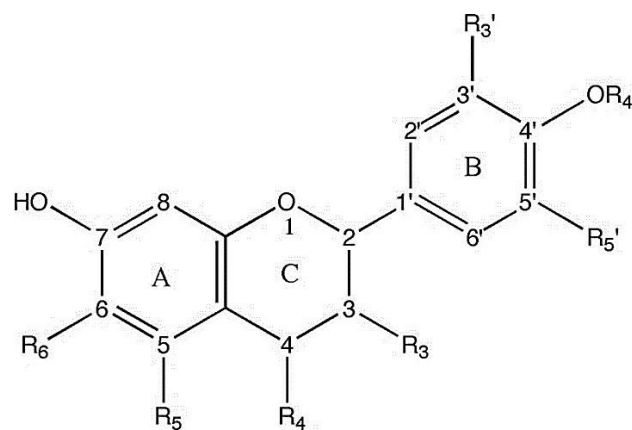


Figure 8: Structure de base des flavonoïdes

3.1.3. Tannins

Les tanins sont un groupe diversifié de composés polyphénoliques présents naturellement et largement distribués dans le règne végétal. Ils sont caractérisés par leur capacité à lier et précipiter les protéines, ce qui les rend importants dans de nombreux processus biologiques. Chimiquement, les tanins sont de grandes molécules dont le poids moléculaire varie de 500 à 3000 daltons, et ils sont généralement composés d'un noyau de flavan-3-ols ou de flavan-3,4-diols souvent estérifiés avec de l'acide gallique ou ellagique (figure 9) (Skene, 1996). Ils se trouvent couramment dans diverses parties des plantes, telles que les feuilles, les tiges, les racines et les fruits, et sont particulièrement abondants dans les tissus ligneux tels que l'écorce et le bois (Builders, 2019). En plus de leurs fonctions biologiques dans les plantes, les tanins

ont une large gamme d'applications dans diverses industries, notamment la production de cuir, de colorants et d'adhésifs, ainsi que dans l'industrie alimentaire et des boissons pour leurs propriétés d'astringence et de saveur. Pharmacologiquement, les tanins ont été démontrés avoir une variété d'effets bénéfiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Ils ont également été étudiés pour leur potentiel dans la prévention et le traitement de diverses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète (Pizzi, 2021). Les médicaments contenant des tanins agissent comme antidiarrhéiques et ont été employés comme antidotes dans les cas d'empoisonnement par des métaux lourds et des alcaloïdes (Poppenga, 2002). Il a été démontré que l'épigallocatechine-3-gallate, le principe actif du thé, est antiangiogénique chez la souris (Bai et al., 2017). Un essai randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo, qui a été réalisé sur 153 femmes âgées a montré que le jus de *Vaccinium oxycoccos* (canneberge) est efficace comme antiseptique urinaire (Nowack and Schmitt, 2008). Cependant, certains types de tanins peuvent également avoir des effets négatifs sur la santé humaine s'ils sont consommés en grandes quantités, tels que l'interférence avec la digestion et l'absorption des protéines (Iwuozor, 2019).

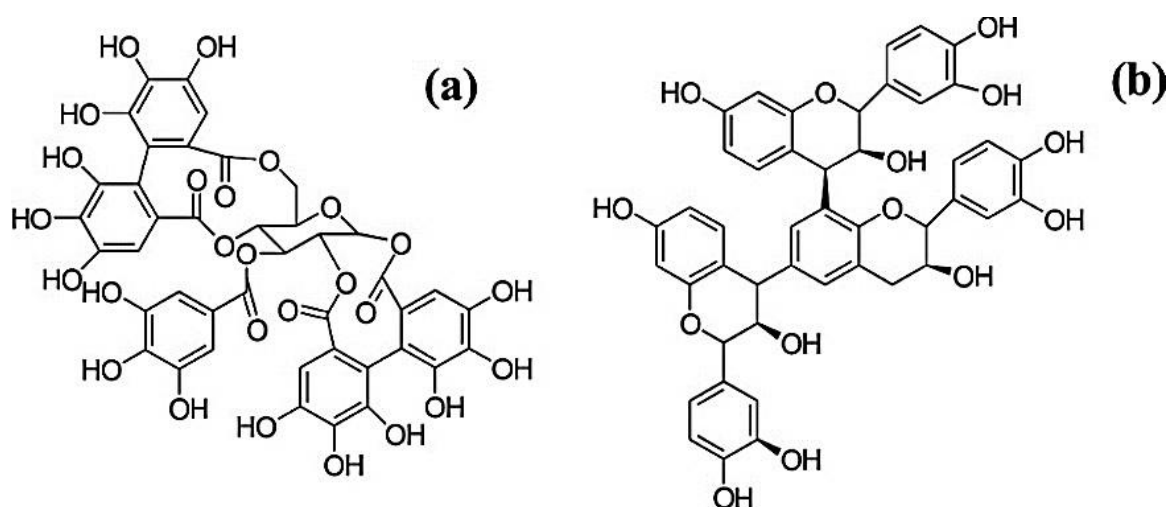


Figure 9: exemples de tannins. (a) tannin hydrolysable, (b) tannin condensé

3.1.4. Coumarines

Les coumarines sont une classe de composés organiques naturels caractérisés par un système de noyau benzénique et d' α -pyrone fusionnés (**figure 10**). Elles sont largement répandues dans le règne végétal et se trouvent dans une variété de fruits, légumes et herbes. Chimiquement, les coumarines ont un poids moléculaire allant d'environ 146 à 352 daltons et sont généralement synthétisées par les voies shikimate ou phénylpropanoïde (Sørensen and Møller, 2021). L'esculetin, l'umbelliférone et la scopoletine sont des coumarines communes présentes dans les plantes à l'état libre et sous forme de glycosides (Builders, 2019). Les plantes

riches en coumarines comprennent *Atropa belladonna*, *Datura stramonium* (Solanaceae), *Daphne mezereum* (Thymeliaceae), *Ruta graveolens* (Umbelliferae) et certaines Rosaceae (Goud, 2020). Les coumarines ont été largement étudiées pour leur potentiel thérapeutique, comme dans le traitement du cancer, des maladies cardiovasculaires et des troubles inflammatoires. Elles ont également été étudiées pour leur capacité à moduler diverses voies de signalisation cellulaire, notamment la voie NF-κB, qui est impliquée dans les réponses immunitaires et inflammatoires (Hang et al., 2022; Lichota et al., 2019). Malgré leurs avantages thérapeutiques potentiels, certains types de coumarines peuvent également avoir des effets toxiques sur la santé humaine s'ils sont consommés en grande quantité. Par exemple, certaines coumarines peuvent interférer avec l'activité des enzymes du cytochrome P450, qui sont responsables de la métabolisation de nombreux médicaments et toxines dans le foie (Kim et al., 2005). De plus, certaines coumarines ont été associées à une toxicité hépatique et peuvent causer une photosensibilité chez les individus sensibles.

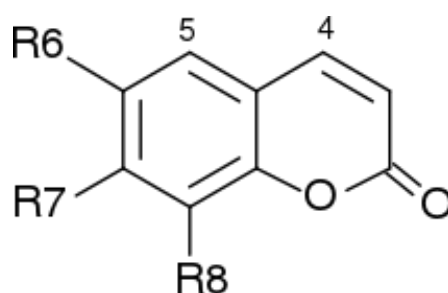


Figure 10: Structure de base des coumarines.

3.1.5. Stilbènes

Les stilbènes sont un groupe de composés organiques naturels caractérisés par une structure centrale de trans-stilbène, composée de deux cycles phényles reliés par un pont éthylène. Ils se trouvent dans diverses plantes, en particulier dans les baies, les noix et les raisins, et peuvent également être synthétisés chimiquement (Bohara et al., 2022). Les stilbènes ont montré des activités biologiques diverses, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ils sont particulièrement intéressants dans le domaine médical, car certains stilbènes ont été trouvés avoir des applications thérapeutiques potentielles dans la prévention et le traitement de diverses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs (Lançon et al., 2016). L'un des stilbènes les plus connus est le resvératrol (**figure 11**), qui se trouve en concentrations élevées dans le vin rouge et a fait l'objet de nombreuses études sur ses potentiels bienfaits pour la santé. D'autres stilbènes importants comprennent le pterostilbène, qui se trouve dans les myrtilles et les raisins

et a montré des effets antioxydants et anti-inflammatoires puissants, ainsi que le combretastatine A-4, qui est actuellement étudié comme agent anticancéreux potentiel (Zhao et al., 2022). Malgré leurs applications thérapeutiques intéressantes, les stilbènes peuvent également avoir des effets toxiques s'ils sont consommés en grandes quantités. Par exemple, une consommation excessive de resvératrol a été associée à divers effets indésirables, notamment des troubles gastro-intestinaux et une interférence avec la coagulation sanguine (Boccanegra et al., 2020).

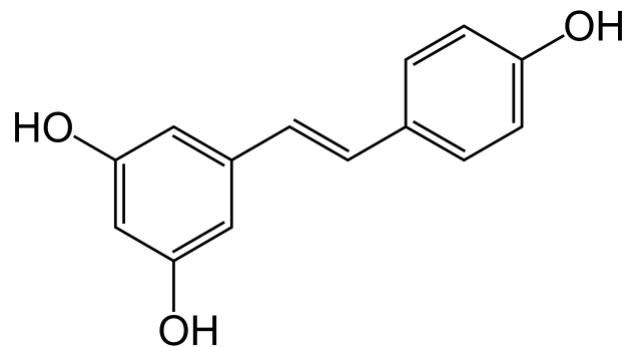


Figure 11: Exemple de stilbènes: Resvératrol

3.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques comportant au moins un atome d'azote dans un noyau hétérocyclique. Leur définition est problématique, car ils ne représentent pas un groupe homogène de composés, que ce soit d'un point de vue chimique, biochimique ou physiologique. Hormis le fait qu'ils sont tous des composés contenant de l'azote, aucune définition générale ne correspond à tous les alcaloïdes (**figure 12**). Bien que les plantes contenant des alcaloïdes soient utilisées par l'homme depuis au moins 3000 ans comme médicaments, thés et potions, les composés responsables de l'activité n'ont été isolés et caractérisés qu'au XIXe siècle (Bribi, 2018). Les alcaloïdes présentent un large éventail d'actions pharmacologiques, notamment l'analgésie, l'anesthésie locale, la stimulation cardiaque, la stimulation et la relaxation respiratoire, la vasoconstriction, la relaxation musculaire et la toxicité, ainsi que des propriétés antinéoplasiques, hypertensives et hypotensives (Kukula-Koch and Widelski, 2017).

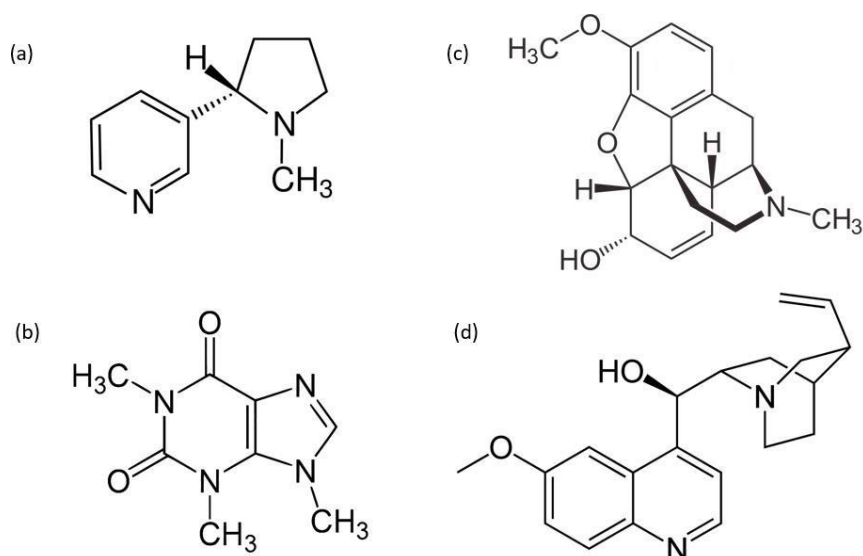


Figure 12: Exemples d'alcoïdes: (a) Nicotine, (b) caféine, (c) codéine, (d) quinine

3.3. Saponines

Les saponines sont des composés qui possèdent une partie aglycone polycyclique avec soit un stéroïde (saponines stéroïdiennes) ou un triterpénoïde (saponines triterpénoïdiennes) attaché à une unité d'hydrate de carbone (une chaîne de monosaccharide ou d'oligosaccharide). Ces unités de sucre sont composées de manière variée de pentoses, d'hexoses ou d'acides uroniques. Cette asymétrie hydrophobe-hydrophile signifie que ces composés ont la capacité de réduire la tension superficielle et sont semblables à du savon (Singh et al., 2017). Ils forment de la mousse dans les solutions aqueuses et provoquent l'hémolyse des érythrocytes du sang in vitro (Chapman et al., 1997). La partie aglycone de la molécule de saponine est appelée génine ou sapogénine. Les saponines sont très répandues parmi les plantes, puisqu'elles ont été signalées dans plus de 500 plantes appartenant à au moins 90 familles différentes ; ces substances ont été isolées dans toutes les parties des plantes : feuilles, tiges, racines, bulbes, fleurs et fruits, bien qu'elles aient tendance à se concentrer dans les racines de nombreuses espèces telles que *Digitalis purpurea* (digitale), *Dioscorea villosa* (igname sauvage), *Eleutherococcus senticosus* (ginseng sibérien), *Gentiana lutea* (gentiane), *Glycyrrhiza spp.* (réglisse) et *Panax ginseng* (ginseng coréen) (Alamgir, 2017). Les saponines ont démontré de nombreuses propriétés pharmacologiques à savoir des propriétés antitumorales, piscicides, molluscicides, spermicides, sédatives, expectorantes et analgésiques (Goud, 2020). La glycyrrhizine de *glycyrrhizae radix* (Fabaceae) est utile comme agent expectorant et antitussif. Elle est également utilisée pour traiter l'hépatite chronique et la cirrhose (Abo El-Magd et al., 2015). Certaines saponines ont des propriétés anti-inflammatoires comme les saponines de *Bupleurum falcatum* (Apiaceae). Les racines de *Phytolacca americana* sont réputées posséder

des propriétés anti-inflammatoires dans la médecine coréenne (Bailly, 2021) . Des propriétés similaires ont été démontrées pour un certain nombre d'autres saponines, par exemple l'aescine (figure 13), provenant du marron d'Inde (*Aesculus hippocastanum*), s'est avérée 600 fois plus efficace que la rutine pour réduire l'œdème des pattes de rat (Abascal and Yarnell, 2007).

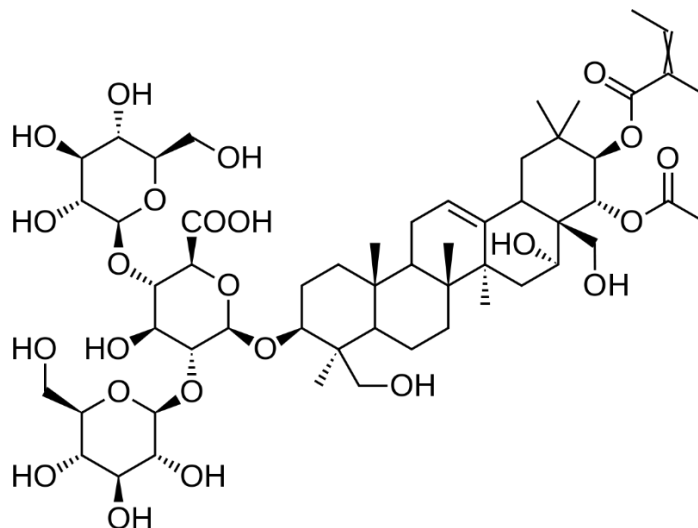


Figure 13: Exemple de saponines : Aescine

3.4. Huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges complexes de composés aromatiques volatils de poids moléculaire relativement faible. Bien qu'elles puissent contenir jusqu'à 60 composants, elles se caractérisent par la présence de deux ou trois éléments majeurs à des concentrations assez élevées (20-70%) par rapport aux autres composants présents à l'état de traces (Sharmeen et al., 2021). Elles ont de nombreux et importants usages médicaux tels que des remèdes antiseptiques, antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytiques et anesthésiques locaux. Elles sont également utilisées comme parfums dans l'embaumement et dans la conservation des aliments (Builders, 2019). Les terpènes constituent les principaux éléments des HE, leur conférant les arômes et les propriétés pharmacologiques qui les distinguent. Les terpènes constituent le groupe le plus important et le plus diversifié de composés secondaires végétaux. Ils sont tous dérivés chimiquement d'unités isoprènes à 5 carbones assemblées de différentes manières (Cox-Georgian et al., 2019) (figure 14). Les terpènes sont classés en fonction du nombre d'unités isoprènes dans la molécule ; un préfixe dans le nom indique le nombre d'unités terpéniques comme suit.

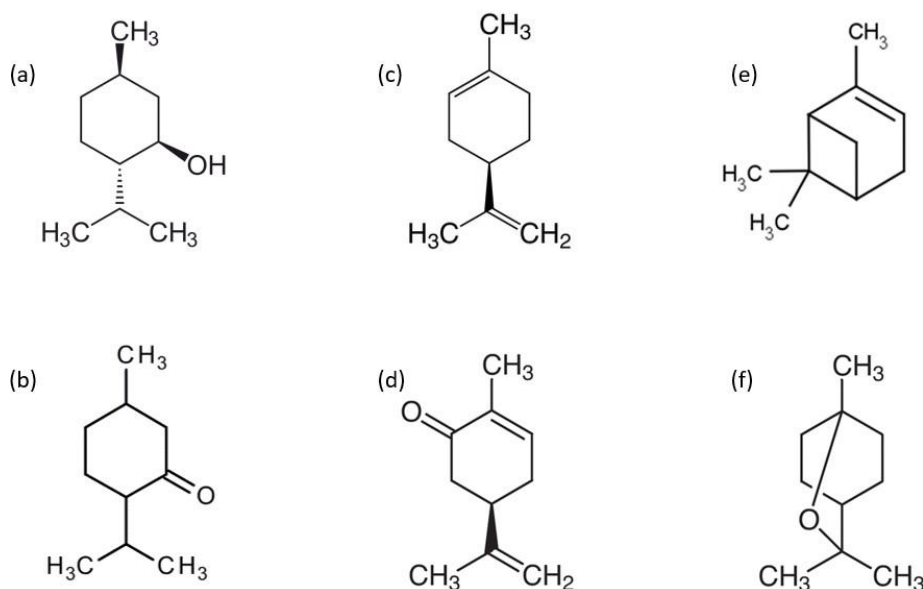


Figure 14: Terpènes commun du genre *Mentha*. (a) Menthol, (b) Menthone, (c) limonène, (d) carvone, (e) pinène, (f) 1,8 cineol

3.4.1. Hémiterpènes

Ils sont constitués d'une seule unité isoprène. L'isoprène lui-même est considéré comme le seul hémiterpène (Soualeh and Soulimani, 2016), mais les dérivés contenant de l'oxygène, comme l'acide angélique isolé d'*Angelica archangelica* et l'acide isovalérique de *Vaccinium myrtillus*, sont également des hémiterpénoïdes .

3.4.2. Monoterpènes

Ils sont constitués de deux unités isoprènes et ont la formule moléculaire $C_{10}H_{16}$. Ils sont des composants importants des huiles essentielles des plantes ou des huiles volatiles (Berger, 2007). Les monoterpènes ont tendance à être présents dans les membres de certaines familles de plantes, comme les Lamiaceae, Pinaceae, Rutaceae et Apiaceae, à partir desquelles de nombreuses huiles essentielles sont produites. Certains de ces composés, comme le géraniol, sont presque omniprésents et peuvent être trouvés en petites quantités dans les sécrétions volatiles de la plupart des plantes. Les monoterpènes sont ensuite classés en hydrocarbures insaturés (par exemple, limonène), alcools (par exemple, linalol), esters d'alcool (par exemple, acétate de linalyle), aldéhydes (par exemple, citronellal) et cétones (par exemple, Carvone)(Builders, 2019). Les monoterpènes et autres terpènes volatils ont un certain nombre d'utilisations médicinales très répandues. Des composés tels que le camphre et le menthol sont utilisés comme contre-irritants, analgésiques et agents anti-démangeaisons (Yosipovitch and Fleischer, 2003).

3.4.3. Sesquiterpènes

Ils sont constitués de trois unités isoprènes et ont la formule moléculaire $C_{15}H_{24}$. Sur la base de leur origine biogénétique, il existe plus de 200 types structurels différents de sesquiterpènes, et plusieurs milliers de ces composés sont connus (Builders, 2019). Ces composés peuvent être commodément classés en trois groupes principaux selon leur structure : acyclique (par exemple, le farnésol), monocyclique (par exemple, le bisabolol) et bicyclique (par exemple, le caryophyllène). Un certain nombre de lactones sesquiterpéniques présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antiprotozoaires (Matejić et al., 2010). Les sesquiterpènes de *Vernonia colorata* inhibent *Entamoeba histolytica* à des concentrations comparables à celles du métronidazole, un médicament anti-amibien (Bremer Christensen et al., 2015). L'héllénaline et une série de composés apparentés sont responsables des propriétés cardiotoniques des fleurs d'*Arnica montana*. Le rhizome d'*Atractylodes*, issu d'*Atractylodes macrocephala*, est utilisé cliniquement comme diurétique, analgésique et anti-inflammatoire (Matejić et al., 2010). L'activité est liée à la présence de composés actifs dont l'eudesma-4(14)-7(11)-dien-8-one et l'atractylénolide I.

3.4.4. Diterpènes

Ils sont composés de quatre unités isoprènes et ont la formule moléculaire $C_{20}H_{32}$. Les diterpénoïdes constituent les constituants actifs d'un certain nombre de plantes médicinales. La vitamine K1, un composé antihémorragique, découvert pour la première fois dans des plantes en 1929, est un diterpène. La vitamine A, un diterpénoïde, est désignée, avec les composés apparentés, sous le nom de "carotènes" (Builders, 2019). Les principes amers de *Jateorhiza palmata* (racine de calumba) appartiennent aux furanoditerpènes. *Teucrium chamaedrys* (germandrée des murs) et *T. scorodonia* (sauge des bois), de la famille des Labiatae, produisent tous deux des diterpènes de type néoclérodane (Hanson, 2006). Ils sont utilisés en phytothérapie comme diaphorétiques et antirhumatismaux. Comme tous les groupes de terpènes, les diterpènes ont démontré une série de propriétés pharmacologiques, notamment des activités analgésiques, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antinéoplasiques et antiprotozoaires (Jiang et al., 2021). D'autres diterpènes, comme le taxol et le docétaxel, sont des médicaments anticancéreux couramment utilisés dans le traitement du cancer du sein, du poumon et de la prostate. Le taxol est également utilisé dans le traitement de certains cancers du système lymphatique et du col de l'utérus (Ouameur et al., 2004).

3.4.5. Triterpènes

Les triterpènes sont une classe de composés organiques naturels dérivés du squalène et caractérisés par une structure en pentacyclique de 30 atomes de carbone $C_{30}H_{48}$. Ils sont largement distribués dans le règne végétal, étant présents dans de nombreuses plantes,

champignons et algues, ainsi que dans certaines bactéries et animaux marins (Builders, 2019). Les triterpènes constituent une partie importante des substances lipidiques de toutes les plantes ; plus de 4000 triterpénoïdes ont été isolés. Les triterpènes se présentent sous forme libre, sous forme de glycosides ou sous d'autres formes combinées. Parmi les exemples de triterpènes importants, on peut citer les stérols, tels que le cholestérol et l'ergostérol, ainsi que les acides triterpéniques, tels que l'acide ursolique, l'acide oléanolique et l'acide glycyrrhizique (Mahato et al., 1992) . Ces composés sont présents dans de nombreux aliments, plantes médicinales et suppléments nutritionnels, et ont fait l'objet de nombreuses études pour leur potentiel thérapeutique dans diverses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires et neurodégénératives. Les acides β -boswelliques (triterpène de type ursane) et les acides α -boswelliques (triterpène de type oléane) qui sont isolés de l'oléo-gomme-résine de *Boswellia carterii* sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires et anti-rhumatismales (Dzubak et al., 2006).

4. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR *MENTHA ROTUNDIFOLIA* (L.) HUDS

1. Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées, également appelée Labiées, est une famille de plantes à fleurs largement distribuée dans le monde entier, comprenant environ 7000 espèces dans plus de 200 genres. Cette famille est caractérisée par des tiges souvent carrées ou angulaires, des feuilles opposées ou verticillées, des fleurs zygomorphes (qui ne sont pas symétriques), généralement groupées en inflorescences terminales, ainsi que par la présence d'huiles essentielles dans les tissus des plantes (Li et al., 2016). Les Lamiacées sont connues pour leur utilisation culinaire, aromatique et médicinale depuis l'Antiquité. Certaines espèces de cette famille, telles que la menthe et le romarin, sont couramment utilisées pour aromatiser les aliments et les boissons, tandis que d'autres, telles que la sauge et le thym, ont été traditionnellement utilisées pour leurs propriétés médicinales (Khoury et al., 2016). Les composés phytochimiques présents dans les Lamiacées comprennent des terpènes, des phénols, des flavonoïdes, des coumarines et des acides phénoliques, qui leur confèrent des propriétés médicinales diverses, telles que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, analgésiques et antitumorales (Builders, 2019). En raison de leur importance économique, écologique et culturelle, les Lamiacées ont fait l'objet de nombreuses études botaniques, phytochimiques et pharmacologiques. Les Lamiacées jouent un rôle économique important au Maroc, en particulier en tant que source de plantes aromatiques et médicinales utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Les espèces de menthe et le thym sont l'une

des plus importantes de la famille des Lamiacées au Maroc, où elles sont cultivées principalement pour la production d'huiles essentielles (Ghanmi et al., 2014) . Ces dernières sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour parfumer les bonbons, les gommes à mâcher, les thés et les desserts. Elles sont également utilisées dans l'industrie cosmétique pour parfumer les produits de soins personnels tels que les dentifrices, les shampoings et les savons ou dans l'industrie pharmaceutique autant qu'agents antibactériens et antifongiques. La sauge est également une plante importante de la famille des Lamiacées au Maroc, utilisée principalement pour ses propriétés médicinales dans le traitement des troubles gastro-intestinaux et menstruels (El-Gharbaoui et al., 2017). En outre, certaines espèces de Lamiacées endémiques au Maroc ont été étudiées pour leur potentiel pharmaceutique, notamment la *Marrubium vulgare* et la *Salvia verbenaca*, qui ont montré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antidiabétiques (Ratray and Van Wyk, 2021) .

2. Présentation du genre *Mentha*

Le genre *Mentha* appartient à la famille des Lamiacées et comprend environ 25 à 30 espèces de plantes herbacées vivaces. Les Menthes sont largement réparties dans les régions tempérées et subtropicales du monde, et se trouvent souvent dans les zones humides et les prairies. Les plantes du genre *Mentha* sont caractérisées par des tiges carrées et des feuilles opposées, souvent dentées, avec une surface supérieure lisse et une surface inférieure légèrement poilue. Les fleurs sont petites et groupées en épis terminaux, avec une corolle bilabée typique des Lamiacées (Tafrihi et al., 2021). Les Menthes sont célèbres pour leur odeur et leur goût mentholé, causés par la présence d'huiles essentielles dans les feuilles et les tiges. Les composés aromatiques les plus communs dans les Menthes sont le menthol, la menthone, le limonène, le carvone et l'isomenthone. Ces composés sont également responsables de leurs propriétés médicinales, telles que les propriétés antispasmodiques, analgésiques et anti-inflammatoires (Hawrył et al., 2015). Les Menthes ont une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections telles que les troubles gastro-intestinaux, les maux de tête et les douleurs musculaires. De plus, ils sont utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique pour leur arôme et leur effet rafraîchissant (Tafrihi et al., 2021). Les Menthes sont une plante importante pour l'industrie des huiles essentielles et de l'aromathérapie, et de nombreuses études ont été menées pour évaluer leur activité biologique et leurs propriétés pharmacologiques. En outre, les Menthes sont une plante modèle pour l'étude de l'évolution et de la diversité dans la famille des Lamiacées.

3. Classification botanique de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

Règne : Plantae

Branche : Racheophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Mentha*

Espèce : *Rotundifolia*

Nom scientifique : *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

4. Description botanique de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

Mentha rotundifolia (L.) Huds (*M.rotundifolia*) est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Lamiacées. Beaucoup d'auteurs la définissent comme une herbe hybride issue d'un croisement entre *M. suaveolens* et *M. longifolia* tandis que d'autres la considèrent comme le synonyme de *M. suaveolens* (Denslow and Poindexter, 2009). Elle pousse généralement en touffes et peut atteindre une hauteur de 30 à 60 cm. La tige est dressée, poilue et souvent rougeâtre. Les feuilles sont simples, opposées et ont une forme arrondie de 1,5 à 3 cm de diamètre, d'où son nom commun de menthe à feuilles rondes. Les feuilles sont vert foncé et légèrement velues sur les deux faces. Les bords de la feuille sont dentelés et les nervures sont marquées en relief (**figure 15, a**). Les fleurs sont regroupées en épis terminaux de 4 à 8 cm de long. Les fleurs individuelles ont une forme bilabée avec des pétales soudés qui s'ouvrent en deux lèvres. Les fleurs sont roses à violettes et fleurissent de juillet à septembre (**figure 15, b**) (Sutour et al., 2010). La plante est originaire d'Europe et d'Asie centrale, mais elle est maintenant répandue dans le monde entier, notamment en Amérique et en Afrique du Nord et en Australie (**figure 16**) (Seladji et al., 2014). Elle pousse dans une grande variété de conditions de sol et de lumière, mais elle préfère les sols riches en nutriments et bien drainés et les zones de plein soleil à mi-ombre.

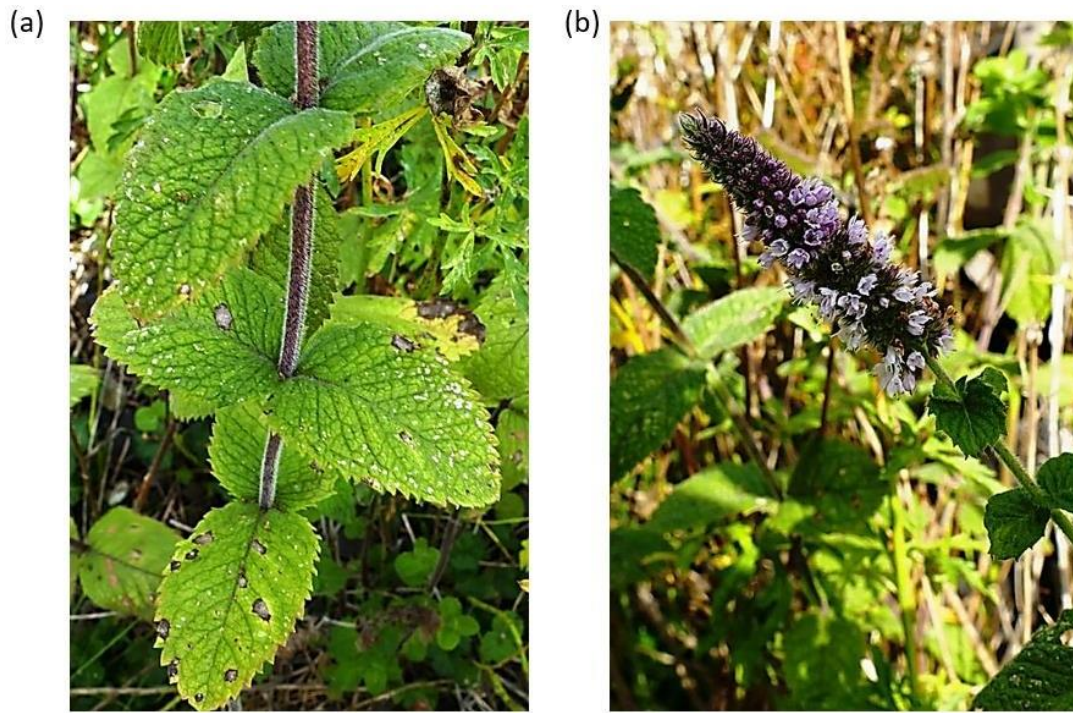


Figure 15: Parties aériennes de la plante *Mentha rotundifolia* (L.) Huds.

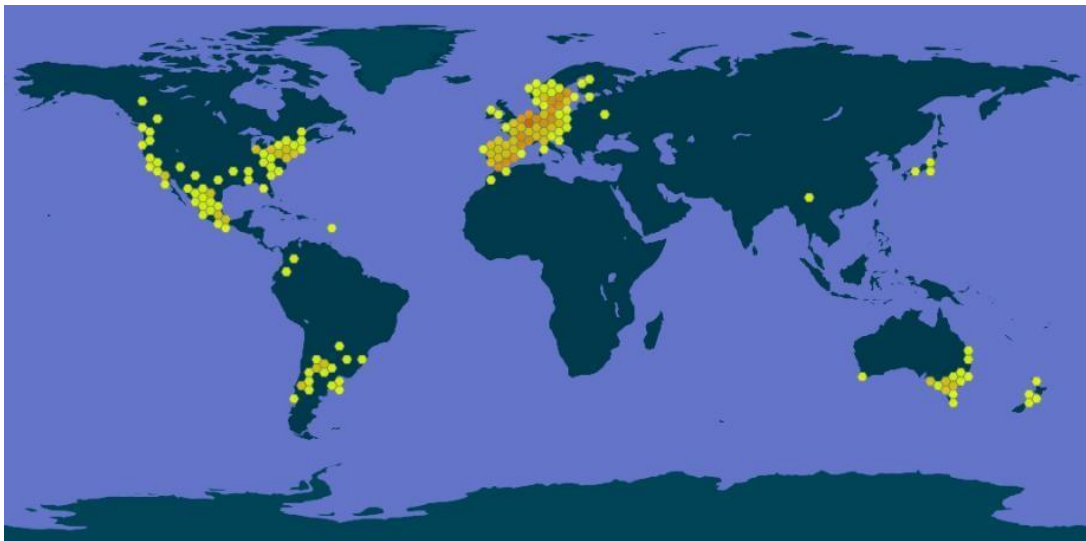


Figure 16: Distribution géographique de *Mentha rotundifolia* (L.) huds. Gbif.org (2023)

5. Usages traditionnels de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

Mentha rotundifolia est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés médicinales. En Europe, la plante est traditionnellement utilisée pour soulager les douleurs menstruelles, les maux de tête et les problèmes digestifs. Elle est également utilisée en cuisine pour aromatiser les plats et les boissons, notamment le thé à la menthe (Tafrihi et al., 2021). Dans la médecine traditionnelle chinoise, *Mentha rotundifolia* est utilisée pour traiter les maux de tête, les vomissements, la fièvre et les douleurs abdominales. En Inde, la plante est

utilisée pour traiter les troubles digestifs, les douleurs abdominales et les douleurs menstruelles (Li et al., 2016).

Au Maroc, *M. rotundifolia* est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les douleurs articulaires, les douleurs menstruelles, les problèmes digestifs et la fièvre. Elle est également utilisée pour ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires. Outre ses utilisations médicinales, elle est utilisée en cosmétique pour ses propriétés rafraîchissantes et apaisantes (Derwich et al., 2010). Ses huiles essentielles sont utilisées en parfumerie pour leurs notes aromatiques fraîches et mentholées. La culture de la *M. rotundifolia* est également importante sur le plan économique au Maroc. La plante est cultivée dans certaines régions du pays pour la production d'huiles essentielles destinées pour l'exportation vers d'autres pays (El Hassani, 2020).

6. Composition chimique de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

Mentha rotundifolia contient une grande variété de composés chimiques, notamment des composés phénoliques, des flavonoïdes, des terpènes, des acides gras insaturés et des vitamines. L'analyse de son profil phénolique par la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MSMS) a révélé sa teneur en acide rosmarinique, acide caféique, acide chlorogénique, acide férulique, acide *p*-coumarique, acide vanillique, acide syringique, acide ellagique, acide galique, acide gentisique et acide salicylique. L'identification de ses flavonoïdes a montré qu'elle contient la lutéoline, la quercétine, le kaempférol, l'apigénine, la myricétine, la naringine, et l'héspéridine (Ben Haj Yahia et al., 2019a). Concernant la fraction aromatique de la plante, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a montré que les composés les plus abondants étaient le limonène, le menthone, le menthol, le pulegone, le 1,8-cinéole, le linalol, le carvone, l'isomenthone et l'oxyde de piperitenone (Riahi et al., 2013). La plante contient également d'autres éléments tels que des acides gras insaturés (acide linoléique, acide linoléique, acide oléique), la vitamine C, et les tocophérols (Park et al., 2019). La quantité et la proportion de ces composés varient selon les parties de la plante (feuilles, tiges, fleurs, racines), le stade de développement, les conditions de culture et de récolte, et la technique d'extraction.

7. Propriétés pharmacologiques de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

7.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de *M. rotundifolia* a été évaluée dans plusieurs études scientifiques. L'extrait éthanolique de *M. rotundifolia* a eu une forte activité antioxydante dans le test 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) avec une valeur $IC_{50} = 24,2 \mu\text{g/ml}$ (Fatima et al.,

2015). Une autre étude menée par (Seladji et al., 2014) a montré que l'extrait éthanolique de *M. rotundifolia* avait une activité antioxydante similaire à celle de l'acide ascorbique (vitamine C) et du butylhydroxyanisole (BHA) (1,05 mmol équivalent BHA/g extrait sec), deux antioxydants bien connus . Il a même été reporté que l'extrait hydro-méthanolique de *M. rotundifolia*, à 600 mg/kg a mieux prévenu contre la peroxydation lipidique en comparaison avec l'ibuprofène. Ces résultats sont attribués à la richesse de la plante en composés phénoliques et flavonoïdes tels que l'acide rosmarinique, la lutéoline et la quercétine (Boussouf et al., 2017).

7.2. Activité anti-inflammatoire

Dans plusieurs régions du monde, *Mentha rotundifolia* est utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires et antipyrétiques. Il a été démontré que l'extrait méthanolique de *M. rotundifolia* avait des propriétés anti-inflammatoires significatives contre l'inflammation induite par l'acide acétique chez les souris (Fatiha et al., 2015). Dans un modèle d'œdème des pattes induit par la carraghénane, l'extrait hydro-méthanolique de *M. rotundifolia*, à une dose de 600 mg/kg a montré une activité comparable à celle l'ibuprofène (Boussouf et al., 2017). L'huile essentielle de *M. rotundifolia*, à une dose de 200 mg/kg avait également un effet anti-inflammatoire remarquable contre l'inflammation aigue de l'oreille induite chez un modèle murin (Božović et al., 2015). Ces résultats pourraient être attribués à ses terpènes, notamment l'oxyde de piperitenone, le menthone et l'eugénol, ainsi qu'à ses flavonoïdes dont l'acide rosmarinique et le kaempferol.

7.3. Activité analgésique et antinociceptive

L'utilisation traditionnelle de *M. rotundifolia* pour traiter les douleurs abdominales, articulaires, menstruelles et les maux de tête, a motivé les chercheurs pour mener des études qui confirment ses effets analgésiques et antinociceptifs. Il a été démontré précédemment que l'extrait hydro-méthanolique de *M. rotundifolia* à une dose de 600 mg/kg, avait un effet supérieur à celui de l'aspirine sur les spasmes induits par l'acide acétique chez les souris (Boussouf et al., 2017). L'extrait aqueux de *M. rotundifolia* à une dose de 250mg/kg s'est montré efficace contre l'hyperalgésie induite par H₂O₂ (Boualam et al., 2023) . L'huile essentielle de *M. rotundifolia* a également été testée pour son activité antidouleur, démontrant ainsi son efficacité dans les tests de tail flick, Hot plate, et contre les spasmes causés par l'acide acétique (Božović et al., 2015; Mogosan et al., 2017).

7.4. Activité neuroprotectrice

L'huile essentielle et l'extrait hydro-méthanolique de *M. rotundifolia* ont montré une inhibition significative de l'acétylcholinestérase, une enzyme impliquée dans la dégradation de

l'acétylcholine impliquée dans les fonctions cognitives (Fatiha et al., 2015). En plus, son huile essentielle a également eu un effet positif sur la mémoire de travail comme elle a montré des effets positifs sur la dépression et l'anxiété chez des souris soumises à un stress chronique (Patrick et al., 2015). *Mentha rotundifolia* est riche en composés qui ont déjà été étudiés pour leur effet neuroprotecteur notamment le kaempferol, l'acide rosmarinique, l'oxyde de piperitenone et l'acide quinique.

7.5. Activité hépatoprotectrice

Ila été démontré que le prétraitement de souris par l'extrait hydro-méthanolique de *M. rotundifolia*, a permis de restaurer les niveaux dégradés d'antioxydants hépatiques (CAT, SOD et GSH) suite à l'inflammation induite par la carraghénane (Boussouf et al., 2017). Additionnement, dans un modèle murin d'hépatotoxicité induite par H₂O₂, l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* a été capable de réguler les concentrations des biomarqueurs hépatiques à savoir la bilirubine, et transaminases ALAT et ASAT (Boualam et al., 2023). Ces résultats confirment l'activité hépatoprotectrice de la plante.

7.6. Activité antibactérienne et antifongique

Plusieurs études ont évalué l'activité antibactérienne et antifongique de *M. rotundifolia*. Les extraits méthanoliques et aqueux de la plante avaient montré une action modérée contre *Escherichia Coli* et *Candida albicans* (Seladji et al., 2014). Cependant, beaucoup d'études s'accordent à confirmer l'efficacité de son huile essentielle contre plusieurs souches de bactéries de gram positifs (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*) ou négatif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), ainsi que contre des champignons (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*) (Riahi et al., 2013).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 1 : MATERIEL VEGETAL ET ETUDE PHYTOCHIMIQUE

I. INTRODUCTION :

La composition chimique de la partie aérienne de *M. rotundifolia* a été reportée dans plusieurs études. Cependant, il est communément admis que les plantes possèdent une grande variabilité dans leur composition chimique, influencée par de nombreux facteurs tels que la distribution géographique, le sol, les conditions climatiques, le moment de la récolte, ainsi que les techniques de préparation et d'extraction, entre autres (Kabtni et al., 2020). En conséquence, il est important de ne pas se contenter des données de la littérature pour caractériser la composition chimique des plantes médicinales, mais de mener des études phytochimiques approfondies pour évaluer avec précision leur composition. Dans ce contexte, les objectifs de ce chapitre sont :

- Mesurer la teneur en polyphénols, flavonoïdes, tanins, et sucres dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de la partie aérienne de *M. rotundifolia*
- Caractériser le profil phénolique de l'extrait aqueux de la partie aérienne *M. rotundifolia* avec LC-MSMS
- Caractériser la composition chimique de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne de *M. rotundifolia*
- Evaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de la partie aérienne de *M. rotundifolia*

II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

1.1. Sélection du matériel végétal

Les feuilles de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. ont été collectées dans le village de Mkam Tolba, situé près de la ville de Khemisset (33°55'41.9" N, 6°16'34.2" W), au Maroc (**figure 17**), pendant la période de floraison (août, 2021). Les feuilles ont été séchées à l'ombre pendant 2 semaines à température ambiante.

1.2. Préparation de l'extrait aqueux

Après le séchage, La partie aérienne de *M. rotundifolia* a été récupérée puis broyée. 100g de la poudre de la plante a été macérée dans 1000 ml d'eau distillée pendant 72 h sous agitation (Iranawati et al., 2020) . Le macérât a ensuite été récupéré après filtration sous vide, puis lyophilisé pour ne garder que les extraits brutes des feuilles de la plante.

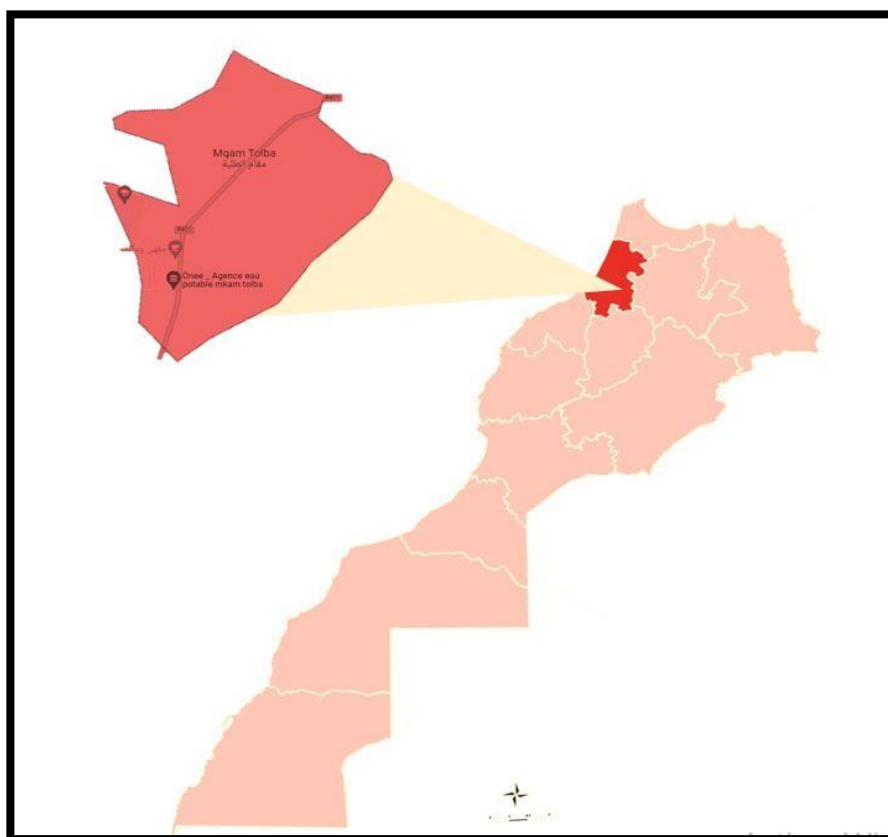


Figure 17: Description géographique de la zone de récolte

1.3. Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat

L'huile essentielle (HE) et l'hydrolat ont été extraits de la partie aérienne de *M. rotundifolia* par hydrodistillation. 500 g de parties aériennes de *M. rotundifolia* ont été soigneusement distillés pendant 3 heures. L'HE a été séparée de l'hydrolat par décantation. 500 ml d'hydrolat ont été recueillis selon la loi du un pour un préconisée par [Bonnafous Catherine, \(2013\)](#), qui indique que pour un litre d'hydrolat, il faut distiller 1 kg de matériel végétal. Les échantillons d'huile essentielle ont été recouverts de sulfate de sodium anhydre puis stockés dans des flacons hermétiques à basse température avant analyse.

2. Dosage phytochimique

2.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC)

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de *M. rotundifolia* a été mesurée suivant le protocole du dosage de Folin Ciocalteu avec de légères modifications. 0,5 ml de l'hydrolat et de l'extrait aqueux (1000 μ g/ml) a été mélangé avec 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 %) et 4 ml de Na₂CO₃ (7,5 %). Après 30 minutes d'incubation à 45°C, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Les valeurs ont été comparées à un blanc. Les résultats ont été exprimés en équivalent d'acide gallique (EAG) en μ g/mL. La courbe standard a été

établie en traçant l'absorbance en fonction de la concentration d'acide gallique. Les échantillons ont été analysés en triplicata.

2.2. Teneur en flavonoïdes totaux (TFC)

La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de *M. rotundifolia* a été déterminée selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium avec de légères modifications. 0,5 ml d'hydrolat et de l'extrait aqueux (1000µg/ml) a été ajouté à 3,2 ml d'eau distillée et 150 µl de NaNO₂ (5%). Après 5 min, 150 µL d'AlCl₃ (10%) ont été ajoutés. Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance de la solution a été lue à 510 nm. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en équivalent Quercétine en µg par 1 ml d'extrait. Les échantillons ont été analysés en triplicata.

2.3. Teneur en tanins totaux (TTC)

La méthode modifiée de Broadhurst et Jones a été suivie pour déterminer la teneur en tanins dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de *M. rotundifolia*. 100 µl d'hydrolat et de l'extrait aqueux (1000µg/ml) ont été ajoutés à 3 ml d'une solution de vanilline (4 % dans le méthanol) et à 1,5 ml de HCl concentré. Après 2 min d'incubation dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à 500 nm. La teneur en tanins a été exprimée en équivalent catéchine en µg par 1 ml d'extrait. L'échantillon a été analysé en triplicata.

3. Analyse LC-MSMS de l'extrait aqueux de *Mentha rotundifolia*

Un système Shimadzu couplé à un spectromètre de masse à triple quadripôle MS 8050 a été utilisé. La séparation a été réalisée en utilisant une colonne à phase inverse C18 (Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6 mm × 150 mm, 3,5 µm, Agilent, USA). Un gradient d'eau et d'acétonitrile (ACN) (0,1 % d'acide formique chacun) a été appliqué de 5 à 30 % d'ACN pendant 45 minutes, puis augmenté à 58 % d'ACN pendant les 15 minutes suivantes avec un débit de 1 mL/min. L'échantillon a été automatiquement injecté à l'aide d'un échantillonneur automatique SIL-40CXS. L'instrument a été contrôlé par le logiciel LabSolutions. Les ions ont été détectés en mode ion négatif, en mode balayage complet et sur une plage de masse de 100 à 1500 m/z.

4. GC-MS de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

La composition de l'HE de *M. rotundifolia* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse Nexis 2030 couplée à un spectromètre de masse TQ8040 NX (GCMS-TQ8040, SHIMADZU, JAPAN). La séparation des composés a été effectuée à l'aide d'une colonne Restek RTX-5MS (30 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm). La température du CG a été programmée à 50 °C pendant 2 minutes et augmentée à 300 °C avec un taux de 5,5 C/min et

stabilisée pendant 3 minutes à 300 °C. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur avec un débit de 1,5 ml/min. 1 µl de l'échantillon a été injecté en mode fractionné (injecteur HTA 2800T, HT 250 C). Le balayage de masse était m/z : 50-500. Les composés de l'OE sont identifiés par leurs indices de rétention sur colonne (RI) déterminés en référence à la série d'homologues C5-C24 (n-alcane), et par comparaison de leurs spectres de masse avec les rapports de la littérature (RIL) en utilisant les bibliothèques NIST 2017 et la version Wiley (Adams, 2007).

5. Activité antioxydante

5.1. Test DPPH

L'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat a été testée en utilisant le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) avec l'acide ascorbique comme contrôle positif. 0,5 ml de DPPH (79 µg/ml) a été ajouté à une gamme de concentrations des échantillons (50-1000 µg/ml). La réaction a ensuite été incubée pendant 30 min dans l'obscurité à température ambiante. Lorsque le DPPH est réduit par une molécule antioxydante, sa couleur violette devient jaune. L'absorbance a été lue à 517 nm et l'activité de piégeage a été estimée en pourcentage à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{O.D control} - \text{O.D test})}{\text{O.D control}} * 100$$

La valeur IC₅₀ a été estimée à l'aide de la courbe de piégeage des radicaux libres en fonction des concentrations de l'extrait et du standard (acide ascorbique). Les concentrations ont été testées en triplicata, puis la moyenne a été utilisée.

5.2. Test ABTS

Le test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ (2,2- azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfate) coloré en bleu-vert en piégeant un proton et en le transformant en ABTS⁺ incolore. Une solution d'ABTS (7 Mm) a été préparée en mélangeant 72 mg d'ABTS avec 13,24 mg de persulfate de potassium (2,45 mM) dans 20 mL d'eau distillée. Le mélange a été incubé pendant 16 heures dans l'obscurité. La solution d'ABTS⁺ (7 mM) a été diluée avec de l'eau distillée pour atteindre une absorbance de 0,7 ± 0,02 à 734 nm. 1,9 ml de cette solution a été ajouté à 600 µl de solution d'extrait à différentes concentrations (5-100 µg/ml). Après une incubation de 7 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 734 nm.

Le blanc a été préparé en remplaçant la solution d'extrait par du méthanol. L'activité de piégeage a été estimée en pourcentage à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{O.D control} - \text{O.D test})}{\text{O.D control}} * 100$$

La valeur IC₅₀ a été estimée à l'aide de la courbe de piégeage des radicaux libres en fonction des concentrations de l'extrait et du standard (Trolox). Les concentrations ont été testées en triplicata, puis la moyenne a été utilisée.

6. Analyse statistique

Les données ont été analysées avec GraphPad Prism 8. La normalité a été évaluée par le test de Shapiro-Wilk. Les valeurs IC₅₀ ont été comparées à l'aide de One way ANOVA pour n = 3. Les résultats sont présentés autant que moyenne ± SD et considérés comme significativement différents pour $p \leq 0.05$.

III. RESULTATS

1. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait aqueux et de l'HE de *M. rotundifolia* est de $3.43 \pm 1.04\%$ et $0.86 \pm 1.62\%$ (n= 3) respectivement.

2. Teneur en composés phénoliques

Comme prévu, les résultats des dosages des différents composés phénoliques a montré que la teneur en polyphénols, en flavonoïdes, et en tanins est plus élevée ($p \leq 0.05$) dans l'extrait aqueux que dans l'hydrolat. L'hydrolat issu de l'hydrodistillation des plantes contient surtout des molécules volatiles.

Tableau 2: Résultats du dosage des composés phénoliques dans l'extrait aqueux et l'hydrolat de *Mentha rotundifolia*

	Extrait aqueux de <i>M. rotundifolia</i>	Hydrolat de <i>M. rotundifolia</i>
TPC (µg/ml)	$92.47 \pm 1.03^{****}$	42.12 ± 1.37
TFC (µg/ml)	$68.17 \pm 0.94^{****}$	13.26 ± 0.96
TTC (µg/ml)	$28.21 \pm 1.83^{**}$	19.51 ± 1.4
** pour $p \leq 0,01$, **** pour $p \leq 0,0001$		

3. Caractérisation phytochimique de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia*

L'analyse LC-MS de l'extrait aqueux des feuilles de *M. rotundifolia* a révélé quarante phytoconstituants, principalement des acides phénoliques, des glucosides et des flavonoïdes (**tableau 3 et figure 18**). Le glucuronide de kaempférol domine l'extrait et représente 85 % de sa composition.

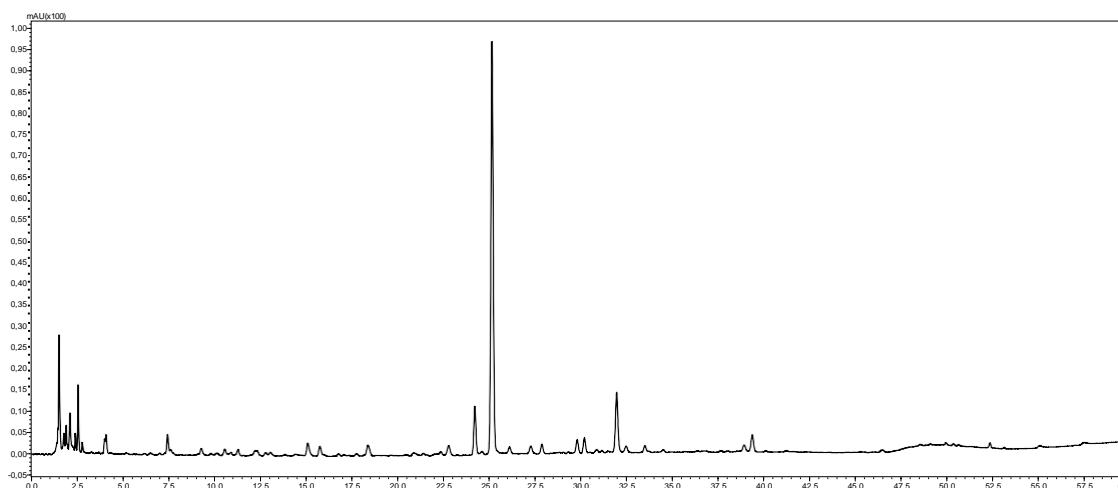


Figure 18: Profil chromatographique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *M. rotundifolia*

Tableau 3 : Phytoconstituants identifiés par LC-MS dans l'extrait aqueux de *M. rotundifolia*

Rt (min)	[M-H] ⁻	MS/MS	Compound names
1.12	191	111	Quinic acid
1.87	133	115	Malic acid
4.63	463	331, 169	Galloyl glucose pentose
4.93	315	153	Dihydroxybenzoic acid glucoside
5.53	339	165	Quinyl phloretic acid
6.97	447	315, 153	Dihydroxybenzoic acid glucosyl pentoside
7.28	353	191	Chlorogenic acid
7.52	315	153	Dihydroxybenzoic acid glucoside
8.42	447	315, 153	Dihydroxybenzoic acid glucosyl pentoside
9.08	137	108	Hydroxybenzoic acid
9.38	299	137	Hydroxybenzoic acid glucoside
9.92	349	165	Syringyl phloretic acid
10.04	337	163	Coumaroylquinic acid
10.16	295	163	Coumaric acid pentoside
10.76	341	179	Caffeoyl glucose
11.12	253	121	Benzoic acid pentoside
12.19	353	191	Chlorogenic acid isomer
12.50	265	147	Phenylacetyl cinnamic acid
13.53	305	179	Gallocatechin
14.01	337	163	Coumaroylquinic acid
15.21	341	179	Caffeoyl glucose
16.73	593	383, 353	Apigenin C-diglucoside
16.83	355	193	Feruloyl glucose
17.74	367	193	Feruloyl quinic acid
19.30	335	173	Caffeoyl shikimic acid
22.72	289	245	(epi)Catechin
23.20	623	447, 285	Kaempferol glucosyl glucuronide
24.39	593	285	Kaempferol rutinoside
24.95	447	285	Kaempferol glucoside
25.29	461	285	Kaempferol glucuronide
29.28	431	269	Apigenin glucoside
29.34	447	285	Kaempferol glucoside
29.70	445	269	Apigenin glucuronide
32.99	461	285	Kaempferol glucuronide
39.44	493	359	Salvianolic acid
42.42	537	197	Salvianolic acid I
45.57	269	151	Apigenin

4. Caractérisation de la composition chimique de l'huile essentielle de *M. rotundifolia*

L'analyse GC de l'HE de *M. rotundifolia* a révélé cinquante-trois phytoconstituants, **tableau 4 et figure 19**. L'oxyde de pipériténone représente le chémotype de cette huile essentielle et représente 69,33 % de sa composition.

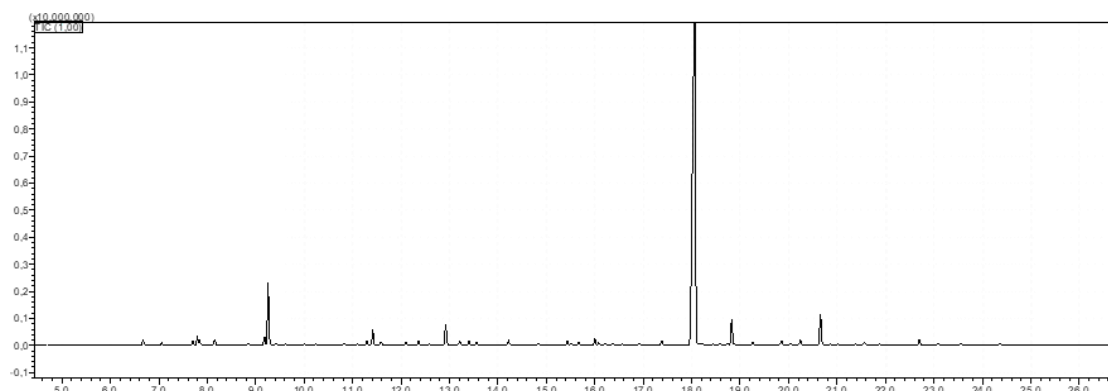


Figure 19: Profil chromatographique (GC) de l'huile essentielle de *M. rotundifolia*

Tableau 4: Phytoconstituants identifiés dans l'huile essentielle de *M. rotundifolia*

Compound	RI _L	RI	Area (%)
α -Thujene	930	933	0.41
α -Pinene	939	937	1.53
Camphene	954	953	0.5
β -Pinene	979	984	0.15
Myrcene	991	998	0.25
1,4 Cineol	1015	1002	6.34
α -Terpinene	1017	1009	0.16
(Z)- β -ocimene	1037	1035	0.15
(E)- β -ocimene	1050	1046	0.09
<i>p</i> -Mentha-3,8-diene	1073	1072	0.22
(E)-Thujone	1102	1092	0.48
(Z)-Thujone	1114	1105	0.32
(E)- <i>p</i> -Menth-2-en-1-ol	1122	1112	0.1
(Z)-sabinol	1142	1133	0.09
Camphor	1146	1140	0.49
Menthone	1153	1150	0.23
Isoborneol	1162	1164	2.39
Terpinen-4-ol	1177	1177	0.45
<i>m</i> -Cymen-8-ol	1180	1186	0.46
α -Terpineol	1189	1192	0.33
(E)-3-Hexenyl isovalerate	1245	1238	0.06
Pulgeone	1237	1245	0.14
Carvone	1243	1249	0.07
(E)-Carvone oxide	1263	1269	0.48
Bornyl acetate	1289	1291	0.33
Carvacrol	1299	1295	0.63
6-Hydroxycarvotanacetone	1311	1306	0.18

Piperitenone	1343	1347	0.46
Eugenol	1359	1363	0.10
Piperitenone oxide	1369	1374	69.33
β -Bourbonene	1388	1389	0.17
β -Elemene	1391	1394	0.23
Z-Jasmone	1393	1401	0.2
Caryophyllene	1419	1422	0.42
β -Copaen	1432	1430	0.06
Naphthalene	1446	1446	0.56
Humulene	1455	1453	0.13
(E)-Muurolo-4(15),5-diene	1467	1461	0.55
Gamma-muurolole	1480	1473	0.06
Germacrene D	1485	1478	3.29
Gamma-patchoulene	1502	1492	0.12
Gamma-cadinene	1514	1508	0.25
(Z)-Calamenene	1529	1519	0.10
Globulol	1585	1598	0.12
Epicubanol	1619	1623	0.23
α -Cadinol	1654	1665	0.17

5. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de *M. rotundifolia* a été testée en utilisant les tests DPPH et ABTS. L'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat ont été comparés aux standards : acide ascorbique et Trolox, et leurs valeurs IC₅₀, correspondantes à la concentration de l'échantillon nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres dans le test, ont été calculées. Tous les échantillons testés ont montré une capacité de piégeage de radicaux libres croissante et dépendante de la concentration (**figure 20**). A toutes les concentrations testées (10-1000 μ g/ml), l'extrait aqueux avait un pouvoir inhibiteur plus élevé ($p \leq 0.05$), atteignant 93.06 % à 1000 μ g/ml dans le test DPPH et 87.39% à 1000 μ g/ml dans le test ABTS. L'Hydrolat et l'huile essentielle étaient comparables pour certaines concentrations ($p \geq 0.05$), mais en général, l'hydrolat avait une meilleure activité. Ces résultats s'accordent avec les valeurs IC₅₀ calculées dans le **tableau 5**. L'extrait aqueux a la plus faible valeur IC₅₀ pour les deux tests DPPH et ABTS ($p \leq 0.05$), indiquant la plus forte activité antioxydante, suivi par l'hydrolat et finalement l'huile essentielle. Ces résultats ont été prévus étant donné que l'activité antioxydante est étroitement liée à la teneur en polyphénols.

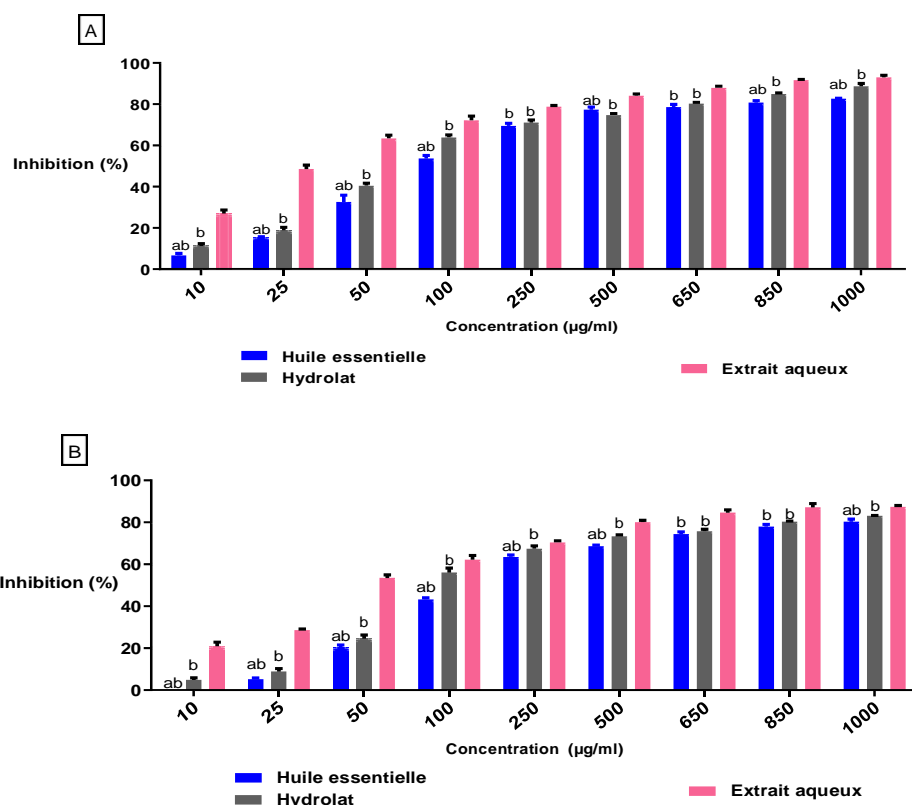


Figure 20: Activité antioxydante de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de *M. rotundifolia*. (A) présente le pourcentage de piégeage de radicaux libres dans le test DPPH et (B) présente le pourcentage de piégeage de radicaux libres dans le test ABTS. Les résultats sont présentés autant que moyenne \pm SD pour n = 3. a Vs l'hydrolat, b Vs l'extrait aqueux pour $p \leq 0.05$

Tableau 5: Valeurs IC_{50} de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de *M. rotundifolia* dans le test DPPH et ABTS

	Extrait aqueux	Huile essentielle	Hydrolat	Acide ascorbique	Trolox
DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	26.47 ± 1.68^{abc}	117.6 ± 0.86^{ac}	87.39 ± 0.82^a	1.74 ± 0.28	-
ABTS IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	41.21 ± 2.54^{abc}	186.6 ± 0.94^{ac}	97.7 ± 0.9^a	-	3.48 ± 2.49

Les résultats sont présentés autant que moyenne \pm SD pour n = 3. a Vs le standard, b Vs l'huile essentielle, c Vs l'hydrolat

IV. DISCUSSION

Les métabolites secondaires sont produits par les plantes pour les aider à se défendre contre les prédateurs, à s'adapter aux conditions environnementales difficiles et à réguler leur croissance et leur développement. En outre, ils confèrent aux plantes leurs propriétés pharmacologiques pour lesquelles elles sont utilisées en médecines traditionnelles ou valorisées dans l'industrie pharmaceutique pour le développement de nouveaux médicaments. Dans ce contexte, le but de ce chapitre est d'une part élucider la composition phytochimique de *M. rotundifolia* afin d'identifier les phytoconstituants derrière ses multiples propriétés biologiques, et d'autre part, évaluer son activité antioxydante vu l'intérêt qu'on lui porte dans ce travail. Le

dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* est riche en polyphénols avec une prédominance de flavonoïdes comme c'est le cas de plusieurs autres espèces de la menthe (Benabdallah et al., 2016). L'hydrolat de *Mentha rotundifolia* contient également une quantité considérable de phénols et de flavonoïdes, Une étude récente de Jakubczyk et al., (2021) a évalué la composition chimique et l'activité antioxydante de 17 hydrolats provenant de diverses espèces de plantes et a démontré qu'ils contiennent des niveaux élevés de phénols et présentent une activité antioxydante significative ce qui concorde avec nos résultats.

L'analyse LC-MS a montré que l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* contient quarante phytoconstituants, dont l'acide quinique, l'acide chlorogénique, l'acide caféoyl-shikimique, le rutinoside de kaempferol et le glucuronide de kaempferol, qui représente 85 % de l'extrait. Cette composition phénolique est en accord avec les résultats de plusieurs études antérieures. Cependant, des différences substantielles ont été trouvées dans la composition chimique de *M. rotundifolia* de la flore marocaine par rapport à celle d'autres pays. En effet, l'acide rosmarinique a été détecté dans l'extrait comme un composé mineur, alors qu'il fait partie des composés majeurs des espèces algérienne et tunisienne (Fatiha et al., 2015) et l'ériocitrine était prédominante dans la flore saoudienne (Alharbi et al., 2021). Les phytoconstituants identifiés ont déjà été décrits dans des travaux antérieurs pour leurs propriétés pharmacologiques. Les acides quinique et chlorogénique ont une large gamme d'activités biologiques telles que les effets antidiabétiques, protecteurs de l'ADN, neuroprotecteurs, hépatoprotecteurs et antifongiques (Ma and Ma, 2015; J. Zuo et al., 2015). L'acide caféoyl-chikimique a montré un effet anti-hyperuricémie et a amélioré les lésions rénales chez les souris (Zhang et al., 2021). Le kaempférol et ses dérivés sont des flavonols qui présentent des bioactivités prometteuses, notamment des propriétés anticancéreuses, antivirales, antimicrobiennes et neuroprotectrices (Bangar et al., 2022). En outre, il a été démontré que tous ces composés ont une importante activité antioxydante (Riahi et al., 2019; Sato et al., 2011; Uzun et al., 2017), ce qui peut justifier le fort potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* dans les tests DPPH et ABTS ($IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$) (Jadid et al., 2017).

L'analyse GC-MS de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a révélé que l'oxyde de pipéridone représente 69,33 % de sa composition. D'autres éléments sont également présent, notamment le (1, 4) cinéol, le bornéol et le germacren D. Ces résultats sont conformes à ceux d'études antérieures. Par ailleurs, d'autres études ont suggéré la présence potentielle d'autres chémotypes, tels que le 3-Cyclopenten-1-one, le 2-hydroxy-3-(3-méthyl-2-butényl), le carvacrol, le 2-Isopropylidencyclohexanone ou l'eucarvone (Aziz et al., 2018; Derwich et al., 2010; Kharoubi et al., 2020). La forte concentration d'oxyde de pipéridone trouvée dans *M.*

rotundifolia laisse suggérer que ses effets pharmacologiques sont principalement attribués à ce composé. Il a été démontré que l'oxyde de pipéridone possède des propriétés remarquables, notamment des activités antioxydantes, antibactériennes et anti-nociceptives, ainsi que la capacité de réguler les cycles menstruels (Božović et al., 2015).

La production des métabolites secondaires par les plantes est principalement conditionnée et contrôlée par des facteurs épigénétiques (Avramova, 2015). Les variations dans la composition phénolique et aromatique de *M. rotundifolia* peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs tels que la répartition géographique, la température, la disponibilité en eau, la composition du sol et le moment de la récolte (Kabtni et al., 2020).

V. CONCLUSION

Les métabolites secondaires produits par les plantes ont une grande importance biologique et pharmacologique. Dans le cas de *Mentha rotundifolia*, l'analyse de ses composés phytochimiques a montré une richesse en polyphénols et en flavonoïdes, particulièrement le glucuronide de kaempferol, ce qui explique son fort potentiel antioxydant. L'extrait aqueux contient également d'autres composés bioactifs, tels que l'acide quinique, l'acide chlorogénique, l'acide caféoyl-shikimique, le rutinoside de kaempferol et le glucuronide de kaempferol, qui ont des propriétés pharmacologiques diverses et potentiellement bénéfiques pour la santé humaine. D'autre part, l'huile essentielle de *M. rotundifolia* est dominée par l'oxyde de pipéridone qui a été largement étudié pour son large éventail d'activités biologiques. Enfin, il est important de noter que la composition phytochimique de *M. rotundifolia* peut varier en fonction des facteurs biotiques et abiotiques, ce qui nécessite une étude approfondie pour en déterminer les propriétés spécifiques et les avantages pharmacologiques potentiels.

CHAPITRE 2 : EFFET PREVENTIF DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'HYDROLAT DE *MENTHA ROTUNDIFOLIA* (L.) HUDS. CONTRE LES DOULEURS NEUROPATHIQUES

I. INTRODUCTION

La neuropathie et l'inflammation sont les conséquences de la chronicité de plusieurs maladies liées au stress oxydatif et nitrositif telles que le diabète, le cancer et les maladies auto-immunes (Carrasco et al., 2018) . Lorsque l'organisme est submergé par les espèces réactives, il en résulte un dysfonctionnement mitochondrial qui s'est révélé impliqué dans la démyélinisation des fibres nerveuses, la perturbation de la conductivité nerveuse et l'inflammation (Khuankaew et al., 2021; Meyer and Rinholm, 2021) . La neuropathie périphérique touche 2,4 % de la population générale, mais chez les personnes âgées, la prévalence s'élève à 8 % (Hammi and Yeung, 2022) . Cette condition pathologique a un impact négatif sur la vie quotidienne et la psychologie des patients qui rencontrent des restrictions d'activité et de capacité de travail (Farag, 2019) . De nombreuses interventions pharmacologiques, telles que les antidépresseurs tricycliques, les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la norépinéphrine, les anticonvulsivants calciques et les opioïdes, sont utilisées pour traiter la douleur neuropathique. Cependant, ils présentent plusieurs effets indésirables, notamment la tolérance, la dépendance et les troubles cognitifs (Freyhagen and Bennett, 2009).

Il est intéressant de noter que de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont établi l'efficacité des traitements antioxydants pour soulager les symptômes neuropathiques et la conductivité nerveuse (Carrasco et al., 2018) . Ainsi, l'incorporation d'aliments antioxydants, notamment les légumes, les fruits et les plantes médicinales, dans l'alimentation peut être utile. En outre, en aromathérapie, plusieurs huiles essentielles sont connues pour leur efficacité contre la douleur, l'enflure et l'inflammation, à savoir les huiles de lavande, d'eucalyptus, de romarin, d'arbre à thé et d'origan (El-Shemy, 2020). Pourtant, les hydrolats de plantes, sous-produits des HE, sont encore sous-utilisés. Dans ce contexte, et vu l'activité antioxydante intéressante de l'hydrolat de *Mentha rotundifolia*, et la composition variée de son huile essentielle, nous avons choisi de tester leur effet antiinflammatoire et analgésique comme traitements potentiels pour soulager les douleurs neuropathiques.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Inhibition de la dénaturation d'albumine induite par la chaleur

L'activité anti-inflammatoire de l'HE et de l'hydrolat de *M. rotundifolia* a été évaluée en utilisant le protocole d'inhibition de la dénaturation des protéines induite par la chaleur avec des modifications (Boualam et al., 2021). 0,05 ml d'HE et d'hydrolat à différentes concentrations (40 µg/ml à 2000 µg/ml) ont été mélangés avec 0,45 ml d'albumine bovine (BSA 5 %) à pH = 6,3. Les tubes de mélange ont été incubés à 37°C pendant 20 min ; ensuite, la température a été portée à 57°C pendant 20 min. 2,5 ml de solution tampon phosphate (PBS) (pH = 6,3) ont été ajoutés à chaque tube de réaction et l'absorbance a été mesurée à 660 nm. Le diclofénac sodique a été utilisé comme médicament de référence. Le contrôle contenait de l'eau distillée et de la BSA. Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{O.D control} - \text{O.D test})}{\text{O.D control}} * 100$$

2. Stabilisation de la membrane des erythrocytes

La méthode de stabilisation de la membrane des érythrocytes a été utilisée comme décrit précédemment par (Ajithkumar et al., 2020). La membrane des globules rouges se comporte de manière similaire à la membrane lysosomale. Ainsi, si elle est stabilisée par des traitements à base d'HE et d'hydrolats, la membrane lysosomale serait également stabilisée (Chou, 1997). Du sang humain frais provenant d'un volontaire (ne prenant pas de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pendant 15 jours) a été prélevé et transféré dans des tubes à centrifuger héparinés. Il a ensuite été mélangé à un volume égal de solution d'Alsever (2 % de dextrose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,05 % d'acide citrique, 0,42 % de chlorure de sodium et 100 ml d'eau distillée) et centrifugé (3 000 × g pendant 15 minutes) avec 0,85 % d'isosaline autoclavée (8,5 g de NaCl dans de l'eau). 0,5 ml d'HE de *M. rotundifolia*, d'hydrolat ou de Diclofénac sodique (40 µg /ml à 2000 µg /ml) ont été ajoutés à un même volume de suspension de HRBC. Tous les mélanges ont ensuite été incubés à 37°C pendant 30 minutes et centrifugés. La teneur en hémoglobine dans la solution surnageante a été estimée à l'aide d'un spectrophotomètre à 560 nm. L'inhibition de l'hémolyse a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{O.D control} - \text{O.D test})}{\text{O.D control}} * 100$$

3. Toxicité aigüe de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* (L.) Huds

La toxicité aigüe préliminaire a été évaluée chez quatre groupes de rats (n = 6) recevant par voie intrapéritonéale (IP.) 2000, 1500, 1000, 750 et 500 mg/kg d'HE de *M. rotundifolia* diluée dans 5 % de DMSO. Un groupe (N = 6) a reçu un volume égal de DMSO 5 % (IP). Les signes de toxicité (respiration irrégulière, diarrhée, ataxie, paralysie, somnolence...) et la mortalité ont été observés pendant 48h (Opiyo et al., 2021).

4. Activité analgésique

4.1. Groupes d'animaux

60 rats mâles pesant 200- 250g provenant de l'animalerie centrale de la Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V de Rabat, Maroc, ont été divisés en 10 groupes. Ils ont été logés au hasard dans des cages en polyéthylène avec libre accès à la nourriture et à l'eau dans une pièce à température contrôlée (22±1 °C) et sous un cycle lumière-obscurité de 12 heures :

- Groupe 1 : 10 ml/kg de solution saline par voie intraveineuse (IV).
- Groupe 2 : 5% de DMSO dans une solution saline par voie IP
- Groupe 3 : 2,5 ml/kg d'hydrolat de *M. rotundifolia* par voie intraveineuse.
- Groupe 4 : 5 ml/kg d'hydrolat de *M. rotundifolia* par voie IP.
- Groupe 5 : 10 ml/kg d'hydrolat de *M. rotundifolia* par voie IP.
- Groupe 6 : 250 mg/kg d'HE de *M. rotundifolia* diluée dans 5 % de DMSO dans une solution saline par voie IP.
- Groupe 7 : 500 mg/kg d'HE de *M. rotundifolia* diluée dans 5 % de DMSO dans une solution saline par voie IP.
- Groupe 8 : 750 mg/kg d'HE de *M. rotundifolia* dilué dans 5 % de DMSO dans une solution saline par voie IP
- Groupe 9 : 10 mg/kg de paracétamol IV, préparé dans une solution saline.
- Groupe 10 : 7,5 mg/kg de morphine par voie sous-cutanée (SC) préparée dans une solution saline.

4.2. Contorsions abdominales induites par l'acide acétique

Le test des contorsions induites par l'acide acétique a été décrit pour la première fois par Siegmund et al., (1957) . C'est un modèle expérimental préclinique utilisé pour évaluer les effets analgésiques des médicaments chez les animaux. Le test repose sur l'injection d'une solution diluée d'acide acétique dans la cavité abdominale d'un rongeur et l'observation des

contorsions provoquées et qui se caractérisent par une série de contractions abdominales, d'étirements des membres postérieurs et d'arcades dorsales (**figure 21**). 1h après l'administration de l'HE et l'hydrolat aux groupes 1-9, l'acide acétique 1 % (10 ml/kg ; IP) leur a été administré. Le nombre de contorsions torsions par rat a été compté pendant une période de 20 minutes, commençant directement après l'administration de l'acide acétique. La moyenne des torsions abdominales pour chaque groupe a été obtenue. Le pourcentage d'inhibition des torsions a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = 1 - (\text{Nombre de contorsions (groupe traité)} / \text{Nombre de contorsions (groupe contrôle)}) \times 100$$



Figure 21: Exemple de contorsions abdominales induites par l'administration intrapéritonéale de l'acide acétique

4.3. Test de l'immersion de la queue dans l'eau chaude

L'activité analgésique centrale a été évaluée à l'aide du test de la queue décrit précédemment (D'amour and Smith, 1941) . Une oscillation de la queue loin de la source de chaleur est produite comme un réflexe nociceptif à médiation spinale. L'effet antinociceptif des agents testés est déterminé en mesurant la latence de la réponse. Pour ce faire, les rats des groupes traités par les plantes (3 à 8) et le groupe de contrôle positif (7,5 mg/kg de morphine S.C.) ont été placés dans le cylindre de contention et l'extrémité de la queue a été immergée dans un bain d'eau à $50 \pm 0,5$ °C. Le groupe témoin pour l'huile essentielle a reçu 10 ml/kg de

poids animal de DMSO 5% tandis que le groupe témoin pour la morphine a reçu 10mg/kg de poids animal de solution saline. La latence du réflexe de retrait de la queue a été mesurée. Chaque immersion a été interrompue après 15 secondes afin de minimiser les dommages potentiels à la peau. La latence du réflexe de retrait de la queue a été mesurée avant (ligne de base) et 30, 60 et 90 minutes après l'administration de l'OE, de l'hydrolat et de la morphine. Le score analgésique en pourcentage (SAP) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{SAP} = (\text{Tf} - \text{Ti})/\text{Tf} \times 100$$

Tf = temps de réponse (en secondes) après l'administration du médicament, et Ti = temps de réponse (en secondes) avant l'administration du médicament.

5. Analyse statistique

Les données ont été analysées avec GraphPad Prism 8. La normalité a été évaluée par le test de Shapiro-Wilk. Les valeurs IC₅₀ ont été comparées à l'aide du t-test pour n = 3. La cinétique anti-inflammatoire *in vitro* a été comparée à l'aide de two-ways ANOVA avec les facteurs "échantillon" et "concentration" (n = 3), suivie d'un test de Bonferroni pour les comparaisons multiples lorsqu'elles étaient significatives. Les résultats du test d'immersion de la queue ont été analysés par two-ways ANOVA à mesures répétées (n = 6), suivi d'un test de comparaisons multiples de Bonferroni en cas de signification. Les résultats sont exprimés en moyennes ± SD. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives à $p \leq 0,05$.

III. RESULTATS

1. Activité antiinflammatoire *in-vitro*

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'HE et de l'hydrolat de *M. rotundifolia* a été évaluée à l'aide de protocoles de dénaturation des protéines induite par la chaleur et de stabilisation de la membrane HBRC. Les résultats ont montré que l'HE et l'hydrolat ainsi que le standard (diclofénac sodique) avaient des effets dépendants de la concentration (**figure 22, A et B**). Dans les deux tests, l'hydrolat avait un pouvoir inhibiteur plus élevé que l'huile essentielle à la plupart des doses testées ($p \leq 0,05$). Cependant, les valeurs de la IC₅₀ dans le test de dénaturation de l'albumine induite thermiquement étaient comparables ($p = 0,119$) (**tableau 6**). Il convient de noter que l'HE et l'hydrolat de *M. rotundifolia* ont montré une activité antiinflammatoire remarquable, même si le diclofénac sodique a eu un effet significativement plus élevé ($p \leq 0,05$).

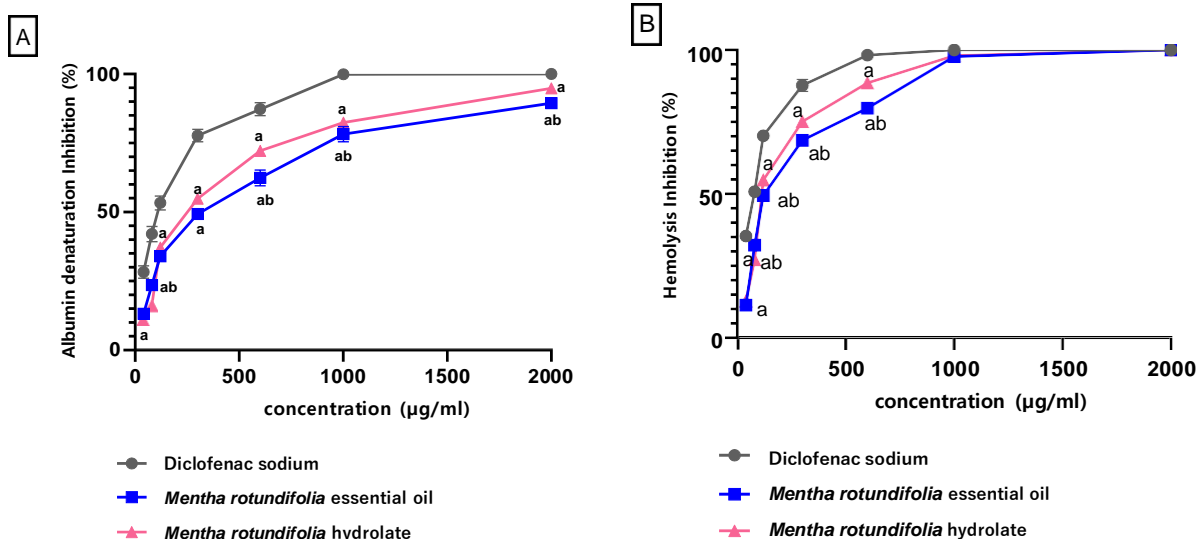


Figure 22 : Activité anti-inflammatoire in vitro de l'HE et de l'hydrolate de *M. rotundifolia*. (A) présente les effets inhibiteurs de l'HE et de l'hydrolate sur la dénaturation de l'albumine en comparaison avec le diclofénac sodique. (B) présente les effets inhibiteurs de l'HE et de l'hydrolate sur l'hémolyse. Les données ont été analysées à l'aide d'une ANOVA à deux voies suivie d'un test post-hoc de Bonferroni et ont été considérées comme statistiquement différentes pour $p \leq 0,05$. a par rapport à l'étalon. b par rapport à l'hydrolate. Les données sont présentées comme (moyenne \pm SD) pour $n = 3$.

Tableau 6 : Valeurs IC_{50} de l'huile essentielle et l'hydrolate de *M. rotundifolia* (L.) Huds. dans l'activité anti-inflammatoire in-vitro

IC_{50} values	Diclofénac sodique	Huile essentielle	Hydrolate
Dénaturation d'albumine ($\mu\text{g/ml}$)	101.27 ± 2.67	287.15 ± 1.38^a	246.3 ± 1.62^a
Hémolyse ($\mu\text{g/ml}$)	68.33 ± 1.83	145.5 ± 2.16^{ab}	129.8 ± 2.11^a

Les résultats sont présentés comme la moyenne \pm SD pour $n=3$. Le t-test a été utilisé pour comparer les valeurs. La différence a été considérée comme significative pour $p \leq 0,05$. (a) par rapport au standard, (b) par rapport à l'hydrolate.

2. Toxicité aigüe préliminaire

L'étude de toxicité a été menée afin de cibler les doses sûres pour les tests biologiques suivants. À cette fin, cinq doses (500, 750, 1000, 1500 et 2000 mg/kg) d'HE de *M. rotundifolia* ont été testées. Les animaux traités ont été observés pendant 48 heures. Les signes éventuels de toxicité et le nombre de mortalités ont été enregistrés (**tableau 7**). Les résultats montrent que les groupes traités avec 500 et 750 mg/kg d'HE n'ont présenté aucun symptôme de toxicité. Des signes d'hypoactivité ont été observés dans le groupe de 1000 mg/kg et sont devenus intenses dans les groupes ayant reçu les deux dernières doses (1500 et 2000 mg/kg). En outre, les animaux des deux derniers groupes ont eu une respiration irrégulière et n'ont pas pu rester éveillés. Les mortalités survenues à ces doses confirment leur toxicité considérable.

Tableau 7: Résultats de l'étude de la toxicité aiguë préliminaire

	Symptômes de toxicité			
	Hypoactivité	Somnolence	Respiration irrégulière	Mortalités
5%DMSO	-	-	-	0
500 mg/kg	-	-	-	0
750 mg/kg	-	-	-	0
1000 mg/kg	+	-	-	0
1500 mg/kg	++	+	+	2
2000 mg/kg	++	++	++	4

- : absent; + : present

3. Activité analgésique

3.1. Test des contorsions abdominales induites par l'acide acétique

Le test de contorsions abdominales induites par l'acide acétique a été utilisé pour évaluer l'effet analgésique périphérique de l'HE et de l'hydrolat de *M. rotundifolia*. Trois doses d'HE (250, 500 et 750 mg/kg) et d'hydrolat (2,5, 5 et 10 ml/kg) ont été testées. Le paracétamol a été administré au groupe témoin positif comme standard. La moyenne du nombre de contorsions pour chaque groupe est présentée dans le **tableau 8**. Les résultats montrent que l'HE et l'hydrolat diminuent significativement le nombre de contorsions par rapport au groupe témoin ($p \leq 0,05$). L'HE de *M. rotundifolia* aux trois doses testées et l'hydrolat à 5 et 10 ml/kg sont statistiquement comparables au paracétamol ($p > 0,05$). Ces résultats confirment l'effet intéressant de l'HE de *M. rotundifolia* et de l'hydrolat sur la douleur périphérique.

Tableau 8: Effet de l'HE et de l'hydrolat de *M. rotundifolia* et du paracétamol sur les douleurs abdominales provoquées par l'acide acétique

	Nombre de contorsions	% Inhibition
Contrôle négatif ^a	28 ± 2. 898	-
HE 250 mg/kg ^b	11.33±2.160 ^{ac}	59.53%
HE 500 mg/kg ^c	6.83±1.472 ^{ac}	75.6%
HE 750 mg/kg ^d	4.66±2.503 ^{ac}	83.3%
Hydrolat 2.5 ml/kg ^e	14 ±3.688 ^{agh}	50%
Hydrolat 5 ml/kg ^f	9.65 ± 1.033 ^{ad}	65.53%
Hydrolat 10ml/kg ^g	7.66 ± 2.805 ^a	72.6%
Paracetamol 10mg/kg ^h	7.83±1.169 ^a	72.03%

Les valeurs suivies par les différentes lettres (a, b, c, d, e, f, g, or h) sont significativement différentes $p \leq 0.05$.

3.2. Test de l'immersion de la queue dans l'eau chaude

Le test d'immersion de la queue dans l'eau chaude a été utilisé pour évaluer l'effet analgésique central de l'HE de *M. rotundifolia* et de l'hydrolat. Le temps de latence entre

l'immersion de la queue dans l'eau chaude (55°C) et son retrait a été enregistré (**tableau 9**). Aux concentrations les plus faibles, l'HE et l'hydrolat étaient comparables au contrôle négatif ($p > 0,05$). A 750 mg/kg d'HE, la PAS a atteint 70,09% 30 min après son administration et a ensuite diminué à 51,95% à 90 min. Alors qu'à la dose de 10 ml/kg d'hydrolat, le PAS est passé de 52,5 % à 30 minutes après l'administration à 62,6 % à 90 minutes. Ce résultat montre que l'HE et l'hydrolat n'ont pas la même cinétique comme le montre la **figure 23**. Les résultats montrent clairement l'effet antinociceptif intéressant de l'HE et de l'hydrolat de *M.rotundifolia*. Cependant, à 60 min, et même aux concentrations les plus élevées, l'hydrolat et l'HE ont une activité analgésique centrale modérée par rapport à la morphine ($p \leq 0,05$) où le PAS atteint 85,05%.

Tableau 9 : Effet analgésique de l'HE de *M. rotundifolia*, de l'hydrolat et de la morphine contre le réflexe de retrait de la queue induit par l'eau chaude

Traitement	Doses	Latence (min) :			
		0 min (SAP)	30 min (SAP)	60 min (SAP)	90 min (SAP)
Contrôle négatif ^a	-	2.55 ± 0,389 (-)	2.7 ± 0,319 ^{cd fgh} (-)	3.14 ± 0,613 ^{cd egh} (-)	3.31 ± 0,512 ^{cd fgh} (-)
Huile essentielle	250 mg/kg ^b	2.22 ± 0,425 (-)	4.0 ± 0.738 ^{cdh} (44.5%)	2.73 ± 0.610 ^{cdh} (18.6%)	2.73 ± 0.471 ^{cdh} (18.6%)
	500 mg/kg ^c	2.9 ± 0.327 (-)	7.031 ± 0.623 ^d (58.75%)	5.65 ± 0.710 ^h (48.67%)	4.91 ± 0.478 ^h (40.93%)
	750 mg/kg ^d	2.7±0.393 (-)	9.03±0.9 ^h (70.09%)	6.93±0.702 ^h (61.03%)	5.62±0.586 ^h (51.95)
Hydrolat	2.5 ml/kg ^e	2.25 ± 0.481 (-)	4,17 ± 0,624 ^{cdh} (46.04%)	5,73 ± 1,212 ^{bh} (60.7%)	5,30 ± 1,825 ^b (57.5%)
	5 ml/kg ^f	2.52± 0.504 (-)	5,31± 1,236 ^d (52.5%)	6,06 ± 1,146 ^{bh} (58,4%)	6,81 ± 0,992 ^b (62.9%)
	10ml/kg ^g	2.63± 0.379 (-)	5,52 ± 0,460 ^{bcdh} (52.3%)	6,60 ± 1,162 ^{bh} (60.01%)	8,14 ± 0,829 ^{bcd} (67.6%)
Morphine ^h	7.5 mg/kg	2,283 ± 0.373 (-)	6,6 ± 0,776 (65.45%)	14,13 ± 0,952 (85.06%)	9,96 ± 0,643 (77.1%)
Les valeurs suivies par les différentes lettres (a, b, c, d, e, f, g, or h) sont significativement différentes $p \leq 0.05$.					

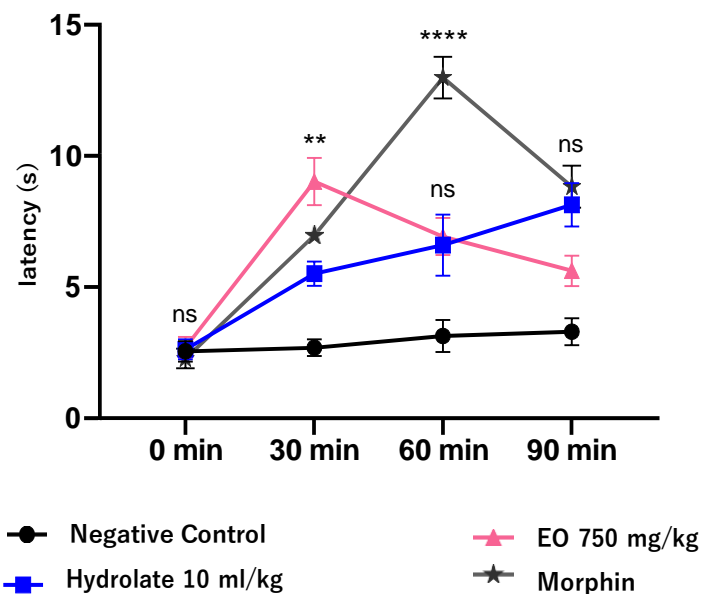


Figure 23: Cinétique de l'effet analgésique de l'huile essentielle de *M.rotundifolia* (750 mg/kg) et de l'hydrolat (10 ml/kg) en comparaison avec la morphine (7,5 mg/kg) dans le test d'immersion de la queue. Les données ont été analysées à l'aide de two ways ANOVA suivie d'un test post-hoc de Bonferroni. ns pour non significatif ($p > 0,05$), ** pour $p \leq 0,01$, **** pour $p \leq 0,0001$.

IV. DISCUSSION

Pour la première fois dans un travail de recherche scientifique, l'intérêt pour les hydrolats s'est étendu au-delà de leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, qui ont été largement reconnues comme utiles dans les industries alimentaires et cosmétique. L'intérêt de l'étude actuelle s'est orienté vers l'évaluation de leurs effets anti-inflammatoires et analgésiques, dans le but de démontrer leur potentiel en tant qu'agents pharmacologiques à part entière. Grâce à leur capacité à inhiber la dénaturation et l'hémolyse des protéines, l'HE et l'hydrolat de *Mentha rotundifolia* ont montré qu'ils avaient un effet anti-inflammatoire substantiel. La dénaturation des protéines et la perméabilité de la membrane lysosomale peuvent toutes deux contribuer à la neuropathie. L'accumulation anormale de protéines mal repliées altère le potentiel électrique de la membrane cellulaire, ce qui entraîne une diminution de la conductivité nerveuse (Lim et al., 2022). D'autre part, les troubles du stockage lysosomal sont généralement associés à la neuropathie. Lorsque les enzymes lysosomales sont déficientes ou s'échappent des lysosomes en raison de leurs membranes endommagées ou déstabilisées, il peut y avoir une accumulation de déchets dans les cellules nerveuses, ce qui entraîne des lésions nerveuses et des symptômes d'engourdissement, de picotement et de faiblesse (Coutinho et al., 2020). Ces résultats nous ont encouragés à mener des tests in-vivo pour confirmer l'effet analgésique de l'HE et de l'hydrolat de *M.rotundifolia* sur la douleur périphérique et centrale. Les résultats du test de contorsions induites par l'acide acétique ont montré que l'HE et l'hydrolat avaient un effet

comparable à celui du paracétamol à des doses élevées et moyennes. Dans le test de l'immersion de la queue dans de l'eau chaude, l'HE et l'hydrolat ont montré des effets modérés mais significatifs sur la douleur induite au niveau central par rapport à la morphine. La forte activité analgésique périphérique de l'HE peut être attribuée à la présence de l'oxyde de pipéridone, dont les propriétés antinociceptives ont été démontrées par le biais d'effets anti-inflammatoires indirects (Mogosan et al., 2017; Sousa et al., 2009). En tant que molécule hydrosoluble, l'oxyde de pipéridone est également susceptible d'être présent dans l'hydrolat, comme cela a été démontré dans la composition chimique de l'hydrolat de *M. suaveolens* (Zekri et al., 2014). Les résultats du test de l'immersion de la queue dans de l'eau chaude ont montré que les effets analgésiques de l'HE et de l'hydrolat n'avaient pas la même cinétique dans le temps. L'HE a eu son effet maximal 30 minutes après son administration, tandis que l'hydrolat a eu un effet progressif qui a atteint son maximum à 90 minutes. L'effet immédiat de l'HE peut être dû à sa teneur en bornéol, qui augmente la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et améliore l'administration de médicaments au niveau du système nerveux central comme il a été prouvé dans plusieurs études antérieures (Kulkarni et al., 2021; Zheng et al., 2018).

V. CONCLUSION

Dans cette étude, l'objectif était d'évaluer l'efficacité de l'HE et de l'hydrolat extraits de *M. rotundifolia* dans la gestion de la douleur neuropathique. Les résultats obtenus démontrent le potentiel de l'HE et de l'hydrolat de *M. rotundifolia* comme analgésiques en aromathérapie et comme candidats prometteurs pour le développement pharmaceutique. Ces résultats justifient une exploration plus approfondie de leurs propriétés pharmacologiques et de leurs mécanismes d'action.

CHAPITRE 3 : EFFET DE L'ADMINISTRATION CHRONIQUE DE L'HYDROLAT DE *MENTHA ROTUNDIFOLIA* (L.) HUDS SUR LA PREVENTION DES COMORBIDITES LIEES AU VIEILLISSEMENT

I. INTRODUCTION

Le vieillissement est un processus physiologique complexe qui affecte tous les organismes vivants, y compris les humains et les animaux. Il se caractérise par un déclin progressif des fonctions physiologiques, entraînant une susceptibilité accrue aux maladies liées à l'âge et, en fin de compte, à la mort (Khan et al., 2017). Le vieillissement est dû à une combinaison de facteurs génétiques, environnementaux et liés au mode de vie, notamment le stress oxydatif, l'inflammation, le raccourcissement des télomères, le dysfonctionnement des mitochondries et la sénescence cellulaire (Song et al., 2020). La théorie du stress oxydatif du vieillissement suggère que l'un des principaux moteurs du processus de vieillissement est l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules. Les ERO sont générés au cours du métabolisme cellulaire normal et peuvent endommager les structures cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN (Lin and Flint Beal, 2003). Au fil du temps, ces dommages s'accumulent et contribuent au développement de comorbidités liées à l'âge, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les troubles neurodégénératifs.

S'il est impossible d'empêcher le vieillissement, il est possible de ralentir le processus et de retarder l'apparition des maladies liées à l'âge (Poeggeler, 2005). Les plantes peuvent fournir une bonne quantité d'antioxydants, qui ont été démontré capables de réduire le risque de certaines comorbidités liées au vieillissement. Par exemple, les antioxydants peuvent contribuer à protéger la peau des dommages causés par le soleil et à réduire le risque de cancer de la peau. Ils peuvent également contribuer à prévenir le déclin cognitif et à réduire le risque de la maladie d'Alzheimer (Jurcau, 2021).

Les hydrolats de plantes contiennent une variété de composés bioactifs dont les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires ont été démontrées, mais en petites quantités, ce qui les rend faciles à métaboliser et adaptés pour une administration chronique (Jakubczyk et al., 2021; Nazlić et al., 2022). Dans ce contexte, nous avons choisi d'étudier l'effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur la prévention des comorbidités liées au vieillissement. 5% de l'hydrolat a été ajoutée à l'eau de boisson de rats *wistar* âgés de 18 mois pendant une durée de six mois. A la fin de traitement, les paramètres physiques, comportementales et biochimiques ont été analysées.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Groupes d'animaux et conception de l'étude

Des rats *Wistar* âgés de 18 mois et pesant 400-450 g ont été sélectionnés pour l'expérience suivante. Ils ont été élevés dans l'animalerie centrale de la Faculté des sciences de l'Université Mohammed V de Rabat, au Maroc, et ont été logés dans des cages en polyéthylène avec un accès libre à la nourriture et à l'eau dans une pièce à température contrôlée ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), sous un cycle lumière-obscurité de 12 heures. Les animaux ont été répartis au hasard en deux groupes de six rats chacun.

- Groupe 1 : Groupe témoin, a reçu de l'eau du robinet
- Groupe 2 : 5 % d'hydrolat de *M. rotundifolia* dans l'eau de boisson pendant six mois.

Avant l'administration des hydrolats, les tests comportementaux (champ ouvert, boîte sombre/lumière, rotarod et labyrinthe en Y) ont été effectués pour les deux groupes, puis le 8e jour, les hydrolats ont été ajoutés à l'eau de boisson des groupes 2 et 3 (**figure 24**). Après une période de traitement de six mois, nous avons évalué divers signes de vieillissement, y compris des indicateurs physiques, cognitifs et biochimiques

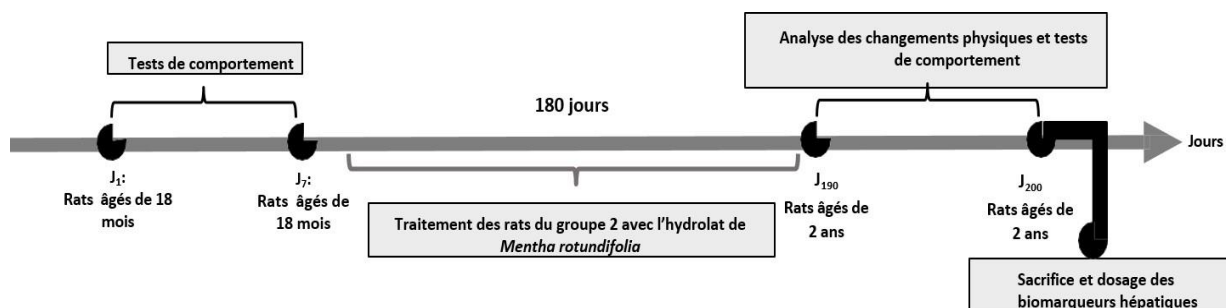


Figure 24: Schéma descriptif du déroulement de l'étude

2. Analyse des changements physiques

A l'âge de 2 ans, les changements physiques entre les animaux traités avec l'hydrolat de *Mentha rotundifolia* et les rats témoins ont été analysés. Un observateur non informé du protocole de l'étude a été chargé d'identifier les différences. Les rats, comme les autres animaux, présentent plusieurs signes de vieillissement au fur et à mesure qu'ils grandissent (Buffenstein, 2008). Parmi les signes physiques courants du vieillissement chez les rats, on peut citer les changements de posture, de fourrure et de masse musculaire. En vieillissant, les rats peuvent adopter une posture courbée ou voûtée en raison de la perte de masse et de force musculaires.

Cela peut également avoir un impact sur les muscles des paupières, entraînant une ptose. Leur fourrure peut devenir moins brillante et plus grossière en raison d'un manque de routine de toilettage lié au vieillissement. En outre, ils peuvent perdre leurs poils à certains endroits (Altun et al., 2007).

3. Tests de comportement

3.1. Test de l'Open Field

Le test en champ libre (OF) est une méthode largement utilisée pour mesurer le comportement exploratoire et l'activité locomotrice générale chez les souris et les rats, ainsi que pour évaluer les comportements liés à l'anxiété en surveillant la défécation et les zones visitées, comme l'ont noté Gould et al. (2009) ; Seibenhener and Wooten (2015). L'appareil d'OF utilisé dans cette étude consiste en un carré noir d'une surface de 80 cm² et d'une hauteur de 45 cm. Le sol du champ est divisé en 25 carrés de 15 cm × 15 cm chacun par des bandes blanches (figure 25). Le test est effectué dans une pièce faiblement éclairée et chaque animal est placé au centre du champ. Le champ est nettoyé après chaque test et chaque animal est autorisé à explorer le champ pendant 10 minutes. L'activité locomotrice est évaluée en mesurant la distance parcourue par l'animal (c'est-à-dire le nombre de carreaux traversés) et le nombre de redressements assis effectués. Le comportement lié à l'anxiété est évalué en calculant le nombre d'entrées dans la zone centrale de l'OF et la durée du temps passé dans cette zone.

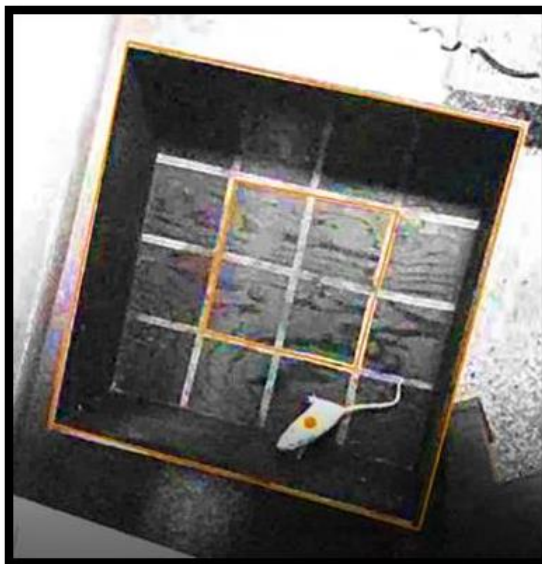


Figure 25 : Enceinte de l'Open Field

3.2. Test du Rotarod

L'évaluation de la coordination motrice chez les rongeurs est généralement réalisée à l'aide du test du rotarod, comme le rapportent (Shiotsuki et al., 2010). L'appareil de test consiste

en un cylindre rotatif en plastique, mesurant 7 cm de diamètre et 28 cm de longueur, fixé autour d'un axe horizontal surélevé de 30 cm et divisé en quatre compartiments d'une largeur de 9 cm chacun (Panlab, Harvard Apparatus) (**figure 26**). Le test se déroule dans une pièce isolée avec un éclairage normal et se compose de deux phases : une phase de pré-test, au cours de laquelle les animaux sont habitués à l'appareil, et une phase de test, au cours de laquelle les rats sont placés sur le cylindre rotatif à une vitesse fixe de 4 rotations par minute (rpm). Une fois l'animal stabilisé, la vitesse de rotation est progressivement augmentée jusqu'à atteindre une vitesse maximale de 40 tours par minute, qui est ensuite maintenue jusqu'à la fin du test. La durée du test est limitée à 180 secondes pour éviter les effets de fatigue ou de stress (Shiotsuki et al., 2010).



Figure 26: Appareil du Rotarod

3.3. Test de Dark/Light Box

Le test de la boîte sombre/lumineuse (DLB) est un protocole couramment utilisé pour mesurer le comportement anxieux chez les rongeurs. Il s'agit d'un appareil à deux chambres composé d'un petit compartiment sombre relié à un compartiment plus grand et bien éclairé par une ouverture (**figure 27**), que l'animal peut explorer librement (Serchov et al., 2016). Dans ce test, les animaux montrent généralement une aversion naturelle pour la zone très éclairée et préfèrent rester dans la chambre obscure. Le test est réalisé dans une pièce faiblement éclairée, l'animal est d'abord placé dans le compartiment sombre et on le laisse explorer les deux compartiments pendant 10 minutes. Le temps passé dans le compartiment lumineux et le nombre de passages entre les deux compartiments sont enregistrés pour mesurer le comportement anxieux.



Figure 27: Enceinte du Dark/Light Box

3.4. Test du Y-maze

Le test du labyrinthe en Y est une méthode fiable pour évaluer les mémoires de travail et de référence spatiales chez les rongeurs. Le labyrinthe en Y se compose d'un appareil noir en forme de Y dont les trois bras sont disposés à 120° l'un de l'autre (**figure 28**). Pour évaluer la mémoire de travail spatiale, l'alternance spontanée est calculée en enregistrant le nombre d'entrées dans les bras et d'entrées consécutives dans les trois bras. Le pourcentage d'alternance est déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ Alternance} = (\text{Nombre d'alternances} / [\text{Nombre total d'entrées dans les bras} - 2]) \times 100$$

(Kraeuter et al., 2019).

Pour évaluer la mémoire spatiale de référence, le test est organisé en deux phases : une session d'entraînement, au cours de laquelle un bras du labyrinthe en Y est fermé et désigné comme le nouveau bras, et une session de test, qui a lieu après un intervalle de temps d'une heure. Pendant la session de test, l'animal est replacé dans le labyrinthe en Y et doit se souvenir de l'emplacement du nouveau bras et s'y rendre plus fréquemment que dans les autres bras. Le nombre d'entrées dans le nouveau bras est comparé aux entrées dans les autres bras pour déterminer le degré de mémoire spatiale.



Figure 28: Enceinte du labyrinthe en Y (test Y-maze)

4. Test de l'immersion de la queue

Selon [Taiwe and Kuete \(2017\)](#), l'hyperalgésie se caractérise par une sensibilité accrue à la douleur induite par une stimulation nocive ou normalement non nocive des tissus périphériques. Le test d'immersion de la queue, décrit pour la première fois par [Janssen et al. \(1963\)](#), est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'hyperalgésie. Dans ce test, les animaux sont attachés et l'extrémité de leur queue est immergée dans un bain d'eau à une température de $50 \pm 0,5$ °C. Le réflexe de retrait de la queue, qui est médiocre, est alors déclenché. Le réflexe de retrait de la queue, qui est médié par des réflexes nociceptifs spinaux ([Bannon and Malmberg, 2007](#)), est déclenché en réponse au stimulus thermique, et la latence de ce réflexe est mesurée. Pour éviter toute lésion cutanée potentielle, chaque immersion est interrompue après 15 secondes.

5. Test d'acétone pour tester l'allodynie

Le test à l'acétone a été utilisé pour évaluer l'allodynie au froid ([Deuis et al., 2017](#)). Les rats ont été acclimatés pendant 30 minutes à l'environnement d'essai avant le test. Une goutte d'acétone a été appliquée sur la surface plantaire de chaque patte arrière à l'aide d'une pipette. Les rats ont ensuite été placés dans des chambres individuelles en plastique transparent et le temps passé à lécher, mordre ou soulever la patte a été enregistré pendant 2 minutes. La même procédure a été répétée 3 fois à 5 minutes d'intervalle et la moyenne des résultats a été calculée. Des tests de contrôle ont été effectués en utilisant une solution saline au lieu de l'acétone. Une

réduction du temps passé à lécher, mordre ou soulever la patte par rapport aux tests de contrôle peut indiquer une allodynie au froid.

6. Dosage des biomarqueurs hépatiques

Tous les animaux ont été sacrifiés par décapitation 24 heures après la fin du dernier test et après un jeûne d'une nuit. Des échantillons de sang ont été prélevés sur chaque animal et le sérum a été séparé pour une analyse plus approfondie des biomarqueurs hépatiques. Plus précisément, les taux sériques d'alanine transaminase (ALT), d'aspartate transaminase (AST), de bilirubine et de gamma-glutamyl-transférase (Gamma-GT) ont été mesurés à l'aide de méthodes standard afin d'évaluer la fonction hépatique.

7. Analyse statistique

Les données ont été analysées avec GraphPad Prism 8. La normalité a été évaluée par le test de Shapiro-Wilk. Les valeurs IC_{50} ont été comparées à l'aide du t-test pour $n = 3$. Les résultats ont été analysés par two-ways ANOVA à mesures répétées ($n = 6$), suivi d'un test de comparaisons multiples de Bonferroni en cas de signification. Les résultats sont exprimés en moyennes \pm SD. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives à $p \leq 0,05$.

III. RESULTATS

1. Analyse des changements physiques

Une analyse physique qualitative a été réalisée. Les signes apparents de vieillissement ont été évalués, notamment la posture, les muscles des paupières et les changements de fourrure. Les résultats sont présentés dans le **tableau 10**. Tous les groupes ont présenté une partie ou la totalité des signes de vieillissement (**figure 29**), car il s'agit d'un processus inévitable. Cependant, il y avait des différences substantielles entre le groupe de contrôle et le groupe traité par l'hydrolat de *M. rotundoifolia*.

Tableau 10 : Récapitulatif des signes de vieillissement apparus chez les animaux à l'âge de 2 ans

	Aspect de la fourrure			Posture voûtée	Ptosis
	Terne	Rude	Perte de poils		
Groupe 1	+++	+++	+++	++	++
Groupe 2	+	++	+++	+	-

+++ Présent chez tous les individus du groupe, ++ Présent chez la majorité/moitié des individus du groupe, + Présent chez la minorité des individus du groupe, - absent



Figure 29 : Deux rats de la même portée assignés à deux groupes différents. A) rat du groupe témoin (posture plus voûtée, fourrure jaunie et rugueuse, perte de poils dans certaines zones, des paupières relâchées), B) rat du groupe traité par l'hydrolat de *Mentha rotundifolia* (Moins de signes de vieillissement sauf pour la perte de poils)

2. Troubles comportementaux

2.1. Troubles de locomotion et de coordination motrice

L'effet du traitement avec l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur les déficiences de la locomotion et de la coordination motrices liées au vieillissement a été évalué par le test Open Field et le test du rotarod. Les rats des deux groupes ont été autorisés à explorer librement l'Open Field afin d'évaluer leur fonction locomotrice en calculant le nombre de carreaux traversés et de redressements sur les deux pattes (**figure 30, A et B**), puis leur coordination motrice a été évaluée par leur performance au rotarod (**figure 30, C**). Les données ont été analysées par two-ways ANOVA qui a révélé des interactions significatives entre le vieillissement et le traitement par hydrolat comme suit : (1) le nombre de carreaux traversés ($F(1, 20) = 13.39$; $p < 0.0016$ (**Figure 30, A**); (2) le nombre de redressements ($F(1, 20) = 7.797$; $p = 0.0105$ (**Figure 30, B**); et (3) le temps passé sur le rotarod ($F(1, 20) = 7.129$; $p = 0.0147$ (**Figure 30, C**). Le test de comparaisons multiples de Bonferroni a révélé que la locomotion et

la coordination motrice des animaux ont diminué de manière significative chez les rats âgés (groupes 24 mois) par rapport aux jeunes rats (18 mois) ($p \leq 0.05$). Cependant, Ces déficiences étaient significativement moins importantes chez les animaux traités par l'hydrolat de *M. rotundifolia* ($p \leq 0.05$).

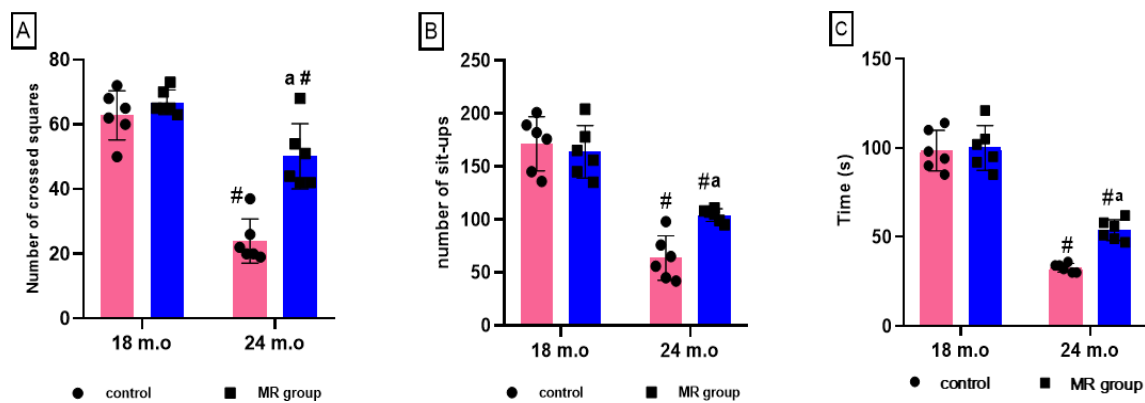


Figure 30 : Effet du vieillissement et du traitement avec l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur la locomotion et la coordination motrice. (A) représente le nombre de carreaux traversés dans le test de l'Open Field, (B) représente le nombre de redressements sur les pattes arrières dans le test de l'Open Field, et C représente le temps passé sur la tige du Rotarod. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

2.2. Symptômes de type anxieux

Les effets de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur les comportements de type anxieux chez les rats jeunes et âgés ont été évalués par les tests Open Field et Dark-Light Box pendant 10 minutes. Une analyse two-ways ANOVA a révélé une interaction significative entre le vieillissement et le traitement sur le nombre d'entrées dans la zone intérieure de l'OF (**figure 31, A**) et de transitions dans le DLB (**figure 31, B**) ($F(1, 20) = 4.617$; $p = 0.0441$; $F(1, 20) = 10.71$; $p = 0.0038$, respectivement). L'interaction entre le traitement et le vieillissement sur le temps passé dans la zone intérieure de l'OF (**figure 32, A**) et dans la chambre éclairée de DLB (**figure 32, B**) a également été significative ($F(1, 20) = 32.26$; $p < 0.0001$; $F(1, 20) = 25.34$; $p < 0.0001$, respectivement).

A 2 ans, les rats ont manifesté des comportements anxieux plus importants, traduits par la diminution de nombre d'entrées dans la zone centrale de l'OF et la chambre éclairée, ainsi que le temps passé dans ces zones ($p \leq 0.05$). Cependant, le traitement avec l'hydrolat de *M.*

rotundifolia a significativement prévenu l'expression de ces symptômes chez les rats traités ($p \leq 0.05$).

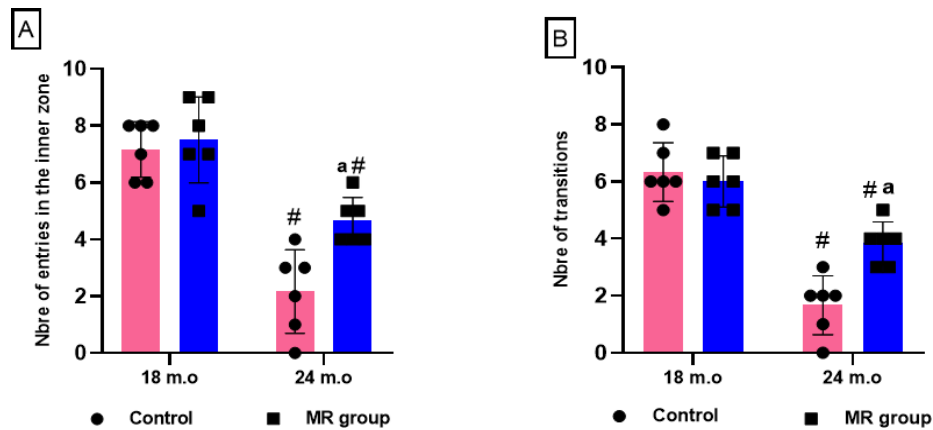


Figure 31 : L'hydrolat de *M. rotundifolia* prévient significativement l'effet du vieillissement sur le nombre d'entrées dans la zone centrale de l'Open Field (A) et dans la chambre éclairée du Dark/Light Box (B). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

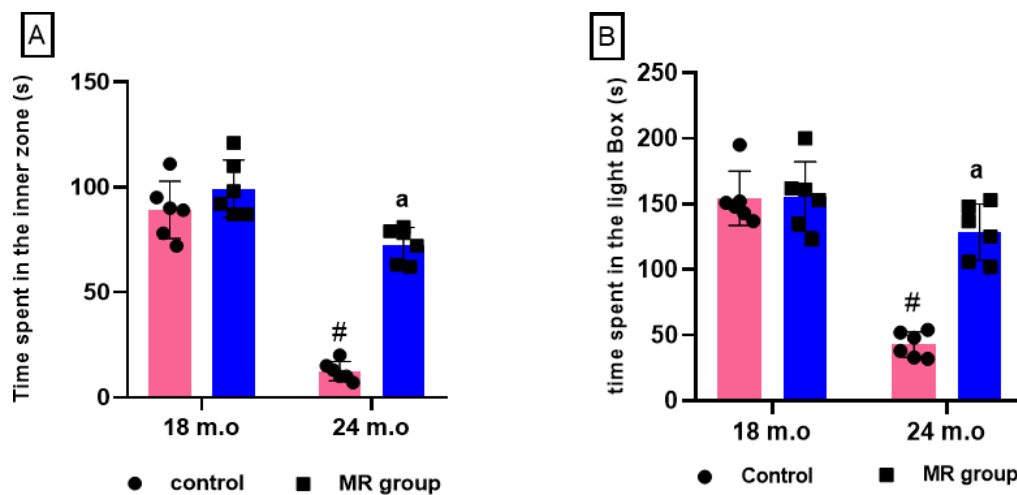


Figure 32 : L'hydrolat de *M. rotundifolia* prévient significativement l'effet du vieillissement sur le nombre le temps passé dans la zone centrale de l'Open Field (A) et dans la chambre éclairée du Dark/Light Box (B). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

2.3. Troubles cognitifs

2.3.1. Alternances spontanées

L'effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur l'alternance spontanée a été évalué par le test Y-maze (**figure 33, A et B**). Les résultats ont montré une interaction significative entre le traitement et le vieillissement sur le pourcentage d'alternance ($F(1, 20) = 32.52$; $p < 0.0001$) (**figure 33, B**). Ce dernier est significativement plus bas chez les vieux rats témoins. Cependant, le pourcentage d'alternance spontanée du groupe traité par l'hydrolat à l'âge de 2 ans est significativement plus élevé que les rats témoins âgés ($p \leq 0.05$).

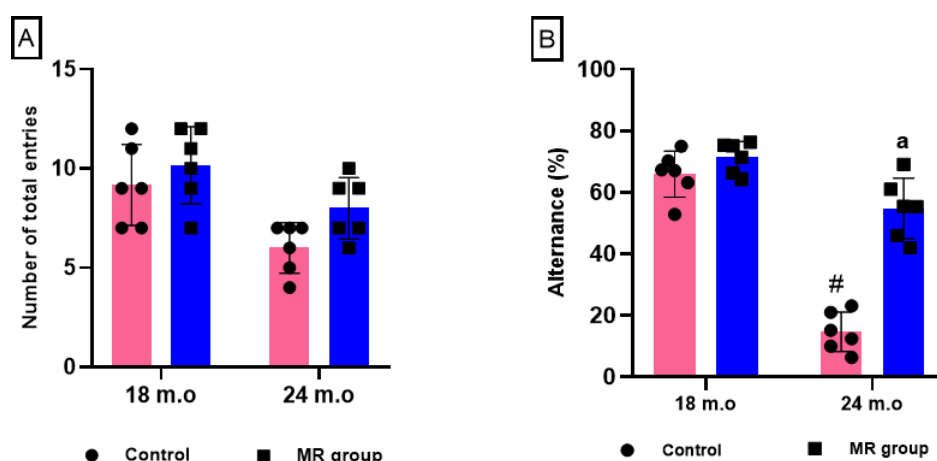


Figure 33 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur le nombre total d'entrées dans le test d'Y-maze. (A) et le pourcentage d'alternance spontanée (B). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

2.3.2. Mémoire de travail de référence

Les résultats de la mémoire de travail spatiale exprimés par le nombre d'entrées et le temps passé sur le nouveau bras dans le test Y-maze ont été analysés par two-ways ANOVA ont révélé des interactions significatives entre le vieillissement et le traitement ($F(1, 20) = 5.444$; $p = 0.0302$, (**figure 34, A**) et $F(1, 20) = 9.796$, $p = 0.0005$ (**figure 34, B**), respectivement). Le vieillissement altère la mémoire de travail spatiale des rats en diminuant de manière significative le nombre d'entrées et le temps passé dans le nouveau bras ($p < 0,0001$). Le traitement chronique par l'hydrolat de *M. rotundifolia* a permis une prévention significative de la détérioration de la mémoire de travail spatiale, comme le montre l'augmentation du nombre d'entrées et du temps passé dans le nouveau bras ($p \leq 0.05$).

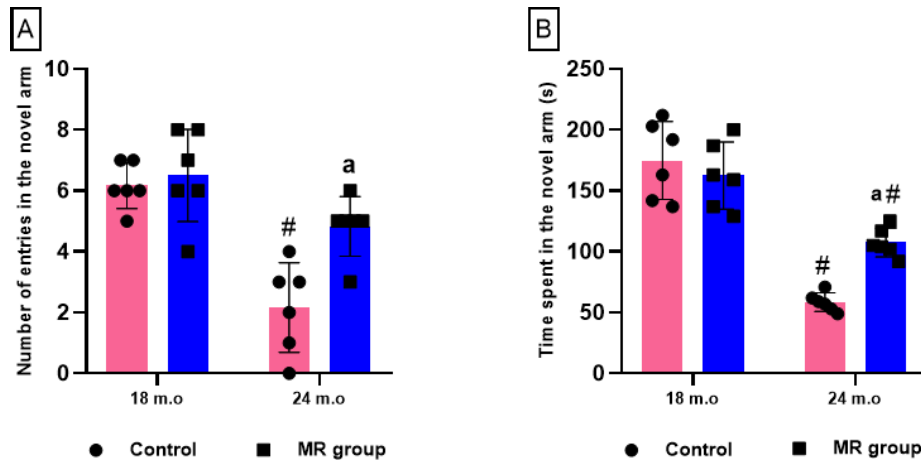


Figure 34 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur le nombre d'entrées dans le nouveau bras. (A) et le temps passé dans le nouveau bras (B). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

3. Hyperalgésie liée à l'âge

L'hyperalgésie a été évaluée par le test d'immersion de la queue dans l'eau chaude à $50 \pm 2^\circ\text{C}$. Les résultats (**figure 35**) montrent une interaction significative entre le traitement et le vieillissement $F(1, 20) = 104.8$; $p < 0.0001$. A deux ans, les rats du groupe témoin ont développé une hyperalgésie qui s'est manifestée par une diminution significative ($p < 0.0001$) de la latence de retrait de la queue de l'eau chaude. Cet effet a été inversé chez le groupe traité par l'hydrolat de *M. rotundifolia*, qui a montré une augmentation remarquable ($p < 0.0001$) dans la latence du retrait de la queue de l'eau chaude ce qui confirme son effet analgésique.

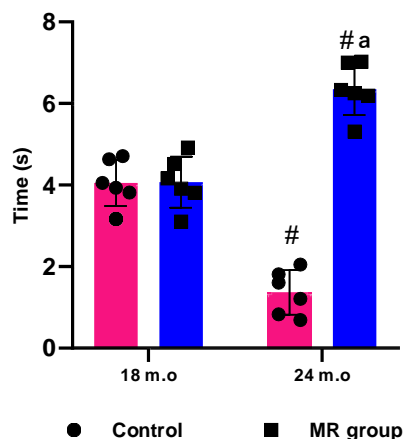


Figure 35 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur l'hyperalgésie liée au vieillissement. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois.

4. Allodynie liée à l'âge

Le test à l'acétone a été utilisé pour évaluer l'allodynie au froid. Les rats ont ensuite été placés dans des chambres individuelles en plastique transparent et le temps passé à lécher, mordre ou soulever la patte a été enregistré pendant 2 minutes. Les résultats ont montré une interaction significative entre le traitement et le vieillissement $F(1, 20) = 398.5$; $p < 0.0001$ avec un effet significatif des deux facteurs (**figure 36**). A deux ans, la durée des comportements manifestant l'inconfort des animaux suite à l'exposition à l'acétone a été significativement plus longue $p \leq 0.05$. Cependant, par rapport aux rats témoins, la durée d'inconfort a été remarquablement réduite chez le groupe traité par l'hydrolat de *M. rotundifolia* $p \leq 0.05$.

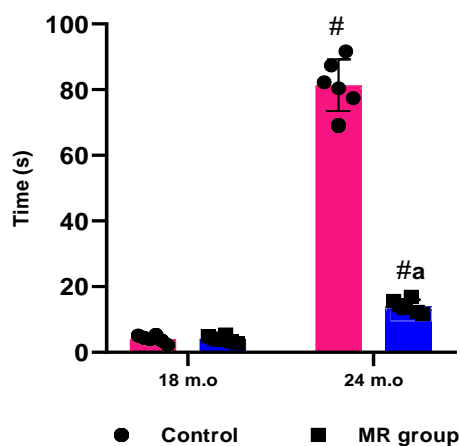


Figure 36 : Effet de l'administration chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* sur l'allodynie liée au vieillissement. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD, la différence est significative pour $p \leq 0.05$. (#) Vs 18 mois et (a) Vs le contrôle à 24 mois

5. Concentrations des biomarqueurs hépatiques

Les enzymes hépatiques ont été dosées comme le montre le **tableau 11**. Les rats témoins âgés de 2 ans ont des taux d'ALAT, ASAT, et Gamma-gt significativement plus élevés que les rats traités avec l'hydrolat de *M. rotundifolia* ($p \leq 0.05$). Les taux de bilirubine étaient statistiquement comparables entre les deux groupes ($p = 0,0943$).

Tableau 11: Concentrations des marqueurs hépatiques

	ALAT	ASAT	Gamma-GT	Bilirubine
	UI/L			
Témoin	114.76 ± 23.15	86.35 ± 12.85	10.22 ± 2.34	1.72±0.5
Groupe traité	42.18 ± 2.81 ^a	28.19 ± 3.61 ^a	0.81 ± 0.36 ^a	1.24±0.18
	(a) significativement différent du 'Témoin' ($p \leq 0.05$)			

DISCUSSION

Principalement composés d'eau et très allégés en principes actifs, les hydrolats de plantes sont de parfaits candidats pour une administration chronique. Dans cette étude, l'intérêt a été porté sur l'hydrolat de *M. rotundifolia*. Précédemment, nous avons montré que ce dernier a une activité antioxydante intéressante, ce qui nous a encouragés de le tester comme une solution à long terme pour la prévention des comorbidités liées au vieillissement. Le modèle animal et la conception de l'étude ont été soigneusement choisis pour représenter le processus du vieillissement humain. D'une part, les rats de laboratoire peuvent refléter la sédentarité et le mode alimentaire déséquilibré basé sur des aliments transformés de la plupart des individus dans le monde actuel. D'autre part, une journée dans la vie d'un rat est égale à approximativement 34.8 jours dans la vie d'un humain (Sengupta, 2013). Donc, un suivi de six mois des animaux âgés de 18 mois, est plus ou moins similaire à un suivi de vingt ans d'un individu âgé de 50 ans, jusqu'à l'âge de 70 ans.

Le vieillissement est un processus inévitable, et le but de cette étude n'était pas de le stopper mais d'atténuer et ralentir la survenue des complications qui lui sont liés. Tous les animaux à l'âge de 2 ans ont montré des signes de vieillesse. Cependant, leur gravité et leur importance n'étaient pas les mêmes chez les deux groupes. Que ce soit au niveau physique, comportemental ou biochimique, le groupe traité par 5% de l'hydrolat de *M. rotundifolia* était biologiquement plus jeune.

Les rats âgés ont montré une déficience importante de motricité évaluée par les tests Open Field et rotarod. En effet, avec l'âge, la perte de masse musculaire, connue sous le nom de

sarcopénie, peut conduire à des muscles plus faibles, ce qui peut rendre plus difficile le mouvement et l'exécution de tâches physiques (Volpi et al., 2004). Plusieurs études ont lié le stress oxydatif à la sarcopénie, démontrant qu'il augmentait la protéolyse et/ou réduisait la synthèse des protéines (Meng and Yu, 2010). Les rats âgés ont également manifesté plus de comportements anxieux évalués par les tests Open Field et Dark/light Box. Il a été prouvé que des niveaux élevés de stress oxydatif et la réduction de la taille des télomères étaient associés aux troubles anxieux, deux conditions qui caractérisent le vieillissement (Bouayed et al., 2009; Perna et al., 2016). En fin, les rats âgés ont présenté des déficiences cognitives liées à l'alternance spontanée et la mémoire spatiale de travail évaluées par le test Y-maze. Effectivement, la capacité d'apprentissage diminue progressivement au cours du vieillissement en raison de l'exposition chronique au stress oxydatif (Klencklen et al., 2017). Il a été démontré que la diminution de la capacité de rétention de la mémoire était due à l'apoptose de type retardée induite par le stress oxydatif et observée dans la région hippocampique CA1 (Kandlur et al., 2020).

L'administration chronique de l'hydrolat de *M.rotundifolia* a agi comme une source d'antioxydants qui a pu prévenir les troubles de comportements lié au vieillissement. En plus, il contient également des traces de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* qui a été démontré capable d'améliorer la mémoire de travail (Raya et al., 1990), et a été étudiée pour ses effets anxiolytiques (Motti and de Falco, 2021).

Les rats âgés ont présenté une sensibilité accrue à la douleur qui a été évaluée par le test d'immersion de la queue dans l'eau chaude et l'exposition à l'acétone. Ces effets ont été totalement inversés dans le groupe traité par l'hydrolat de *M. rotundifolia*. Ces résultats ont été attendus vu qu'on a montré précédemment que l'hydrolat a une activité antiinflammatoire et analgésique importantes.

Le vieillissement et le stress oxydatif ont également été associés à des taux élevés d'enzymes hépatiques, notamment ALT, AST et Gamma-GT (Le Couteur et al., 2010). Il a même été démontré que le vieillissement est un facteur favorisant de la stéatose hépatique non-alcoolique (Lin et al., 2022). Ces données concordent avec nos résultats qui ont montré que les rats âgés du groupe témoin avaient des taux d'enzymes hépatiques très élevés par rapport aux rats traités avec l'hydrolat de *M. rotundifolia*. Encore une fois, grâce à son activité antioxydante, et sa composition aromatique aux propriétés antiinflammatoires, l'hydrolat a pu prévenir l'accumulation des toxines dans le foie dont la fonction décline progressivement avec l'âge suite à la baisse des antioxydants endogènes dont le glutathion (Sekhar et al., 2011).

CONCLUSION

Cette étude a été basée sur la théorie du vieillissement par le stress oxydatif qui postule que les réductions des fonctions physiologiques associées à l'âge sont causées par une accumulation lente et régulière de dommages oxydatifs aux macromolécules. Le foie est l'organe responsable de la détoxification de l'organisme, et grâce à l'administration chronique de l'hydrolat de *Mentha rotundifolia*, son aptitude à métaboliser et éliminer les toxines a été protégée ce qui a permis de prévenir les complications liées au vieillissement. Les résultats de cette étude sont très prometteurs pour élargir l'axe de recherche sur les mécanismes derrière les effets pharmacologiques de l'hydrolat de *M. rotundifolia* et sur le développement d'un nouvel agent anti-âge.

CHAPITRE 4 : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE *IN-VIVO* DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *MENTHA ROTUNDIFOLIA* (L.) HUDS. CONTRE LE STRESS OXYDATIF ET LA NEUROTOXICITE INDUITE PAR H₂O₂

I. INTRODUCTION

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est une espèce réactive de l'oxygène (ROS) générée par diverses sources de stress oxydatif, y compris les processus métaboliques normaux, l'exposition aux toxines environnementales et les réponses inflammatoires (Apel and Hirt, 2004). Bien qu'il joue un rôle essentiel dans la signalisation cellulaire, des niveaux excessifs de H₂O₂ peuvent entraîner des dommages oxydatifs et contribuer au développement de nombreuses maladies, notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs (Phaniendra et al., 2015).

H₂O₂ peut se diffuser librement à travers les membranes cellulaires et interagir avec d'importantes classes de macromolécules biologiques, notamment les lipides, les protéines et les acides nucléiques, provoquant ainsi des dommages oxydatifs (Fatma et al., 2018). Ces dommages peuvent perturber des processus cellulaires essentiels, entraînant le dysfonctionnement et la mort des cellules. Pour contrer les effets nocifs du H₂O₂, les cellules ont développé des systèmes de défense antioxydants, comprenant des enzymes telles que SOD, la CAT et la glutathion Gpx (Valko et al., 2007). Toutefois, en cas de stress oxydatif intense ou prolongé, les cellules peuvent être débordées et leurs défenses antioxydantes peuvent échouer. Il peut en résulter de graves dommages oxydatifs, entraînant la mort des cellules et des lésions tissulaires.

Le cerveau est particulièrement sensible au stress oxydatif en raison de sa forte consommation d'oxygène et de ses faibles niveaux d'enzymes antioxydantes par rapport à d'autres tissus (Torres-Cuevas et al., 2019). Des études ont montré que le H₂O₂ peut induire des dommages oxydatifs qui peuvent entraîner un dysfonctionnement neuronal, une inflammation et la mort cellulaire, contribuant ainsi au développement de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. En outre, la neurotoxicité induite par H₂O₂ a été liée à l'activation de diverses voies de signalisation susceptibles d'exacerber la réponse au stress oxydatif, telles que la voie de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) et la voie du facteur nucléaire kappa B (NF-κB) (Behl et al., 2021). Dans ce contexte, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *M. rotundifolia* contre le stress oxydatif et la neurotoxicité induites par H₂O₂ chez les rats *wistar*.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Animaux et conception de l'étude

Les expériences ont été réalisées sur 48 rats Wistar mâles pesant de 180 à 200 g. Ils ont été logés au hasard dans des cages en polyéthylène avec libre accès à la nourriture et à l'eau dans une pièce à température contrôlée ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) et sous un cycle lumière-obscurité de 12 heures. Toutes les procédures animales ont été menées conformément aux lignes directrices de la directive du Conseil européen (EU2010/63).

- Groupe 1 et 2 : 1 ml de NaCl par voie intrapéritonéale (i.p.) pendant 21 jours.
- Groupes 3 et 4 : 250 mg/kg de *M. rotundifolia* par voie i.p. pendant 21 jours.
- Groupes 5 et 6 : 125 mg/kg d'extrait de *M. rotundifolia* par voie i.p. pendant 21 jours.
- Groupe 7 et 8 : 62,5 mg/kg d'extrait de *M. rotundifolia* par voie intraveineuse pendant 21 jours.

Les animaux ont reçu leur traitement respectif (NaCl ou extrait de plante) pendant toute la première semaine. Au 8^{ème} jour, l'eau de boisson des groupes 2, 4, 6 et 8 a été complétée, comme décrit dans **la figure 37**, avec 2% de H_2O_2 pendant les 15 jours restants du traitement. Pendant la période de traitement, les animaux ont été pesés tous les cinq jours.

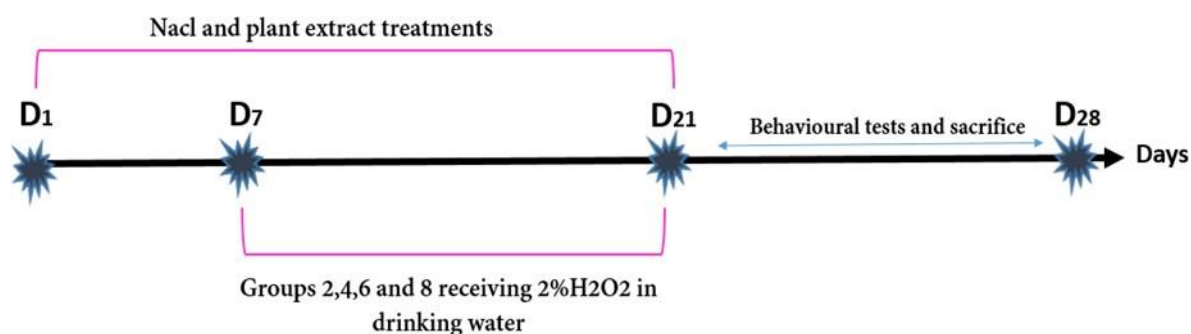


Figure 37 : Schéma descriptif du déroulement de l'étude

2. Tests de comportement

Le test Open Field a été utilisé pour évaluer la locomotion et les symptômes de type anxieux. Le test Rotarod a été utilisé pour évaluer la coordination motrice, le test Y-maze a été

utilisé pour évaluer les aptitudes cognitives, et l'hyperalgésie a été évaluée par le test de l'immersion de la queue dans de l'eau chaude (**voir chapitre 3 pour les protocoles en détails**).

3. Sacrifice et dosage des biomarqueurs hépatiques

Tous les animaux ont été sacrifiés par décapitation 24 heures après le dernier test et le jeûne de la nuit. Des échantillons de sang ont été prélevés ; le sérum a été séparé pour le dosage des biomarqueurs hépatiques. Les taux sériques d'ALAT, d'ASAT et de bilirubine totale ont été évalués selon les méthodes standards.

4. Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide de GraphPad Prism 8. La normalité a été évaluée par le test de Shapiro-Wilk. Les données ont été analysées à l'aide d'une two-ways ANOVA en considérant le traitement et l'exposition au H₂O₂ comme facteurs de variation. Le test de Bonferroni pour les comparaisons multiples a été utilisé lorsqu'il y avait une signification. Les résultats sont exprimés en moyennes \pm SD (n=6). Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives à $p \leq 0,05$.

RESULTATS

1. Suivi des poids des animaux

Les animaux ont été pesés tous les cinq jours pendant la période d'essai afin de mettre en évidence l'effet du stress oxydatif sur le poids corporel et d'évaluer l'effet protecteur potentiel de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* contre la toxicité de l'H₂O₂. Le test de mesures répétées two-ways ANOVA a révélé une interaction significative entre le temps et le traitement ($F(28, 160) = 54.65 ; p < 0,0001$) (**figure 38, A**). L'analyse post-hoc a montré que les groupes traités à l'eau du robinet (1, 3, 5, 7) présentaient une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de la masse corporelle pendant toute la durée de l'essai. Cependant, dans les groupes soumis au stress oxydatif, seul le groupe traité par *M. rotundifolia* 250 mg/kg a eu une cinétique d'augmentation significative du poids corporel ($p \leq 0,05$), alors que le groupe traité par *M. rotundifolia* à 125 mg/kg a gardé un poids stable ($p = 0,58$) à partir du 10^{ème} jour de traitement, et que les groupes 2 et 4 ont eu une perte significative du poids corporel ($p \leq 0,05$) à partir du 15^{ème} jour de traitement. En ce qui concerne l'évaluation de la prise du poids pendant la période de test (**Figure 38, B**), Two-ways ANOVA a montré une interaction significative entre le traitement et l'exposition au H₂O₂ ($F(3, 40) = 81.61, p < 0,0001$). La comparaison a été faite entre les groupes "H₂O₂" et "Eau du robinet" recevant le même traitement. L'analyse post-hoc a montré

une diminution significative de la prise de poids dans les groupes 2, 4 et 6 soumis au stress oxydatif ($p \leq 0.05$). Seul le groupe traité à 250 mg/kg de *M. rotundifolia* ne semble pas affecté par la toxicité de l' H_2O_2 ($p = 0.37$).

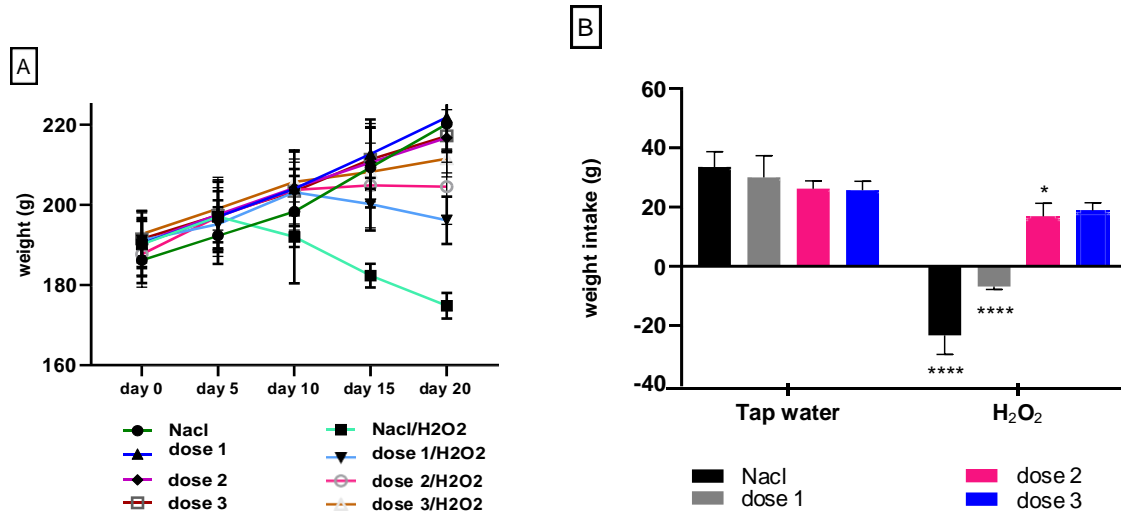


Figure 38 : La variation de poids corporel des animaux pendant la période de test. (A) présente la cinétique du poids moyen des différents groupes d'animaux pesés tous les cinq jours de la période de traitement. (B) présente l'apport moyen en poids corporel de tous les groupes d'animaux entre le premier et le dernier jour de traitement. Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm SD ($n = 6$). Les données ont été analysées par two-ways ANOVA suivi d'un test post-hoc de Bonferroni ; * $p \leq 0.05$, **** $p \leq 0.0001$ comparé à tous les groupes d'animaux "eau du robinet" recevant le même traitement.

2. Tests de comportement

2.1. Open Field

2.1.1. Locomotion

La locomotion des animaux a été évaluée à l'aide du test OF. Pour cela, la distance totale parcourue par l'animal et le nombre de redressements (quand l'animal se tient sur ses deux pattes arrières) ont été calculés. Two-ways ANOVA a révélé un effet significatif du traitement et de l'exposition à H_2O_2 , avec une interaction significative entre ces deux facteurs ($F(3,40) = 10.69$, $p < 0.0001$) sur la distance parcourue par les animaux (**Figure 39, A**). Le test post-hoc a montré une augmentation significative du nombre de carrés traversés dans les groupes traités avec la plante ($p \leq 0.05$) dans des conditions normales (eau du robinet), tandis que dans les groupes soumis au stress oxydatif, seuls les groupes traités à 125 mg/kg et 62.5 mg/kg ont parcouru une distance significativement plus élevée. La dose de 125 mg/kg semblait être la plus efficace car il n'y avait pas de différence significative par rapport au groupe recevant le même traitement dans des conditions normales ($p > 0.99$). Quant au nombre de redressements, Two-ways ANOVA a montré un effet significatif du traitement ($F(1,40) = 94.45$, $p < 0.0001$) et de

l'exposition à H₂O₂ ($F(3,40) = 32.35, p < 0.0001$) sur le nombre de fois où les animaux se sont tenus sur leurs pattes arrière, mais il n'y avait pas d'interaction significative entre ces deux facteurs (**Figure 39, B**). Le test post-hoc indique une augmentation significative du nombre de redressements dans les groupes traités avec la plante indépendamment du stress oxydatif ($p \leq 0.05$).

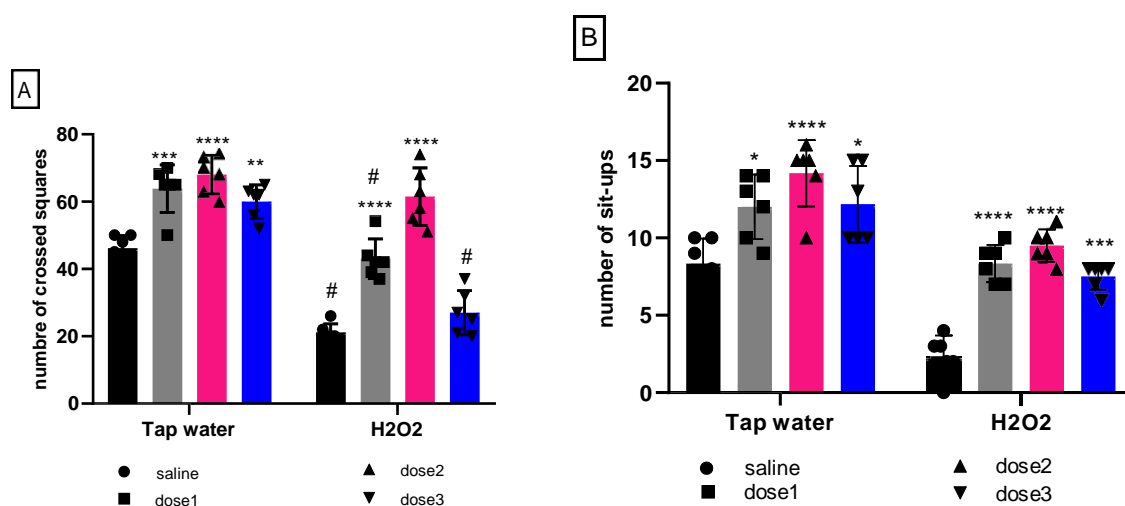


Figure 39: Effet de l'interaction entre le traitement de la plante et l'exposition à H₂O₂ sur la locomotion évaluée par le test Open Field. (A) présente la distance parcourue par les animaux définie par le nombre de carreaux traversés. (B) présente le nombre de redressements effectués par les animaux. Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm SD (n=6). Les données ont été analysées par Two-ways ANOVA suivie d'un test post-hoc de Bonferroni ; * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$ comparé aux groupes salins. (#) Comparé aux groupes d'animaux dans les conditions normales recevant le même traitement.

2.1.2. Symptômes de type anxieux

Le comportement de type anxieux des animaux a été évalué à l'aide du test Open Field. Ainsi, le nombre d'entrées et le temps passé dans la zone intérieure ont été calculés. L'analyse Two-ways ANOVA a révélé un effet significatif du traitement et de l'exposition à H₂O₂, avec une interaction significative entre ces deux facteurs ($F(3, 40) = 4.683, p = 0.0068$) sur le nombre d'entrées dans la zone intérieure de l'OF (**Figure 40, A**). Le test post-hoc n'a montré aucune différence significative dans les groupes recevant de l'eau du robinet ($p > 0.99$). Cependant, les rats soumis au stress oxydatif avaient significativement un nombre réduit d'entrées dans la zone intérieure de tous les groupes ($p \leq 0.05$), même si le groupe traité avec 125 mg/kg de *M. rotundifolia* avait significativement plus d'entrées ($p \leq 0.05$). En ce qui concerne le temps passé dans la zone intérieure, Two-ways ANOVA a indiqué une interaction significative entre le traitement et l'exposition à H₂O₂ ($F(3, 40) = 3.924, p = 0.0151$) (**Figure 40, B**). Le test post-hoc a montré que le temps passé dans la zone intérieure était significativement réduit dans les

groupes soumis à un stress oxydatif ($p \leq 0.05$). Cependant, les groupes traités avec 125 et 250 mg/kg de *M. rotundifolia* ont passé significativement plus de temps dans la zone intérieure ($p \leq 0.05$).

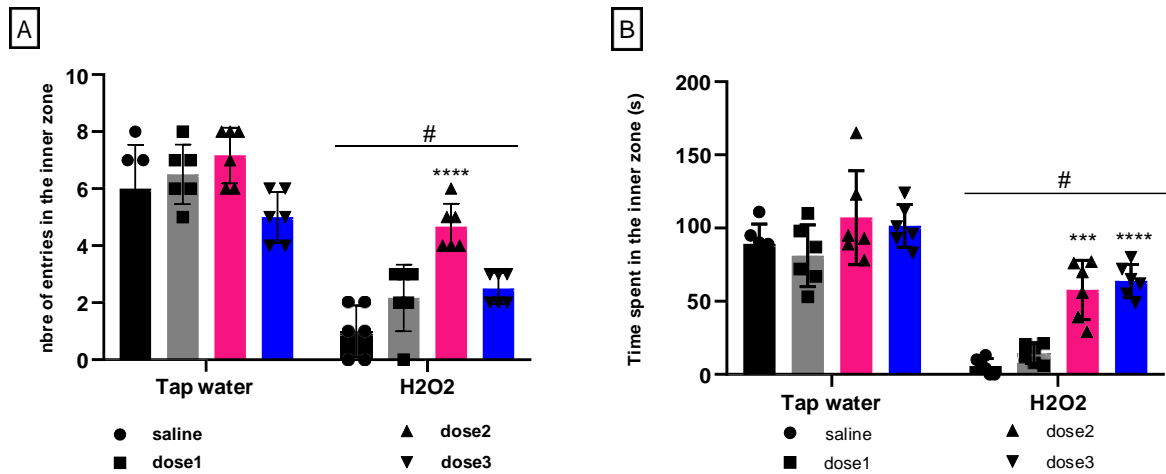


Figure 40 : Effet de l'interaction entre le traitement par la plante et l'exposition à H₂O₂ sur les symptômes de type anxieux évalués par le test Open Field. (A) présente le nombre d'entrées dans la zone intérieure de l'OF. (B) présente le temps passé dans la zone intérieure. Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm SD (n=6). Les données ont été analysées par Two-ways ANOVA suivie d'un test post-hoc de Bonferroni ; * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$ comparé aux groupes salins. (#) comparé aux groupes d'animaux dans les conditions normales recevant le même traitement.

2.2. Rotarod

L'effet protecteur de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* contre le stress oxydatif causant une altération de la coordination motrice a été évalué en utilisant le test du rotarod. Le temps passé sur le cylindre rotatif a été calculé. L'analyse de variance à deux facteurs a révélé un effet significatif du traitement et de l'exposition à H₂O₂, avec une interaction significative entre ces deux facteurs ($F(3, 40) = 4.416, p = 0.009$). Le test post-hoc a montré que le stress oxydatif diminuait significativement la coordination motrice des groupes H₂O₂ ($p \leq 0,05$). Cependant, les groupes traités avec 62,5 et 125 mg/kg de *M. rotundifolia* ont passé significativement plus de temps sur le cylindre que les autres groupes ($p \leq 0.05$) (**figure 41**).

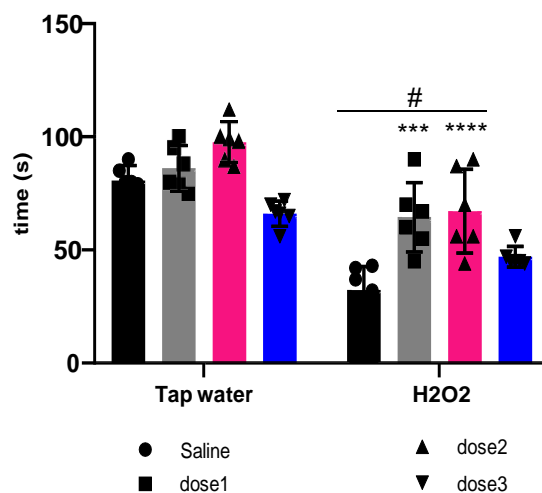


Figure 41 : Effet de l'interaction entre le traitement à base de plantes et l'exposition à H₂O₂ sur la coordination motrice évaluée par le test du rotarod. Le temps passé sur le cylindre a été calculé. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SD (n=6). Les données ont été analysées par Two-ways ANOVA suivie du test post-hoc de Bonferroni ; *** $p \leq 0.001$ **** $p \leq 0.0001$ comparé aux groupes de solution saline. (#) Comparé aux groupes d'animaux dans les conditions normales recevant le même traitement.

2.3.Y-maze

Le test Y-maze a été utilisé pour évaluer l'effet du stress oxydatif sur la mémoire à court terme et l'effet protecteur potentiel de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* contre l'altération de la mémoire. La mémoire spatiale de travail a été évaluée par la mesure de l'alternance spontanée (**Figure 42, A**). Two-ways a révélé un effet significatif de l'exposition à H₂O₂ ($F(1, 40) = 12.49$, $p = 0.0011$) et du traitement ($F(3, 40) = 3.364$, $p = 0.0279$) sur le pourcentage d'alternance sans interaction significative entre ces deux facteurs. Le test post-hoc a montré une alternance significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans le groupe traité avec 125 mg/kg de *M. rotundifolia* soumis à un stress oxydatif. La mémoire spatiale de référence a été évaluée en calculant le nombre d'entrées dans les différents bras du labyrinthe. Seul le nombre d'entrées dans le bras nouveau a été présenté (**Figure 42, B**). L'analyse de variance à deux facteurs a montré un effet significatif de l'exposition à H₂O₂ ($F(1, 40) = 108.8$, $p < 0.0001$) et du traitement ($F(3, 40) = 9.065$, $p = 0.0001$) sur le nombre d'entrées, sans interaction significative entre ces deux facteurs. Le test post-hoc a mis en évidence une augmentation significative du nombre d'entrées dans le bras nouveau ($p \leq 0.05$) dans le groupe traité avec 125 mg/kg de *M. rotundifolia* soumis à un traitement H₂O₂.

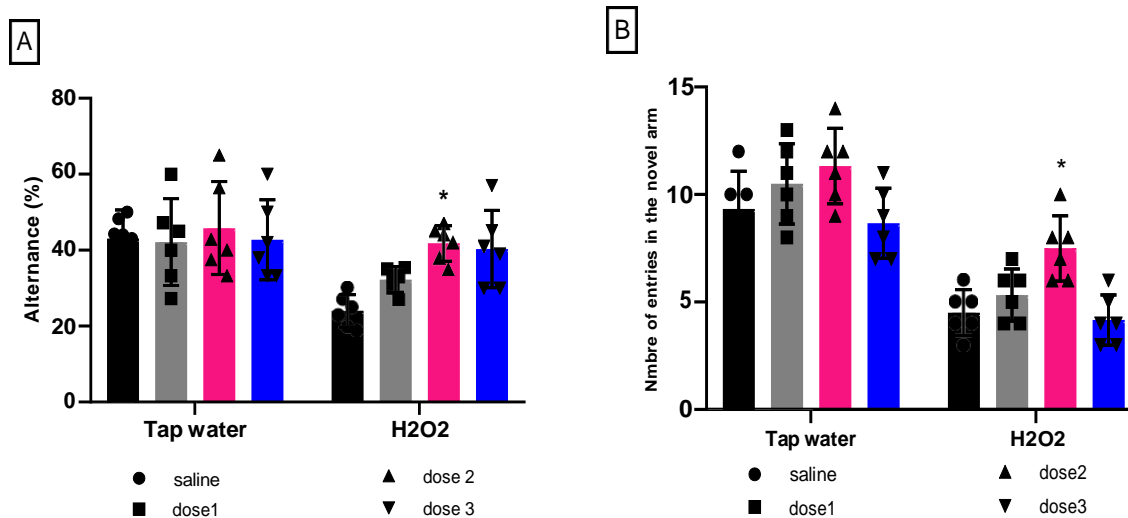


Figure 42 : Effet de l'interaction entre le traitement des plantes et l'exposition au H₂O₂ sur la mémoire à court terme évaluée par le test du labyrinthe en Y. (A) présente le % d'alternance comme indicateur de la mémoire de travail spatiale. (A) présente le % d'alternance comme indicateur de la mémoire de travail spatiale. (B) présente le nombre d'entrées dans le nouveau bras comme indicateur de la mémoire de référence spatiale. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SD (n=6). Les données ont été analysées par Two-ways ANOVA suivi du test post-hoc de Bonferroni ; * $p \leq 0.05$ par rapport aux groupes salins.

2.4. Test d'immersion de la queue

Le test d'immersion de la queue a été utilisé pour évaluer l'effet de l'exposition à H₂O₂ et du traitement par l'extrait de la plante sur la perception de la douleur. L'analyse Two-ways ANOVA a révélé un effet significatif de l'exposition à H₂O₂ ($F(1, 40) = 110.6, p < 0.0001$) et du traitement ($F(3, 40) = 141.3, p < 0.0001$) sur la latence du réflexe de retrait de la queue, sans interaction significative entre ces facteurs (**Figure 43**). Le test post-hoc a montré que les groupes traités avec 125 et 250 mg / kg de *M. rotundifolia* présentaient un temps de latence significativement plus élevé ($p \leq 0.05$), indépendamment du stress oxydatif, ce qui démontre l'effet analgésique de l'extrait aqueux *M. rotundifolia*.

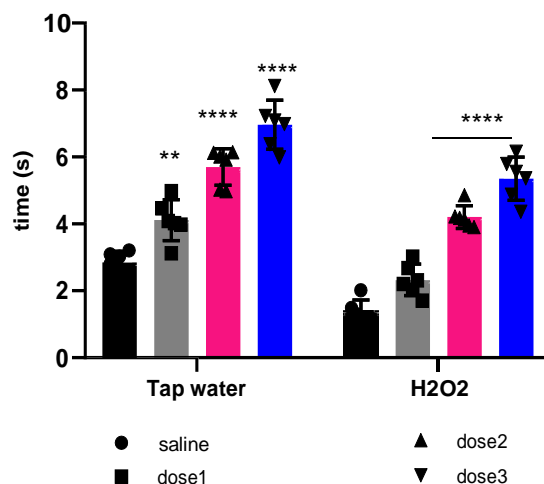


Figure 43 : Effet de l'interaction entre le traitement de la plante et l'exposition à H₂O₂ sur l'hyperalgésie évaluée par le test d'immersion de la queue. La latence du réflexe de retrait de la queue a été mesurée. Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm SD (n=6). Les données ont été analysées par une ANOVA à deux facteurs suivie d'un test post-hoc de Bonferroni ; ** $p \leq 0.01$, **** $p \leq 0.0001$ par rapport aux groupes de saline.

3. Concentrations des biomarqueurs hépatiques

Les enzymes hépatiques ont été dosées comme indiqué dans le **tableau 12**. L'ingestion de H₂O₂ a nettement augmenté les trois biomarqueurs testés (ALAT, ASAT et bilirubine totale) par rapport au groupe témoin (groupe 1). L'extrait de *M. rotundifolia* a réduit les niveaux élevés d'ALAT et d'ASAT aux deux doses testées, 125 et 250 mg/kg, et de bilirubine aux trois doses testées. Il est intéressant de noter que la dose de 250 mg/kg de *M. rotundifolia* a induit une légère augmentation significative du taux de bilirubine totale ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe témoin (groupe 1). En outre, il n'y avait pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes recevant cette dose avec l'eau du robinet (groupe 7) et ceux recevant du H₂O₂ (groupe 8).

Tableau 12 : Concentrations des enzymes hépatiques

Groupes	ALAT		ASAT		Bilirubine	
	UI/L					
	Normal	H ₂ O ₂ (2%)	Normal	H ₂ O ₂ (2%)	Normal	H ₂ O ₂ (2%)
Saline	33.23 ± 2.35	48.56 ± 2.90 ^a	48.85 ± 1.92	71.15 ± 2.82 ^a	0.77 ± 0.09	35.42 ± 7.00 ^a
Dose 1 (62.5 mg/kg)	31.78 ± 3.06	44.54 ± 4.49 ^a	45.65 ± 1.99	69.16 ± 1.01 ^a	1.91 ± 0.67	15.48 ± 2.62 ^{ab}
Dose 2 (125 mg/kg)	29.29 ± 2.43	35.858 ± 4.09 ^a	47.30 ± 2.02	60.8 ± 1.81 ^{ab}	4.24 ± 0.66	9.21 ± 1.39 ^{ab}
Dose 3 (250 mg/kg)	29.97 ± 3.28	29.37 ± 2.39 ^a	47.54 ± 1.54	49.25 ± 1.26 ^b	6.735 ± 0.58 ^a	6.86 ± 0.52 ^a

(a) En comparaison avec le groupe 'Saline', b en comparaison avec le groupe recevant la même dose de plante dans les conditions normales ($p \leq 0.05$).

III. DISCUSSION

Plusieurs approches thérapeutiques antioxydantes sont actuellement à l'étude pour le traitement des pathologies liées au stress oxydatif, dont les maladies neurodégénératives. Certaines d'entre elles font même l'objet d'essais cliniques (Forman and Zhang, 2021). En effet, le traitement par des piègeurs de radicaux libres ou des antioxydants pour renforcer les défenses antioxydantes ou diminuer la production de pro-oxydants peut être efficace pour prévenir, traiter, voire stopper la neurodénération (Teleanu et al., 2019). Nous avons précédemment montré que l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* avait une activité antioxydante remarquable contre les radicaux DPPH⁺ et ABTS⁺, ce qui nous a encouragé à évaluer son pouvoir antioxydant *in-vivo*.

L'exposition au H₂O₂ a significativement diminué l'activité locomotrice évaluée par les tests OF et Rotarod, comme cela a été démontré avec d'autres substances induisant un stress oxydatif telles que l'aspartame, la clomipramine et le paraquat (Niveditha et al., 2017; Othman et al., 2019). Elle a également induit des symptômes semblables à l'anxiété définis par le nombre d'entrées et le temps passé dans la zone intérieure de l'OF. Dans le test Y-maze, la mémoire de travail spatiale et la mémoire de référence spatiale ont été représentées par l'alternance spontanée et le nombre d'entrées dans le nouveau bras, respectivement, qui ont été significativement réduits en raison de l'exposition à H₂O₂. Comme prévu, les groupes traités par la plante ont montré moins d'altérations comportementales liées au stress oxydatif, en particulier aux doses de 125 mg/kg.

Ces résultats peuvent être attribués à la forte teneur en composés neuroprotecteurs de l'extrait de *M. rotundifolia*. Il a été montré que la kaempférol, identifié dans l'extrait, agit comme agent neuroprotecteur contre le modèle de maladie de Parkinson induit par la roténone chez les rats en prévenant la perte d'expression de la tyrosine hydroxylase (Pan et al., 2020). De plus, son administration a protégé contre le stress oxydatif induit par le chlorpyrifos et les déficits de

mémoire chez les rats via la voie de signalisation GSK3 β -Nrf2 et a augmenté les activités des enzymes antioxydantes et de l'AChE (Hussein et al., 2018). En outre, l'injection micro-intracérébroventriculaire de kaempférol a réduit l'anxiété par le mécanisme GABAergique en se liant à des sites spécifiques des benzodiazépines (Zarei et al., 2021). Cependant, dans les conditions H₂O₂, il a été observé que le groupe recevant une dose de 250 mg/kg d'extrait de *M. rotundifolia* avait une activité locomotrice significativement moins élevée. On a pensé que cela était lié à la toxicité ou à l'effet sédatif de l'extrait, mais selon la littérature, la plante est sans danger même à des doses élevées et n'a aucun effet psychotrope (Bounihi, 2016). Des enquêtes plus approfondies devraient être menées pour expliquer ces résultats.

L'hyperalgésie a été évaluée à l'aide du test d'immersion de la queue. L'exposition à H₂O₂ a significativement diminué la latence du réflexe de la queue. Plusieurs études ont lié l'hyperalgésie au stress oxydatif et ont montré qu'elle peut être atténuée par des traitements antioxydants (Mohajjel Nayebi et al., 2021). Les groupes traités par l'extrait, que ce soit dans les conditions normales ou 'H₂O₂', ont montré des réponses dose-dépendantes. La latence de retrait de la queue était maximale à 250 mg/kg, suggérant un effet analgésique de l'extrait de *M. rotundifolia*. Il a été précédemment démontré qu'à une dose de 600 mg/kg, l'extrait de *M. rotundifolia* avait un effet plus important que l'aspirine sur les contractions induites par l'acide acétique chez les souris (Boussouf et al., 2017).

Le foie est impliqué dans la détoxification et l'élimination de xénobiotiques, certains étant potentiellement toxiques. Cela conduit à des dommages oxydatifs des hépatocytes, reflétés par l'augmentation des enzymes hépatiques. De plus, le foie joue un rôle clé dans le métabolisme des médicaments administrés par voie orale et intra-péritonéale (Turner et al., 2011), les deux voies que nous avons choisi pour l'administration de H₂O₂ et d'extrait de *M. rotundifolia*, respectivement. Il a même été démontré que la fonction hépatique altérée était un facteur prédisposant à l'encéphalopathie et aux maladies neurodégénératives (Butterworth, 2013). De plus, dans une étude de cohorte portant sur 1581 personnes âgées, des taux élevés d'ASAT et d'ALAT étaient associés au diagnostic de la maladie d'Alzheimer, à une mauvaise cognition et à une réduction du métabolisme du glucose dans le cerveau (Nho et al., 2019). Ainsi, les substances capables de réguler les biomarqueurs hépatiques peuvent être efficaces pour prévenir les maladies neurodégénératives, d'où l'intérêt que nous leur avons porté dans ce travail. Les produits finaux de certaines voies métaboliques tels que l'acide urique, la taurine et la bilirubine peuvent avoir des effets cytoprotecteurs, mais en même temps, ils sont nocifs à des niveaux élevés (Glazer, 1989). Dans la présente étude, nous nous sommes concentrés sur l'effet antioxydant de la bilirubine. L'exposition au H₂O₂ a induit une hyperbilirubinémie significative accompagnée d'une augmentation significative des niveaux d'ASAT et d'ALAT. L'extrait de *M.*

rotundifolia a significativement réduit les niveaux élevés de manière dose-dépendante. À une dose de 250 mg/kg, les niveaux d'ASAT et d'ALAT dans les groupes H₂O₂ étaient comparables à ceux des groupes dans les conditions normales. Cependant, elle a entraîné une légère augmentation du taux de bilirubine. Cela peut être dû à la richesse en flavonoïdes de la plante, comme cela a été démontré précédemment avec des flavonoïdes isolés du chardon-Marie, *Silybum marianum* L., qui ont induit des concentrations élevées de bilirubine (Šuk et al., 2019). Il convient de noter que lorsqu'elle agit en tant qu'antioxydant, la bilirubine peut protéger les cellules contre des concentrations de H₂O₂ jusqu'à 10 000 fois plus élevées (Doré et al., 1999). Les patients atteints du syndrome de Gilbert, qui se caractérise par une légère élévation de la bilirubine, ont montré un niveau significativement plus faible de stress oxydatif sans éprouver de symptômes de toxicité liés à l'hyperbilirubinémie (Maruhashi et al., 2012). De plus, il a été constaté que l'induction d'une légère hyperbilirubinémie peut avoir un potentiel thérapeutique important, en particulier pour prévenir les maladies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, le syndrome métabolique et les troubles neurodégénératifs (Vitek et al., 2019). Ces résultats suggèrent que les feuilles de *M. rotundifolia* ont un important potentiel antioxydant, et que leurs phytoconstituants peuvent être de bons candidats pour développer de nouveaux médicaments contre les comorbidités liées au stress oxydatif.

IV. CONCLUSION

Mentha rotundifolia (L.) Huds. est traditionnellement utilisée pour ses propriétés analgésiques, antispasmodiques et anti-inflammatoires. L'étude actuelle est la première de ce type réalisée pour cette plante en terme de potentiel antioxydant et neuroprotecteur dans un modèle *in vivo*. L'extrait de *M. rotundifolia* a fourni des activités antioxydantes *in vitro*, a réduit les effets du stress oxydatif induit par H₂O₂ et a atténué les changements comportementaux associés. Ces activités peuvent expliquer son utilisation traditionnelle dans les compléments de santé et de nutrition et sa valorisation en tant que nutraceutique. Cependant, des analyses plus approfondies devraient être réalisées pour mieux comprendre le cheminement de son effet neuroprotecteur, isoler ses composants individuels et déterminer sa dose thérapeutique, sa durée d'action.

CONCLUSION GENERALE

Le stress oxydatif est un phénomène physiologique qui se produit lorsque l'organisme produit des radicaux libres en excès, qui peuvent réagir avec des composants cellulaires essentiels, tels que les lipides, les protéines et les acides nucléiques, causant ainsi des dommages oxydatifs aux cellules. Lorsque ce stress oxydatif devient chronique, il peut conduire à des dommages cellulaires cumulatifs, provoquant ainsi un vieillissement accéléré et une augmentation du risque de maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète. Les antioxydants, qui peuvent être produits endogènes ou exogènes, sont des molécules qui protègent les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres en neutralisant leur action oxydative. Cependant, lorsque l'équilibre entre la production de radicaux libres et la capacité antioxydante de l'organisme est perturbé, l'étude de solutions thérapeutiques naturelles, telles que les plantes médicinales, pour prévenir ou traiter les comorbidités liées au stress oxydatif, est d'un grand intérêt dans la recherche médicale contemporaine.

Dans le présent travail, nous avons choisi de valoriser l'effet antioxydant de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'hydrolat de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, comme agents potentiels pour la prévention des comorbidités liés au stress oxydatif. La plante a été sélectionnée pour sa disponibilité, la facilité de sa préparation et le manque d'études *in-vivo* sur ses effets pharmacologiques. Pour cela nous nous sommes fixés quatre grands objectifs à atteindre, notamment établir une étude phytochimique quantitative et qualitative pour mettre en évidence les composés phénoliques et aromatiques présents dans les parties aériennes de *M. rotundifolia*, évaluer l'activité analgésique et antiinflammatoire de son huile essentielle et son hydrolat, étudier la possibilité de prévenir le vieillissement par l'administration orale chronique de l'hydrolat, et enfin, confirmer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia in-vivo*.

L'analyse du profil phénolique de l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* a révélé sa richesse en flavonoïdes et acides phénoliques y compris le kaempférol glucuronide, l'acide caféique, l'acide quinique et l'acide rosmarinique. Ces composés ont été largement étudiés pour leurs propriétés antiinflammatoires, antioxydants, analgésiques, et neuroprotecteurs. L'hydrolat de *M. rotundifolia* contient également une quantité considérable en polyphénols. Ces résultats justifient l'activité antiradicalaire intéressante que ces deux produits ont montré dans le test DPPH et ABTS.

L'huile essentielle de *M. rotundifolia* est principalement composée d'oxyde de piperitenone qui a démontré un large éventail d'activités biologiques, antimicrobienne,

antiinflammatoire, et analgésique. Elle contient également une concentration non négligeable de bornéol, qui facilite son assimilation au niveau central.

L'hydrolat et l'huile essentielle de *M. rotundifolia* ont montré une activité antiinflammatoire remarquable contre la dénaturation des protéines et l'hémolyse membranaire, deux processus impliqués dans la survenue des douleurs neuropathiques. Ils avaient même montré une activité analgésique plus importante que le paracétamol dans le test des contorsions abdominales induites par l'acide acétique, et une activité antalgique remarquable dans le test d'immersion de la queue.

Grâce à sa faible teneur en principes actifs, et sa nature aqueuse, l'hydrolat est un produit sûr adapté à l'administration chronique. C'est pour cela que nous avons choisi d'étudier les bienfaits de l'administration orale chronique de l'hydrolat de *M. rotundifolia* contre les comorbidités liées au vieillissement. Grâce à son activité antioxydante, le traitement par hydrolat des rats âgés de 18 mois a permis de prévenir les complications comportementales et biochimiques qui surviennent avec l'âge. A l'âge de 2 ans, les rats traités présentaient moins de signes physiques de vieillissement, à savoir perte de poils, ptosis et perte de masse musculaire. Ils avaient également présenté moins de troubles de la coordination motrice, de cognition et de symptômes de type anxieux. Grâce à son activité analgésique, l'hydrolat de *M. rotundifolia* a prévenu l'hyperalgésie et l'allydonie liées à l'âge. Et enfin, les taux d'enzymes hépatiques ALAT, ASAT, et Gamma-GT ont été significativement bas, ce qui montre que l'hydrolat a prévenu le stress oxydatif lié au vieillissement.

L'extrait aqueux de *Mentha rotundifolia* a montré une excellente activité antioxydante dans les tests DPPH et ABTS, ce qui nous a encouragés à confirmer son effet in-vivo contre le stress oxydatif et la neurotoxicité induits par H₂O₂. En effet, grâce à sa richesse en composés antioxydants et neuroprotecteurs notamment le kaempférol, l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux de la plante a pu inverser la toxicité liée au H₂O₂. A la dose de 250 mg/kg, l'extrait a même induit une légère hyperbilirubinémie qui renforce l'effet antioxydant et cytoprotecteur de la bilirubine.

En conclusion, notre recherche a montré que *Mentha rotundifolia* présente des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques intéressantes, ainsi qu'une capacité à prévenir le vieillissement et à protéger contre les troubles cognitifs chez les rats âgés. Notre étude offre des perspectives intéressantes qui ont également des implications importantes pour la discipline de la pharmacologie et de la médecine naturelle. Les résultats obtenus peuvent contribuer à la mise en place de nouvelles stratégies de traitement des comorbidités liées au stress oxydatif, en utilisant des plantes naturelles comme alternative aux médicaments

synthétiques. En outre, notre recherche a également ouvert la voie à de nouvelles études sur les propriétés pharmacologiques et les mécanismes d'action de *Mentha rotundifolia*, ce qui pourrait conduire à de nouvelles découvertes et avancées dans ce domaine passionnant de la recherche.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abascal K, Yarnell E. Botanicals for Chronic Venous Insufficiency. *Alternative and Complementary Therapies* 2007;13:304–11. <https://doi.org/10.1089/act.2007.13609>.

Abo El-Magd NF, El-Karef A, El-Shishtawy MM, Eissa LA. Hepatoprotective effects of glycyrrhizin and omega-3 fatty acids on Nuclear Factor-kappa B pathway in thioacetamide-induced fibrosis in rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* 2015;2:65–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2014.12.005>.

Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry* 2007.

Adihetty PJ, Irrcher I, Joseph A-M, Ljubicic V, Hood DA. Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. *Exp Physiol* 2003;88:99–107. <https://doi.org/10.1113/eph8802505>.

Ajithkumar TG, Mathew L, Sunilkumar KN, Rajagopal R, Alfarhan A, Ock Kim Y, et al. In vitro assessment of anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Helicanthes elasticus* (Desv.) Danser accessions collected from six different hosts. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2020;27:3301–6. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.008>.

Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. *Free Radical Research* 2021;55:307–20. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>.

Alamgir ANM. Cultivation of Herbal Drugs, Biotechnology, and In Vitro Production of Secondary Metabolites, High-Value Medicinal Plants, Herbal Wealth, and Herbal Trade. In: Alamgir ANM, editor. *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1: Pharmacognosy*, Cham: Springer International Publishing; 2017, p. 379–452. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63862-1_9.

Alharbi NK, Naghmouchi S, Al-Zaban M. Evaluation of Antimicrobial Potential and Comparison of HPLC Composition, Secondary Metabolites Count, and Antioxidant Activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2021;2021:e9081536. <https://doi.org/10.1155/2021/9081536>.

Al-Kanaan BM, Al-Ouqaili MTS, Al-Rawi KFA. Detection of cytokines (IL-1 α and IL-2) and oxidative stress markers in hepatitis B envelope antigen-positive and -negative chronic hepatitis B patients: Molecular and biochemical study. *Gene Reports* 2019;17:100504. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100504>.

Alshanwani AR, Hagar H, Shaheen S, Alhusaini AM, Arafah MM, Faddah LM, et al. A promising antifibrotic drug, pyridoxamine attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis by combating oxidative stress, advanced glycation end products, and balancing matrix metalloproteinases. *European Journal of Pharmacology* 2022;923:174910. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174910>.

Altun M, Bergman E, Edström E, Johnson H, Ulfhake B. Behavioral impairments of the aging rat. *Physiology & Behavior* 2007;92:911–23. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.017>.

Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78:6858–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.11.6858>.

Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Juan CA, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. Hypochlorous Acid Chemistry in Mammalian Cells—Influence on Infection and Role in Various Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences* 2022;23:10735. <https://doi.org/10.3390/ijms231810735>.

Andrukhiv A, Costa AD, West IC, Garlid KD. Opening mitoKATP increases superoxide generation from complex I of the electron transport chain. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2006;291:H2067–74. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00272.2006>.

Antonenkov VD, Grunau S, Ohlmeier S, Hiltunen JK. Peroxisomes Are Oxidative Organelles. *Antioxidants & Redox Signaling* 2010;13:525–37. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2996>.

Antonucci S, Di Lisa F, Kaludercic N. Mitochondrial reactive oxygen species in physiology and disease. *Cell Calcium* 2021;94:102344. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102344>.

Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 2004;55:373–99. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>.

Arredondo MLO, Betancourt MCP, Yoshida MLB, Sequeda G, Herrera VMC, Vega ASG, et al. Relationship between vitamin intake and total antioxidant capacity in elderly adults. *Universitas Scientiarum* 2016;21:167–77. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC21-2.rbvi>.

Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1998;75:199–212. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>.

Assavarittirong C, Samborski W, Grygiel-Górniak B. Oxidative Stress in Fibromyalgia: From Pathology to Treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2022;2022:e1582432. <https://doi.org/10.1155/2022/1582432>.

Avramova Z. Transcriptional ‘memory’ of a stress: transient chromatin and memory (epigenetic) marks at stress-response genes. *The Plant Journal* 2015;83:149–59. <https://doi.org/10.1111/tpj.12832>.

Aziz B, Zellagui A, Telci I, Maarfia S, Gherraf N. Changeability of Essential Oils in Algerian *Mentha Rotundifolia* L.(Lamiaceae) Growing in Sub Humid Area 2018.

Aziz MA, Diab AS, Mohammed AA, Aziz MA, Diab AS, Mohammed AA. Antioxidant Categories and Mode of Action. *IntechOpen*; 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83544>.

Bai Q, Lyu Z, Yang X, Pan Z, Lou J, Dong T. Epigallocatechin-3-gallate promotes angiogenesis via up-regulation of Nfr2 signaling pathway in a mouse model of ischemic stroke. *Behavioural Brain Research* 2017;321:79–86. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.12.037>.

Bailly C. Medicinal properties and anti-inflammatory components of *Phytolacca* (Shanglu). *Digital Chinese Medicine* 2021;4:159–69. <https://doi.org/10.1016/j.dcm.2021.09.001>.

Bangar SP, Chaudhary V, Sharma N, Bansal V, Ozogul F, Lorenzo JM. Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2022;0:1–25. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2067121>.

Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr Protoc Neurosci* 2007;Chapter 8:Unit 8.9. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0809s41>.

Barbieri E, Sestili P. Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Signaling. *J Signal Transduct* 2012;2012:982794. <https://doi.org/10.1155/2012/982794>.

Behl T, Makkar R, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Zengin G, et al. Current Trends in Neurodegeneration: Cross Talks between Oxidative Stress, Cell Death, and Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 2021;22:7432. <https://doi.org/10.3390/ijms22147432>.

Ben Haj Yahia I, Zaouali Y, Ciavatta ML, Ligresti A, Jaouadi R, Boussaid M, et al. Polyphenolic Profiling, Quantitative Assessment and Biological Activities of Tunisian Native *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. *Molecules* 2019a;24:2351. <https://doi.org/10.3390/molecules24132351>.

Ben Haj Yahia I, Zaouali Y, Ciavatta ML, Ligresti A, Jaouadi R, Boussaid M, et al. Polyphenolic Profiling, Quantitative Assessment and Biological Activities of Tunisian Native *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. *Molecules* 2019b;24:2351. <https://doi.org/10.3390/molecules24132351>.

Benabdallah A, Rahmoune C, Boumendjel M, Aissi O, Messaoud C. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2016;6:760–6. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.016>.

Berger RG. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Springer Science & Business Media; 2007.

Bhatt S, Nagappa AN, Patil CR. Role of oxidative stress in depression. *Drug Discovery Today* 2020;25:1270–6. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.05.001>.

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J* 2012;5:9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>.

Biswas K, Alexander K, Francis MM. Reactive Oxygen Species: Angels and Demons in the Life of a Neuron. *NeuroSci* 2022;3:130–45. <https://doi.org/10.3390/neurosci3010011>.

Blondel J, Aronson J, Bodiou J-Y, Boeuf G. The Mediterranean Region: Biological Diversity in Space and Time. Oxford University Press; 2010.

Bnouham M. Medicinal Plants with Potential Galactagogue Activity Used in the Moroccan Pharmacopoeia. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 2010;7. <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1268>.

Boccanegra B, Verhaart IEC, Cappellari O, Vroom E, De Luca A. Safety issues and harmful pharmacological interactions of nutritional supplements in Duchenne muscular dystrophy: considerations for Standard of Care and emerging virus outbreaks. *Pharmacological Research* 2020;158:104917. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104917>.

Bohara RA, Tabassum N, Singh MP, Gigli G, Ragusa A, Leporatti S. Recent Overview of Resveratrol's Beneficial Effects and Its Nano-Delivery Systems. *Molecules* 2022;27:5154. <https://doi.org/10.3390/molecules27165154>.

Bonnafous Catherine. *Traité scientifique aromathérapie. Aromatologie et aromachologie* - Catherine Bonnafous. Dangles; 2013.

Boualam K, Bouhaddou N, Sobeh M, Tabyaoui M, Taghzouti K. *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. aqueous extract attenuates H₂O₂ induced oxidative stress and neurotoxicity. *Frontiers in Neuroscience* 2023;17.

Boualam K, Ndiaye B, Harhar H, Tabyaoui M, Ayessou N, Taghzouti K. Study of the Phytochemical Composition, the Antioxidant and the Anti-Inflammatory Effects of Two Sub-Saharan Plants: *Piliostigma reticulatum* and *Piliostigma thonningii*. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* 2021;2021:e5549478. <https://doi.org/10.1155/2021/5549478>.

Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety. *Oxid Med Cell Longev* 2009;2:63–7.

Boucher JL, Moali C, Tenu JP. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *CMLS, Cell Mol Life Sci* 1999;55:1015–28. <https://doi.org/10.1007/s000180050352>.

Bounihi A. *Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées)*. Thesis. 2016.

Boussouf L, Boutennoune H, Kebieche M, Adjeroud N, Al-Qaoud K, Madani K. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South African Journal of Botany* 2017;113:77–83. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.003>.

Božović M, Pirolli A, Ragno R. *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) Essential Oil and Its Main Constituent Piperitenone Oxide: Biological Activities and Chemistry. *Molecules* 2015;20:8605–33. <https://doi.org/10.3390/molecules20058605>.

Bremer Christensen C, Soelberg J, Stensvold CR, Jäger AK. Activity of medicinal plants from Ghana against the parasitic gut protist *Blastocystis*. *Journal of Ethnopharmacology* 2015;174:569–75. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.006>.

Bribi N. Pharmacological activity of Alkaloids: A Review 2018;1. <https://doi.org/10.63019/ajb.v1i2.467>.

Buffenstein R. Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species. *J Comp Physiol B* 2008;178:439–45. <https://doi.org/10.1007/s00360-007-0237-5>.

Builders P. *Herbal Medicine*. BoD – Books on Demand; 2019.

Burk RF. Selenium, an Antioxidant Nutrient. *Nutrition in Clinical Care* 2002;5:75–9. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5408.2002.00006.x>.

Burton GW, Doba T, Gabe E, Hughes L, Lee FL, Prasad L, et al. Autoxidation of biological molecules. 4. Maximizing the antioxidant activity of phenols. *J Am Chem Soc* 1985;107:7053–65. <https://doi.org/10.1021/ja00310a049>.

Butterworth RF. The liver–brain axis in liver failure: neuroinflammation and encephalopathy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:522–8. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.99>.

Carrasco C, Naziroğlu M, Rodríguez AB, Pariente JA. Neuropathic Pain: Delving into the Oxidative Origin and the Possible Implication of Transient Receptor Potential Channels. *Front Physiol* 2018;9:95. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00095>.

Catalá A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids* 2009;157:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2008.09.004>.

Catala A. The Ability of Melatonin to Counteract Lipid Peroxidation in Biological Membranes. *Current Molecular Medicine* 2007;7:638–49. <https://doi.org/10.2174/156652407782564444>.

Chapman L, Johns T, Mahunnah RLA. Saponin-like in vitro characteristics of extracts from selected non-nutrient wild plant food additives used by Maasai in meat and milk based soups. *Ecology of Food and Nutrition* 1997;36:1–22. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991502>.

Chen X, Guo C, Kong J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res* 2012;7:376–85. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.009>.

Chiang S-K, Chen S-E, Chang L-C. The Role of HO-1 and Its Crosstalk with Oxidative Stress in Cancer Cell Survival. *Cells* 2021;10:2401. <https://doi.org/10.3390/cells10092401>.

Chou C-T. The Antiinflammatory Effect of an Extract of *Tripterygium wilfordii* Hook F on Adjuvant-induced Paw Oedema in Rats and Inflammatory Mediators Release. *Phytotherapy Research* 1997;11:152–4. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2<152::AID-PTR45>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2<152::AID-PTR45>3.0.CO;2-L).

Çiçek H. *Reviews in Medical and Health Science Methodology, Research and Practice*. Livre de Lyon; 2022.

Corcoran MP, McKay DL, Blumberg JB. Flavonoid Basics: Chemistry, Sources, Mechanisms of Action, and Safety. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics* 2012;31:176–89. <https://doi.org/10.1080/21551197.2012.698219>.

Coutinho MF, Santos JI, S. Mendonça L, Matos L, Prata MJ, S. Jurado A, et al. Lysosomal Storage Disease-Associated Neuropathy: Targeting Stable Nucleic Acid Lipid Particle (SNALP)-Formulated siRNAs to the Brain as a Therapeutic Approach. *International Journal of Molecular Sciences* 2020;21:5732. <https://doi.org/10.3390/ijms21165732>.

Cox-Georgian D, Ramadoss N, Dona C, Basu C. Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. In: Joshee N, Dhekney SA, Parajuli P, editors. *Medicinal Plants: From Farm to*

Pharmacy, Cham: Springer International Publishing; 2019, p. 333–59. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15.

Cunha-Oliveira T, Montezinho L, Mendes C, Firuzi O, Saso L, Oliveira PJ, et al. Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Pathophysiology and Opportunities for Pharmacological Intervention. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020;2020:e5021694. <https://doi.org/10.1155/2020/5021694>.

Daayf F, Lattanzio V. *Recent Advances in Polyphenol Research, Volume 1*. John Wiley & Sons; 2009.

Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine* 2003;9:169–76. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(03\)00031-5](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(03)00031-5).

Damiano S, Muscariello E, La Rosa G, Di Maro M, Mondola P, Santillo M. Dual Role of Reactive Oxygen Species in Muscle Function: Can Antioxidant Dietary Supplements Counteract Age-Related Sarcopenia? *Int J Mol Sci* 2019;20:3815. <https://doi.org/10.3390/ijms20153815>.

D'amour FE, Smith DL. A Method for Determining Loss of Pain Sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941;72:74–9.

Deas E, Cremades N, Angelova PR, Ludtmann MHR, Yao Z, Chen S, et al. Alpha-Synuclein Oligomers Interact with Metal Ions to Induce Oxidative Stress and Neuronal Death in Parkinson's Disease. *Antioxidants & Redox Signaling* 2016;24:376–91. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6343>.

Denslow MW, Poindexter DB. MENTHA SUAVEOLENS AND M. ×ROTUNDIFOLIA IN NORTH CAROLINA: A CLARIFICATION OF DISTRIBUTION AND TAXONOMIC IDENTITY. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 2009;3:383–9.

Derwich E, Benziane Z, Taouil R, Senhaji O, Touzani M. Comparative Essential oil Composition of Leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a Traditional Herbal Medicine in Morocco 2010:8.

Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci* 2017;10:284. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>.

Devi GR, Allensworth JL, Evans MK, Sauer SJ. Chapter 1 - The Role of Oxidative Stress in Breast Cancer. In: Preedy V, editor. *Cancer*, San Diego: Academic Press; 2014, p. 3–14. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405205-5.00001-5>.

Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016;2016:e1245049. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>.

Doré S, Takahashi M, Ferris CD, Hester LD, Guastella D, Snyder SH. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1999;96:2445–50. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.5.2445>.

Drazic A, Winter J. The physiological role of reversible methionine oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 2014;1844:1367–82. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.01.001>.

Dryden M. Reactive oxygen species: a novel antimicrobial. *Int J Antimicrob Agents* 2018;51:299–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.08.029>.

Duygu F, Karsen H, Aksoy N, Taskin A. Relationship of oxidative stress in hepatitis B infection activity with HBV DNA and fibrosis. *Ann Lab Med* 2012;32:113–8. <https://doi.org/10.3343/alm.2012.32.2.113>.

Dzubak P, Hajduch M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, et al. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Nat Prod Rep* 2006;23:394–411. <https://doi.org/10.1039/B515312N>.

van Eck NJ, Waltman L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics* 2010;84:523–38. <https://doi.org/10.1007/s11192-009-0146-3>.

El Hassani FZ. Characterization, activities, and ethnobotanical uses of *Mentha* species in Morocco. *Heliyon* 2020;6:e05480. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05480>.

El Mansouri L, Ennabili A, Bousta D. Socioeconomic interest and valorization of medicinal plants from the Rissani oasis (SE of Morocco). *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromát* 2011:30–45.

Elachouri M. Chapter 5 - Ethnobotany/Ethnopharmacology, and Bioprospecting: Issues on Knowledge and Uses of Medicinal Plants by Moroccan People. In: Mandal SC, Mandal V, Konishi T, editors. *Natural Products and Drug Discovery*, Elsevier; 2018, p. 105–18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102081-4.00005-8>.

El-Gharbaoui A, Benítez G, González-Tejero MR, Molero-Mesa J, Merzouki A. Comparison of Lamiaceae medicinal uses in eastern Morocco and eastern Andalusia and in Ibn al-Baytar's *Compendium of Simple Medicaments* (13th century CE). *Journal of Ethnopharmacology* 2017;202:208–24. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.014>.

El-Shemy H. *Essential Oils: Oils of Nature*. BoD – Books on Demand; 2020.

El-Shemy H. *Aromatic and Medicinal Plants: Back to Nature*. BoD – Books on Demand; 2017.

Elufioye TO, Habtemariam S. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019;112:108600. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108600>.

Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays* 2004;26:533–42. <https://doi.org/10.1002/bies.20027>.

Farag AI. *Psychiatric Comorbidities in Patient With Painful Peripheral Neuropathy*. clinicaltrials.gov; 2019.

Fatiha B, Didier H, Naima G, Khodir M, Martin K, Léocadie K, et al. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products* 2015;74:722–30. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.038>.

Fatma G, Houda B, Ahmed L. H₂O₂-Induced Oxidative Stress, AChE inhibition and mediated brain injury attenuated by *Thymus algeriensis* 2018.

Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2021;20:689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>.

Freyenhagen R, Bennett MI. Diagnosis and management of neuropathic pain. *BMJ* 2009;339:b3002. <https://doi.org/10.1136/bmj.b3002>.

Friedberg EC, Walker GC, Siede W, Wood RD. DNA Repair and Mutagenesis. American Society for Microbiology Press; 2005.

Ghamry HI, Aboushouk AA, Soliman MM, Albogami SM, Tohamy HG, Okle OSE, et al. Ginseng® Alleviates Malathion-Induced Hepatorenal Injury through Modulation of the Biochemical, Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Anti-Inflammatory Markers in Male Rats. *Life* 2022;12:771. <https://doi.org/10.3390/life12050771>.

Ghanmi M, Aafi A, Satrani B, Aberchane M, Khia A, Yakhlef SEB. Aromatic and Medicinal Plants in North Africa: Opportunities, Constraints and Prospects. *Novel Plant Bioresources*, John Wiley & Sons, Ltd; 2014, p. 409–23. <https://doi.org/10.1002/9781118460566.ch29>.

Glazer AN. Light guides. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. *J Biol Chem* 1989;264:1–4.

Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. *Clinica Chimica Acta* 2009;410:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.09.025>.

Goud G. Research Trends in Medicinal Plant Sciences The Potent Cytotoxic and Antitumor Properties of Methanol Extract of Moringa oleifera Leaves, 2020.

Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. The Open Field Test. In: Gould TD, editor. *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests*, Totowa, NJ: Humana Press; 2009, p. 1–20. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_1.

Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters* 1991;281:9–19. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80347-6](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80347-6).

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press; 2015.

Hammi C, Yeung B. *Neuropathy*. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

Hang S, Wu W, Wang Y, Sheng R, Fang Y, Guo R. Daphnetin, a Coumarin in Genus *Stellera Chamaejasme* Linn: Chemistry, Bioactivity and Therapeutic Potential. *Chemistry & Biodiversity* 2022;19:e202200261. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200261>.

Hanson JR. Diterpenoids. *Nat Prod Rep* 2006;23:875–85. <https://doi.org/10.1039/B516326A>.

Hawrył MA, Skalicka-Woźniak K, Świeboda R, Niemiec M, Stępak K, Waksmundzka-Hajnos M, et al. GC-MS fingerprints of mint essential oils. *Open Chemistry* 2015;13. <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0148>.

Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001;57:43–56. <https://doi.org/10.1007/BF03179812>.

Ho JC, Chan-Yeung M, Ho SP, Mak JC, Ip MS, Ooi GC, et al. Disturbance of systemic antioxidant profile in nonsmall cell lung carcinoma. *European Respiratory Journal* 2007;29:273–8. <https://doi.org/10.1183/09031936.00000106>.

Höhn A, Jung T, Grune T. Pathophysiological importance of aggregated damaged proteins. *Free Radical Biology and Medicine* 2014;71:70–89. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.02.028>.

Hoki Y, Murata M, Hiraku Y, Ma N, Matsumine A, Uchida A, et al. 8-Nitroguanine as a potential biomarker for progression of malignant fibrous histiocytoma, a model of inflammation-related cancer. *Oncology Reports* 2007;18:1165–9. <https://doi.org/10.3892/or.18.5.1165>.

Hussein RM, Mohamed WR, Omar HA. A neuroprotective role of kaempferol against chlorpyrifos-induced oxidative stress and memory deficits in rats via GSK3 β -Nrf2 signaling pathway. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2018;152:29–37. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.08.008>.

Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 2018;54:287–93. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.

Iranawati F, Narulitai R, Dewi CSU, Arifin S. Web evaluation of maceration length period on antioxidant potency of *Sonneratia caseolaris* leaf. *E3S Web Conf* 2020;153:01010. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015301010>.

Iwuozor K. Qualitative and Quantitative Determination of Anti-Nutritional Factors of Five Wine Samples. *Advanced Journal of Chemistry-Section A* 2019;2:136–46. <https://doi.org/10.29088/SAMI/AJCA.2019.2.136146>.

Jadid N, Hidayati D, Hartanti SR, Arraniry BA, Rachman RY, Wikanta W. Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using DPPH assay. *AIP Conference Proceedings* 2017;1854:020019. <https://doi.org/10.1063/1.4985410>.

Jakubczyk K, Tuchowska A, Janda-Milczarek K. Plant hydrolates – Antioxidant properties, chemical composition and potential applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2021;142:112033. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112033>.

Ježek P, Hlavatá L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005;37:2478–503. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.05.013>.

Jiang C, Xue J, Yuan Y, Li Y, Zhao C, Jing Q, et al. Progress in structure, synthesis and biological activity of natural cephalotane diterpenoids. *Phytochemistry* 2021;192:112939. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112939>.

Juárez Olguín H, Calderón Guzmán D, Hernández García E, Barragán Mejía G. The Role of Dopamine and Its Dysfunction as a Consequence of Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015;2016:e9730467. <https://doi.org/10.1155/2016/9730467>.

Jurcau A. The Role of Natural Antioxidants in the Prevention of Dementia—Where Do We Stand and Future Perspectives. *Nutrients* 2021;13. <https://doi.org/10.3390/nu13020282>.

Kabtani S, Sdouga D, Bettaib Rebey I, Save M, Trifi-Farah N, Fauconnier M-L, et al. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. *Sci Rep* 2020;10:8293. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65160-4>.

Kandar CC. Secondary Metabolites from Plant Sources. In: Pal D, Nayak AK, editors. *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*, Cham: Springer International Publishing; 2021, p. 329–77. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54027-2_10.

Kandlur A, Satyamoorthy K, Gangadharan G. Oxidative Stress in Cognitive and Epigenetic Aging: A Retrospective Glance. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2020;13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00041>.

Kettle AJ, Winterbourn CC. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Report* 1997;3:3–15. <https://doi.org/10.1080/13510002.1997.11747085>.

Khan J, Deb PK, Priya S, Medina KD, Devi R, Walode SG, et al. Dietary Flavonoids: Cardioprotective Potential with Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological and Therapeutic Concerns. *Molecules* 2021;26:4021. <https://doi.org/10.3390/molecules26134021>.

Khan SS, Singer BD, Vaughan DE. Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans. *Aging Cell* 2017;16:624–33. <https://doi.org/10.1111/acer.12601>.

Kharoubi R, Rehim N, Soltani N. Essential oil from *Mentha rotundifolia* harvested in Northeast Algeria: Chemical Composition, Larvicidal and Enzymatic Activities on *Culex pipiens* larvae. *Transylvanian Review* 2020;27.

Khoury M, Stien D, Eparvier V, Ouaini N, El Beyrouthy M. Report on the Medicinal Use of Eleven Lamiaceae Species in Lebanon and Rationalization of Their Antimicrobial Potential by Examination of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Their Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2016;2016:e2547169. <https://doi.org/10.1155/2016/2547169>.

Khuankaew C, Sawaddiruk P, Surinkaew P, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Possible roles of mitochondrial dysfunction in neuropathy. *International Journal of Neuroscience* 2021;131:1019–41. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1765777>.

Kim D, Wu Z-L, Guengerich FP. Analysis of Coumarin 7-Hydroxylation Activity of Cytochrome P450 2A6 using Random Mutagenesis *. *Journal of Biological Chemistry* 2005;280:40319–27. <https://doi.org/10.1074/jbc.M508171200>.

Klencklen G, Banta Lavenex P, Brandner C, Lavenex P. Working memory decline in normal aging: Is it really worse in space than in color? *Learning and Motivation* 2017;57:48–60. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2017.01.007>.

Kovač V, Bergant M, Ščančar J, Primožič J, Jamnik P, Poljšak B. Causation of Oxidative Stress and Defense Response of a Yeast Cell Model after Treatment with Orthodontic Alloys Consisting of Metal Ions. *Antioxidants* 2022;11:63. <https://doi.org/10.3390/antiox11010063>.

Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods Mol Biol* 2019;1916:105–11. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_10.

Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2007;292:R18–36. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00327.2006>.

Kukula-Koch WA, Widelski J. Chapter 9 - Alkaloids. In: Badal S, Delgoda R, editors. *Pharmacognosy*, Boston: Academic Press; 2017, p. 163–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00009-3>.

Kulkarni M, Sawant N, Kolapkar A, Huprikar A, Desai N. Borneol: a Promising Monoterpenoid in Enhancing Drug Delivery Across Various Physiological Barriers. *AAPS PharmSciTech* 2021;22:145. <https://doi.org/10.1208/s12249-021-01999-8>.

Kuncewicz J, Dąbrowski JM, Kyzioł A, Brindell M, Łabuz P, Mazuryk O, et al. Perspectives of molecular and nanostructured systems with d- and f-block metals in photogeneration of reactive oxygen species for medical strategies. *Coordination Chemistry Reviews* 2019;398:113012. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.07.009>.

Labiad H, Et-tahir A, Ghanmi M, Satrani B, Aljaiyash A, Chaouch A, et al. Ethnopharmacological survey of aromatic and medicinal plants of the pharmacopoeia of northern Morocco. *Ethnobotany Research and Applications* 2020;19:1–16.

Lançon A, Frazzi R, Latruffe N. Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Properties of Resveratrol in Ocular Diseases. *Molecules* 2016;21:304. <https://doi.org/10.3390/molecules21030304>.

Le Couteur DG, Blyth FM, Creasey HM, Handelsman DJ, Naganathan V, Sambrook PN, et al. The Association of Alanine Transaminase With Aging, Frailty, and Mortality. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010;65A:712–7. <https://doi.org/10.1093/gerona/glq082>.

Lerner RA, Eschenmoser A. Ozone in biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003;100:3013–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0730791100>.

Li B, Cantino PD, Olmstead RG, Bramley GLC, Xiang C-L, Ma Z-H, et al. A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Sci Rep* 2016;6:34343. <https://doi.org/10.1038/srep34343>.

Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2013;11:110–20. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60037-0](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60037-0).

Lichota A, Gwozdziński L, Gwozdziński K. Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2019;176:68–91. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.075>.

Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* 2018;13:757–72. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>.

Lim SO, Jung NY, Lee AJ, Choi HJ, Kwon HM, Son W, et al. Genetic and Clinical Studies of Peripheral Neuropathies with Three Small Heat Shock Protein Gene Variants in Korea. *Genes* 2022;13:462. <https://doi.org/10.3390/genes13030462>.

Lin MT, Flint Beal M. The oxidative damage theory of aging. *Clinical Neuroscience Research* 2003;2:305–15. [https://doi.org/10.1016/S1566-2772\(03\)00007-0](https://doi.org/10.1016/S1566-2772(03)00007-0).

Lin Y, Feng X, Cao X, Miao R, Sun Y, Li R, et al. Age patterns of nonalcoholic fatty liver disease incidence: heterogeneous associations with metabolic changes. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2022;14:181. <https://doi.org/10.1186/s13098-022-00930-w>.

Liu P, Qian L, Sung J-S, de Souza-Pinto NC, Zheng L, Bogenhagen DF, et al. Removal of Oxidative DNA Damage via FEN1-Dependent Long-Patch Base Excision Repair in Human Cell Mitochondria. *Molecular and Cellular Biology* 2008;28:4975–87. <https://doi.org/10.1128/MCB.00457-08>.

Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP. The Origin of the Hydroxyl Radical Oxygen in the Fenton Reaction. *Free Radical Biology and Medicine* 1997;22:885–8. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00432-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00432-7).

López-Grueso MJ. Redox regulation of proteome, metabolism and signaling in hepatocarcinoma tumor cells. *Regulación redox del proteoma, el metabolismo y la señalización en células tumorales de hepatocarcinoma* 2019.

Ma J-N, Ma C-M. Chapter 71 - Antifungal Inhibitory Activities of Caffeic and Quinic Acid Derivatives. In: Preedy VR, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*, San Diego: Academic Press; 2015, p. 635–41. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00071-1>.

Määttänen P, Gehring K, Bergeron JJM, Thomas DY. Protein quality control in the ER: The recognition of misfolded proteins. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2010;21:500–11. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.03.006>.

Mahato SB, Nandy AK, Roy G. Triterpenoids. *Phytochemistry* 1992;31:2199–249. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83257-Y](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83257-Y).

Margraf A, Ludwig N, Zarbock A, Rossaint J. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Surgery: Mechanisms and Protection. *Anesthesia & Analgesia* 2020;131:1693–707. <https://doi.org/10.1213/ANE.00000000000005175>.

Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, Idei N, Mikami S, Iwamoto Y, et al. Hyperbilirubinemia, Augmentation of Endothelial Function, and Decrease in Oxidative Stress in Gilbert Syndrome. *Circulation* 2012;126:598–603. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.105775>.

Matejić J, Šarac Z, Ranđelović V. Pharmacological Activity of Sesquiterpene Lactones. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2010;24:95–100. <https://doi.org/10.1080/13102818.2010.10817819>.

Matsuura H, Fett-Neto A. Plant Alkaloids: Main Features, Toxicity, and Mechanisms of Action, 2015, p. 1–15. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6728-7_2-1.

Mazat J-P, Devin A, Ransac S. Modelling mitochondrial ROS production by the respiratory chain. *Cell Mol Life Sci* 2020;77:455–65. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03381-1>.

McCormick CC, Parker RS. The cytotoxicity of vitamin E is both vitamer- and cell-specific and involves a selectable trait. *J Nutr* 2004;134:3335–42. <https://doi.org/10.1093/jn/134.12.3335>.

McIlvin MR, Altabet MA. Chemical Conversion of Nitrate and Nitrite to Nitrous Oxide for Nitrogen and Oxygen Isotopic Analysis in Freshwater and Seawater. *Anal Chem* 2005;77:5589–95. <https://doi.org/10.1021/ac050528s>.

Meeus M, Nijs J. Central sensitization: a biopsychosocial explanation for chronic widespread pain in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Clin Rheumatol* 2007;26:465–73. <https://doi.org/10.1007/s10067-006-0433-9>.

Meng S-J, Yu L-J. Oxidative Stress, Molecular Inflammation and Sarcopenia. *International Journal of Molecular Sciences* 2010;11:1509. <https://doi.org/10.3390/ijms11041509>.

Meyer N, Rinholm JE. Mitochondria in Myelinating Oligodendrocytes: Slow and Out of Breath? *Metabolites* 2021;11:359. <https://doi.org/10.3390/metabo11060359>.

Milkovic L, Cipak Gasparovic A, Cindric M, Mouthuy P-A, Zarkovic N. Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts. *Cells* 2019;8:793. <https://doi.org/10.3390/cells8080793>.

Mimica-Dukic N, Bozin B, Mentha L. Species (Lamiaceae) as Promising Sources of Bioactive Secondary Metabolites. *Current Pharmaceutical Design* 2008;14:3141–50. <https://doi.org/10.2174/138161208786404245>.

Minatel IO, Borges CV, Ferreira MI, Gomez HAG, Lima C-YOC and GPP, Minatel IO, et al. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. *IntechOpen*; 2017. <https://doi.org/10.5772/66368>.

Mittler R. ROS Are Good. *Trends Plant Sci* 2017;22:11–9. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>.

Mogosan C, Vostinaru O, Oprean R, Heghes C, Filip L, Balica G, et al. A Comparative Analysis of the Chemical Composition, Anti-Inflammatory, and Antinociceptive Effects of the Essential Oils from Three Species of Mentha Cultivated in Romania. *Molecules* 2017;22:263. <https://doi.org/10.3390/molecules22020263>.

Mohajjel Nayebi A, Hashemian A, Rezazadeh H, Charkhpour M, Fekri K, Haddadi R. Silymarin reduced cisplatin-induced hyperalgesia by suppressing oxidative stress in male rats. *Physiology and Pharmacology* 2021;25:146–53. <https://doi.org/10.32598/ppj.25.2.60>.

Montezano AC, Touyz RM. Reactive Oxygen Species and Endothelial Function – Role of Nitric Oxide Synthase Uncoupling and Nox Family Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidases. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2012;110:87–94. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00785.x>.

Motti R, de Falco B. Traditional Herbal Remedies Used for Managing Anxiety and Insomnia in Italy: An Ethnopharmacological Overview. *Horticulturae* 2021;7:523. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120523>.

Mouhajir F. Medicinal plants used by Berber and Arab peoples of Morocco : ethnopharmacology and phytochemistry. Thesis. University of British Columbia, Vancouver, BC, CA, 2002.

Murad F. Nitric Oxide: The Coming of the Second Messenger. *Rambam Maimonides Med J* 2011;2:e0038. <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10038>.

Murray AJ, Rogers JC, Katshu MZUH, Liddle PF, Upthegrove R. Oxidative Stress and the Pathophysiology and Symptom Profile of Schizophrenia Spectrum Disorders. *Frontiers in Psychiatry* 2021;12.

Nazlić M, Akrap K, Kremer D, Dunkić V. Hydrosols of Veronica Species—Natural Source of Free Volatile Compounds with Potential Pharmacological Interest. *Pharmaceuticals* 2022;15:1378. <https://doi.org/10.3390/ph15111378>.

Nho K, Kueider-Paisley A, Ahmad S, MahmoudianDehkordi S, Arnold M, Risacher SL, et al. Association of Altered Liver Enzymes With Alzheimer Disease Diagnosis, Cognition, Neuroimaging Measures, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. *JAMA Network Open* 2019;2:e197978. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.7978>.

Niveditha S, Shivanandappa T, Ramesh SR. Ameliorative Potential of Natural Antioxidants Against Paraquat-Induced Oxidative Stress and Locomotor Impairment in *Drosophila melanogaster*: A Comparative Study. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2017;05. <https://doi.org/10.2174/1874847301705010043>.

Nowack R, Schmitt W. Cranberry juice for prophylaxis of urinary tract infections – Conclusions from clinical experience and research. *Phytomedicine* 2008;15:653–67. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.07.009>.

Opiyo SA, Muna KK, Ndirangu EG. Analgesic Activity of *Conyza Floribunda* Extracts in Swiss Albino Mice 2021.

Ortiz GG, Pacheco Moisés FP, Mireles-Ramírez M, Flores-Alvarado LJ, González-Usigli H, Sánchez-González VJ, et al. Chapter One - Oxidative Stress: Love and Hate History in Central Nervous System. In: Donev R, editor. *Advances in Protein Chemistry and Structural*

Biology, vol. 108, Academic Press; 2017, p. 1–31.
<https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2017.01.003>.

Oswald MCW, Garnham N, Sweeney ST, Landgraf M. Regulation of neuronal development and function by ROS. *FEBS Letters* 2018;592:679–91.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.12972>.

Othman H, Ammari M, Lassoued A, Sakly M, Abdelmelek H. Zinc improves clomipramine effects on depressive and locomotor behavior and reverses its oxidative stress in rats. *Behavioural Brain Research* 2019;374:112122. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112122>.

Ouameur AA, Malonga H, Neault JF, Diamantoglou S, Tajmir-Riahi HA. Taxol interaction with DNA and RNA — Stability and structural features. *Can J Chem* 2004;82:1112–8. <https://doi.org/10.1139/v04-061>.

Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine* 1995;19:227–50. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00017-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00017-R).

Pan X, Liu X, Zhao H, Wu B, Liu G. Antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effect of kaempferol on rotenone-induced Parkinson's disease model of rats and SH-S5Y5 cells by preventing loss of tyrosine hydroxylase. *Journal of Functional Foods* 2020;74:104140. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104140>.

Park YJ, Baek S-A, Choi Y, Kim JK, Park SU. Metabolic Profiling of Nine Mentha Species and Prediction of Their Antioxidant Properties Using Chemometrics. *Molecules* 2019;24:258. <https://doi.org/10.3390/molecules24020258>.

Patrick * E, Bowers * J, Read * S, Lackey B, Murphy C, Gray S. Essential Oils from Apple mint (*Mentha suaveolens*) and Passionflower fruit (*Passiflora incarnata*): Studies on Cognition, Coordination, and Chemical Components. *Journal of the South Carolina Academy of Science* 2015;13.

Pehlivan FE. Vitamin C: An Antioxidant Agent. IntechOpen; 2017. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69660>.

Perna G, Iannone G, Alciati A, Caldirola D. Are Anxiety Disorders Associated with Accelerated Aging? A Focus on Neuroprogression. *Neural Plast* 2016;2016:8457612. <https://doi.org/10.1155/2016/8457612>.

Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* 2008;4:89–96.

Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem* 2015;30:11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.

Pizzi A. Tannins medical / pharmacological and related applications: A critical review. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 2021;22:100481. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100481>.

Pizzorno J. Glutathione! *Integr Med (Encinitas)* 2014;13:8–12.

Poeggeler B. Melatonin, aging, and age-related diseases. *Endocr* 2005;27:201–12. <https://doi.org/10.1385/ENDO:27:2:201>.

Poppenga RH. Herbal medicine: Potential for intoxication and interactions with conventional drugs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 2002;17:6–18. <https://doi.org/10.1053/svms.2002.27785>.

Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Letters* 2017;387:95–105. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.03.042>.

Pratt DA, Tallman KA, Porter NA. Free Radical Oxidation of Polyunsaturated Lipids: New Mechanistic Insights and the Development of Peroxyl Radical Clocks. *Acc Chem Res* 2011;44:458–67. <https://doi.org/10.1021/ar200024c>.

Pryor WA, Das B, Church DF. The ozonation of unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity. ACS Publications 2002. <https://doi.org/10.1021/tx00021a014>.

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007;2:219–36.

Rattray RD, Van Wyk B-E. The Botanical, Chemical and Ethnobotanical Diversity of Southern African Lamiaceae. *Molecules* 2021;26:3712. <https://doi.org/10.3390/molecules26123712>.

Rauhala P, Andoh T, Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide and S-nitrosoglutathione. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2005;207:91–5. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.02.028>.

Raya MDP, Utrilla MP, Navarro MC, Jiménez J. CNS activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha longifolia* essential oil in mice and rats. *Phytotherapy Research* 1990;4:232–4. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650040606>.

Riahi L, Chakroun H, Klay I, Masmoudi AS, Cherif A, Zoghlami N. Metabolomic fingerprint of *Mentha rotundifolia* L. Leaf tissues promotes this species as a potential candidate for sustainable production of biologically active molecules. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 2019;16. <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0048>.

Riahi L, Elferchichi M, Ghazghazi H, Jebali J, Ziadi S, Aouadhi C, et al. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products* 2013;49:883–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.032>.

Robberecht W. Oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 2000;247:11–6. <https://doi.org/10.1007/s004150050551>.

Rostan EF, DeBuys HV, Madey DL, Pinnell SR. Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. *International Journal of Dermatology* 2002;41:606–11. <https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.2002.01567.x>.

Sahoo BM, Banik BK, Borah P, Jain A. Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry- Anti-Cancer Agents* 2022;22:215–22. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210608095512>.

Sailaja Rao P, Kalva S, Yerramilli A, Mamidi S. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants* 2011;1:2–7. <https://doi.org/10.5530/ax.2011.4.2>.

Salehi B, Berkay Yılmaz Y, Antika G, Boyunegmez Tumer T, Fawzi Mahomoodally M, Lobine D, et al. Insights on the Use of α -Lipoic Acid for Therapeutic Purposes. *Biomolecules* 2019;9:356. <https://doi.org/10.3390/biom9080356>.

Salisbury D, Bronas U. Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction. *Nurs Res* 2015;64:53–66. <https://doi.org/10.1097/NNR.000000000000068>.

Samanta A, Das G, Das S. Roles of flavonoids in Plants. *International Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 2011;6:12–35.

Sandalio LM, Rodríguez-Serrano M, Romero-Puertas MC, del Río LA. Role of peroxisomes as a source of reactive oxygen species (ROS) signaling molecules. *Subcell Biochem* 2013;69:231–55. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5_13.

Sasannejad C, Ely EW, Lahiri S. Long-term cognitive impairment after acute respiratory distress syndrome: a review of clinical impact and pathophysiological mechanisms. *Crit Care* 2019;23:352. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2626-z>.

Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, Ogura J, Kobayashi M, Hirano T, et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics* 2011;403:136–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035>.

Schaffer S, Müller WE, Eckert GP. Tocotrienols: constitutional effects in aging and disease. *J Nutr* 2005;135:151–4. <https://doi.org/10.1093/jn/135.2.151>.

Schrader M, Fahimi HD. Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. *Histochem Cell Biol* 2004;122:383–93. <https://doi.org/10.1007/s00418-004-0673-1>.

Schröder K. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: Dosis facit venenum. *Exp Physiol* 2019;104:447–52. <https://doi.org/10.1113/EP087125>.

Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *J Vis Exp* 2015:52434. <https://doi.org/10.3791/52434>.

Sekhar RV, Patel SG, Guthikonda AP, Reid M, Balasubramanyam A, Taffet GE, et al. Deficient synthesis of glutathione underlies oxidative stress in aging and can be corrected by dietary cysteine and glycine supplementation^{1–4}. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2011;94:847–53. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.003483>.

Seladji M, Belmekki N, Bekhechi C, Bendimerad N. Antioxidant and antimicrobial activity of aqueous and methanolic extracts of mentha rotundifolia L. from Algeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2014;26:228–34.

Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med* 2013;4:624–30.

Serchov T, Calker D van, Biber K. Light/Dark Transition Test to Assess Anxiety-like Behavior in Mice. *Bio-Protocol* 2016;6:e1957–e1957.

Sevier CS, Kaiser CA. Formation and transfer of disulphide bonds in living cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:836–47. <https://doi.org/10.1038/nrm954>.

Shankar K, Mehendale HM. Oxidative Stress. In: Wexler P, editor. *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition), Oxford: Academic Press; 2014, p. 735–7. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00345-6>.

Sharmeen JB, Mahomoodally FM, Zengin G, Maggi F. Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. *Molecules* 2021;26:666. <https://doi.org/10.3390/molecules26030666>.

Shiotsuki H, Yoshimi K, Shimo Y, Funayama M, Takamatsu Y, Ikeda K, et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *J Neurosci Methods* 2010;189:180–5. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.03.026>.

Siegmund E, Cadmus R, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957;95:729–31. <https://doi.org/10.3181/00379727-95-23345>.

Singh B, Singh JP, Singh N, Kaur A. Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. *Food Chemistry* 2017;233:540–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.161>.

Skąła E, Sitarek P, Różalski M, Krajewska U, Szemraj J, Wysokińska H, et al. Antioxidant and DNA Repair Stimulating Effect of Extracts from Transformed and Normal Roots of *Rhaponticum carthamoides* against Induced Oxidative Stress and DNA Damage in CHO Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016;2016:e5753139. <https://doi.org/10.1155/2016/5753139>.

Skene I. Characterisation of a tannin acylhydrolase from a ruminal selenomonad / by Ian Skene. Thesis. 1996.

Skowrya M. Antioxidant properties of extracts from selected plant materials (*Caesalpinia spinosa*, *Perilla frutescens*, *Artemisia annua* and *Viola wittrockiana*) in vitro and in model food systems. Ph.D. Thesis. Universitat Politècnica de Catalunya, 2014.

Song S, Lam EW-F, Tchkonja T, Kirkland JL, Sun Y. Senescent Cells: Emerging Targets for Human Aging and Age-Related Diseases. *Trends in Biochemical Sciences* 2020;45:578–92. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.03.008>.

Sørensen M, Møller BL. Metabolic Engineering of Photosynthetic Cells – in Collaboration with Nature. *Metabolic Engineering*, John Wiley & Sons, Ltd; 2021, p. 803–57. <https://doi.org/10.1002/9783527823468.ch21>.

Soualeh N, Soulimani R. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie* 2016;14:44–57. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1024-9>.

Sousa P, Linard C, Azevedo-Batista D, Oliveira A, Coelho-de-Souza A, Leal-Cardoso J. Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica* . [et Al] 2009;42:655–9. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2009000700010>.

Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin Is an Antioxidant of Possible Physiological Importance. *Science* 1987;235:1043–6. <https://doi.org/10.1126/science.3029864>.

Sutour S, Bradesi P, Casanova J, Tomi F. Composition and Chemical Variability of *Mentha suaveolens* ssp. *suaveolens* and *M. suaveolens* ssp. *insularis* from Corsica. *Chemistry & Biodiversity* 2010;7:1002–8. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200900365>.

Tafrihi M, Imran M, Tufail T, Gondal TA, Caruso G, Sharma S, et al. The Wonderful Activities of the Genus *Mentha*: Not Only Antioxidant Properties. *Molecules* 2021;26:1118. <https://doi.org/10.3390/molecules26041118>.

Taiwe GS, Kuete V. Chapter 2 - Management of Inflammatory and Nociceptive Disorders in Africa. In: Kuete Victor, editor. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, Academic Press; 2017, p. 73–92. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00002-9>.

Takshak S, Agrawal SB. Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2019;193:51–88. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.02.002>.

Tarr M, Valenzeno DP. Singlet oxygen: the relevance of extracellular production mechanisms to oxidative stress in vivo. *Photochem Photobiol Sci* 2003;2:355–61. <https://doi.org/10.1039/B211778A>.

Teleanu RI, Chircov C, Grumezescu AM, Volceanov A, Teleanu DM. Antioxidant Therapies for Neuroprotection—A Review. *Journal of Clinical Medicine* 2019;8:1659. <https://doi.org/10.3390/jcm8101659>.

Tinggi U. Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med* 2008;13:102–8. <https://doi.org/10.1007/s12199-007-0019-4>.

Torres-Cuevas I, Corral-Debrinski M, Gressens P. Brain oxidative damage in murine models of neonatal hypoxia/ischemia and reoxygenation. *Free Radical Biology and Medicine* 2019;142:3–15. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.011>.

Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011;50:600–13.

Tvrđá E, Benko F. Chapter 1 - Free radicals: what they are and what they do. In: Preedy VR, editor. *Pathology*, Academic Press; 2020, p. 3–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00001-9>.

Uzun Y, Dalar A, Konczak I. *Sempervivum davisii*: phytochemical composition, antioxidant and lipase-inhibitory activities. *Pharmaceutical Biology* 2017;55:532–40. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1255979>.

Vaamonde-García C, López-Armada MJ. Role of mitochondrial dysfunction on rheumatic diseases. *Biochemical Pharmacology* 2019;165:181–95. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.03.008>.

Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuča K, Musílek K. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch Toxicol* 2016;90:1–37. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1579-5>.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007;39:44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.

Vining LC. FUNCTIONS OF SECONDARY METABOLITES. <https://doi.org/10.1146/AnnurevMi44100190002143> 2003.
<https://doi.org/10.1146/annurev.mi.44.100190.002143>.

Vitek L, Bellarosa C, Tiribelli C. Induction of Mild Hyperbilirubinemia: Hype or Real Therapeutic Opportunity? *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2019;106:568–75. <https://doi.org/10.1002/cpt.1341>.

Vodošek Hojs N, Bevc S, Ekart R, Hojs R. Oxidative Stress Markers in Chronic Kidney Disease with Emphasis on Diabetic Nephropathy. *Antioxidants* 2020;9:925. <https://doi.org/10.3390/antiox9100925>.

Volpi E, Nazemi R, Fujita S. Muscle tissue changes with aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:405–10.

Wang J, Xiong S, Xie C, Markesbery WR, Lovell MA. Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* 2005;93:953–62. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03053.x>.

Weiss J m., Goode E l., Ladiges W c., Ulrich CM. Polymorphic variation in hOGG1 and risk of cancer: A review of the functional and epidemiologic literature. *Molecular Carcinogenesis* 2005;42:127–41. <https://doi.org/10.1002/mc.20067>.

Winterbourn CC, Kettle AJ. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Free Radical Biology and Medicine* 2000;29:403–9. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00204-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00204-5).

Xu G, Yang S, Meng L, Wang B-G. The plant hormone abscisic acid regulates the growth and metabolism of endophytic fungus *Aspergillus nidulans*. *Sci Rep* 2018;8:6504. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24770-9>.

Yamakura F, Kawasaki H. Post-translational modifications of superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 2010;1804:318–25. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.10.010>.

Yang Y, Bazhin AV, Werner J, Karakhanova S. Reactive oxygen species in the immune system. *Int Rev Immunol* 2013;32:249–70. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>.

Yin H, Xu L, Porter NA. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chem Rev* 2011;111:5944–72. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>.

Yoboue ED, Sitia R, Simmen T. Redox crosstalk at endoplasmic reticulum (ER) membrane contact sites (MCS) uses toxic waste to deliver messages. *Cell Death Dis* 2018;9:1–14. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0033-4>.

Yosipovitch G, Fleischer AB. Itch Associated with Skin Disease. *Am J Clin Dermatol* 2003;4:617–22. <https://doi.org/10.2165/00128071-200304090-00004>.

Yugawa K, Itoh S, Yoshizumi T, Yoshiya S, Takeishi K, Toshima T, et al. Prognostic impact of 8-hydroxy-deoxyguanosine and its repair enzyme 8-hydroxy-deoxyguanosine DNA glycosylase in hepatocellular carcinoma. *Pathology International* 2020;70:533–41. <https://doi.org/10.1111/pin.12952>.

Zadák Z, Hyspler R, Tichá A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res* 2009;58 Suppl 1:S13–7. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931861>.

Zago MP, Oteiza PI. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 2001;31:266–74. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00583-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00583-4).

Zarei M, Sarihi A, Ahmadimoghaddam D, Soltani E. Effects of Intracerebroventricular Micro-injection of Kaempferol on Anxiety: Possible GABAergic Mechanism Involved. *Avicenna Journal of Neuro Psycho Physiology* 2021;8:109–14. <https://doi.org/10.32592/ajnpp.2021.8.2.108>.

Zekri N, Amalich S, Elbelghiti MA, Touria Z. Phytochemical screening and chemical composition of essential oils and hydrosols of *Mentha* species from Morocco. *Advances in Environmental Biology* 2014;8:10–8.

Zhang Dong, Zhao M, Li Y, Zhang Dafang, Yang Y, Li L. Natural Xanthine Oxidase Inhibitor 5-O-Caffeoylshikimic Acid Ameliorates Kidney Injury Caused by Hyperuricemia in Mice. *Molecules* 2021;26:7307. <https://doi.org/10.3390/molecules26237307>.

Zhang H, Tsao R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science* 2016;8:33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>.

Zhang L, Zhao Q, Wang L, Zhao M, Zhao B. Protective effect of polysaccharide from maca (*Lepidium meyenii*) on Hep-G2 cells and alcoholic liver oxidative injury in mice. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017;99:63–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.125>.

Zhang W, Xiao S, Ahn DU. Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2013;53:1191–201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.577540>.

Zhao R, Wu Y, Zhang Y, Ling J, Liu X, Xiang J, et al. Designing anticancer combretastatin A-4 analogues with aggregation-induced emission characteristics. *Sci China Chem* 2022;65:694–8. <https://doi.org/10.1007/s11426-021-1197-4>.

Zheng Q, Chen Z-X, Xu M-B, Zhou X-L, Huang Y-Y, Zheng G-Q, et al. Borneol, a messenger agent, improves central nervous system drug delivery through enhancing blood–brain barrier permeability: a preclinical systematic review and meta-analysis. *Drug Deliv* 2018;25:1617–33. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1486471>.

Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews* 2014;94:909. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>.

Zotova NV, Zhuravleva YA, Zubova TE, Gusev EY. Integral estimation of systemic inflammatory response under sepsis. *General Physiology and Biophysics* 2020;39:13–26. https://doi.org/10.4149/gpb_2019043.

Zuo J, Tang W, Xu Y. Chapter 68 - Anti-Hepatitis B Virus Activity of Chlorogenic Acid and Its Related Compounds. In: Preedy VR, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*, San Diego: Academic Press; 2015, p. 607–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00068-1>.

Zuo J, Zhang Z, Luo M, Zhou L, Nice EC, Zhang W, et al. Redox signaling at the crossroads of human health and disease. *MedComm* 2022;3:e127. <https://doi.org/10.1002/mco2.127>.

Zuo L, Zhou T, Pannell BK, Ziegler AC, Best TM. Biological and physiological role of reactive oxygen species – the good, the bad and the ugly. *Acta Physiologica* 2015;214:329–48. <https://doi.org/10.1111/apha.12515>.

