

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de Biologie



Laboratoire :
Antibiotiques Antifongique : Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique (LapSab)

MEMOIRE

Présenté par

AMEUR SOMIA
BENABDALLAH AMINA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques, **option** : Biochimie

Thème

Etude de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques

Soutenu le 05/06/2022, devant le jury composé de :

Président	Mr AZZI Rachid	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaires : 2021-20222

Remerciement :

Nous remercions **ALLAH**, d'**avoir** nous donner le courage, et la volonté, la santé et la patience de mener à terme la présente travail.

Tout d'abord, nous sommes très reconnaissantes, à **Mme BOUALI Waffa**. Maître conférence A Au département de biologie, Université Abou Beker Belkaid-Tlemcen, d'avoir accepté de nous encadrer et de diriger ce travail, pour vos efforts, pour vos encouragements, vos conseils, votre patience tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Toutes nos gratitude s'adressent aussi à **Mr AZZI Rachid**. Professeur Au département de biologie, Université Abou Beker Belkaid-Tlemcen. Qui m'a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

J'adresse nous remercierons aussi à **Mme MAEDJDOUB Houria**. Maître de conférence B Au département de biologie, Université Abou Beker Belkaid-Tlemcen, pour vos conseils, vos aides, d'avoir accepté examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passés, vraiment un grand remerciement leurs qualités d'enseignement qui nous a été dispensé.

Dédicace

Je dédie ce travail à ma chère mère « Fatima » et mon cher père « Mouffek » grâce à leurs tendres, encouragements et leurs grands sacrifices. Merci pour pouvoir donner le meilleur

A ma sœur et mon frère

A mes nièces nourhane et Loubna

*A ma famille « AMEUR » et
« ACHOURI »*

*A mes proches et à ma belle binôme Benabdallah
AMINA*

*A mes amies qui m'ont aidé m'encourager et ont toujours été à mes côtés. Que Dieu leurs donne de la santé et de le bonheur. A tous ceux qui m'aiment
Merci.*

Somia

Dédicace

Je dédie ce travail à ma chère famille pour tous ces sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance.

A toi « MAMAN » la lumière de ma vie qui sans toi et sans le courage que tu m'as appris je n'aurai jamais pu continuer Merci pour tout que tu m'as appris et tous ce que tu m'as donné.

A mon cher père, ma plus grande force.

A mes adorables sœurs Ilham et Imene qui font de mon univers une merveille, je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mon marie qui a toujours était à mes coté, merci pour sa patience et son encouragement et sa présence.

A ma sœur et mon binôme Ameer Somia.

À toute personne chère à coté de mon cœur.

Je dédie ce travail

Amina

A toute ma promotion 2021/2022
Mater 2 BIOCHEMIE

Résumé :

Les acides aminés sont l'un des molécules biologiquement importantes qui s'assemblent pour former des chaînes peptidiques ou des protéines, comme ils sont nécessaires pour de nombreux processus métaboliques.

L'objectif de notre travail est porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques (méthionine, glycine, phénylalanine et acide glutamique) par deux techniques, la méthode de la réduction de fer FRAP et test de DPPH,

Les résultats obtenus par la méthode du FRAP montrent un pouvoir antioxydant élevé de la glycine par rapport aux autres acides aminés testés, ce dernier a été classé ainsi par la mesure de la concentration efficace la plus faible EC50, mais cette activité reste inférieure à celle la molécule de référence.

Cependant, l'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage de radical DPPH a révélé que la méthionine présente une meilleure activité avec une IC50 de 11.63 mg /ml. L'activité de la méthionine est attribuée à la présence du soufre qui peut servir d'un donneur d'électron aux radicaux libres.

Mots clés : acide aminé, DPPH, FRAP, activité antioxydante

Abstract :

Amino acids are one of the biologically important molecules that join together to form peptide chains or proteins. As they are necessary for many metabolic processes.

The objective of our work is focused on the evaluation of the antioxidant activity of some synthetic amino acids (methionine, glycine, phenylalanine and glutamic acid) by two techniques, the method of iron reduction FRAP and DPPH test,

The results obtained by the FRAP method show a high antioxidant power of glycine compared to the other amino acids tested, the latter was thus classified by measuring the lowest effective concentration EC50.

However, the evaluation of antioxidant power by the DPPH radical scavenging method revealed that methionine has better activity compared to other acids with an IC50 of 11.63 mg / ml. The activity of methionine is attributed to the presence of sulfur which can serve as an electron donor to free radicals.

Keywords : amino acid, DPPH, FRAP, antioxidant activity

ملخص:

الأحماض الأمينية هي واحدة من الجزيئات المهمة بيولوجيًا التي تتحد معًا لتشكيل سلاسل أو بروتينات الببتيد. لأنها ضرورية للعديد من عمليات التمثيل الغذائي.

الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لبعض الأحماض الأمينية الاصطناعية (ميثيونين، جليسين، فينيل ألانين وحمض الجلوتاميك) من خلال تقنيتين، طريقة ارجاع الحديد **FRAP** واختبار **DPPH** ،

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة طريقة **FRAP** قوة عالية من مضادات الأكسدة للجليسين مقارنة بالأحماض الأمينية الأخرى التي تم اختبارها، وبالتالي تم تصنيف الأخير عن طريق قياس أقل تركيز فعال **EC50**

ومع ذلك، فإن تقييم قوة مضادات الأكسدة بواسطة طريقة ارجاع الجذري **DPPH** أظهر أن الميثيونين له نشاط أفضل مقارنة بالأحماض الأخرى مع تركيز **IC** بنسبة 11.63 مجم / مل. يُعزى نشاط الميثيونين إلى وجود الكبريت الذي يمكن أن يكون بمثابة متبرع إلكتروني للجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية: حمض أميني، **FRAP**، **DPPH**، نشاط مضاد للأكسدة

La liste des abréviations :

Aa : Acide aminés

BHA : Hydroxyanisole butyle.

BHT :hydroxytoluène butyle

Do : Densité optique.

DPPH : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl.

ER : espèces réactives

ERO : les espèces réactives de l'oxygène

ERN : les espèces réactives de l'azote

ERC : les espèces réactives de chlore

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP : Pouvoir réducteur de fer.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité.

K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium.

O₂^{-•} : Anion superoxyde.

OH[•] : Radical hydroxyl.

NADPH : Nicotiamide adenine dinucleotide Phosphate.

SOD : Super oxyde dismutase.

UV : Ultra-violet.

Liste des figures :

Figure 1 : la structure générale des acides aminés	5
Figure 2 : la structure des isomère optique L et D des acides α -aminés	6
Figure 3 : l'origine des espèces réactives de l'oxygène	18
Figure 4 : les solutions utilisées dans la méthode de FRAP	25
Figure 5 : spectromètre.....	25
Figure 6 : les acides aminés avant et l'après incubation par la méthode du FRAP.....	26
Figure 7 : les acides aminés après l'incubation 30 min à 4 °C par la méthode du DPPH...	27
Figure 8 : protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des acides aminés	28
Figure 9 : structure chimique du radical libre DPPH	29
Figure 10 : structure chimique du radical DPPH et de sa forme réduit.....	29
Figure 11 : représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique ...	32
Figure 12 : graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminée glycine.....	33
Figure 13 : graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminée méthionine.....	33
Figure 14 : graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminée phénylalanine	34
Figure 15 : graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminé glutamate	35
Figure 16 :pourcentage de réduction du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	36
Figure 17 : représentation graphique de pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide aminée méthionine	37
Figure 18 : représentation graphique de pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide aminé glutamate	38
Figure 19 : représentation graphique de pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide aminée phénylalanine	38
Figure 20 : représentation graphique de pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide aminée glycine.....	39

Liste des tableaux :

Tableau 1 : l'abréviation des acides aminés	7
Tableau 2 : les propriétés des acides aminés	8
Tableau 3 : principale espèces réactive rencontrées en biologie.....	17
Tableau 4 : les valeurs d'EC ₅₀ des acides aminés étudiés et d'acide ascorbique	35
Tableaux 5 : les valeurs d'CI ₅₀ des acides aminés étudiées et d'acide ascorbique	39

Sommaire

Résumé	
Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	01
Liste des abréviations	
Introduction générale	
Première partie : La synthèse bibliographique	
Chapitre 1 : <i>les acides aminés</i>	05
1-Structure générale des acides aminés	05
1-1 Les acides aminés essentiels et non essentiels	05
1-1-1 Les acides aminés essentiels	05
1-1-2 Les acides aminés non essentiels	05
1-1-3 Les acides aminés semi essentiels	06
1-2 Stéréochimie	06
2- Les différents acides aminés	06
2-1 Nomenclatures	06
2-2 Les propriétés chimiques des acides aminés	07
3-Classifications des acides aminés	09
3-1 les acides aminés polaires	10
3-2 Les acides aminés apolaires	10
3-3 Les acides aminés basiques	10
3-4 Les acides aminés acides	10
4-Classification biochimique	10
5-Les propriétés physiques	11
5-1 La solubilité des acides aminés	11
5-2 La coloration et absorption des acides aminés	11
6-L'importance médicale et biologique de quelques acides aminés	11
7- Technique de séparation des acides aminés	13
7-1 L'électrophorèse	12
7-2 La chromatographie échangeuse d'ions	13
8- Oxydation des acides aminés	13

Chapitre 2 :Stress oxydatif	14
1-Stress oxydatif	15
2- Espèces réactives	15
2-1 Les espèces réactives de l'oxygène ERO	15
2-1-1 Généralités	15
2 -2Les radicaux libres	17
2-2-1 Définitions	17
2-2-2 L'origine des radicaux libres	18
2-2-3 Les différents types des radicaux	18
3- Les conséquences liées au stress oxydant	19
3-1 Les conséquences moléculaires	20
3-1-1 Les lipides	20
3-1-2 L'ADN	20
3-1-3 Les protéines	21
4- Les antioxydants	21
4-1 Les systèmes de défense antioxydants	21
4-1-1 Les antioxydants endogènes enzymatiques	22
4-1-2 Les antioxydants exogènes non enzymatiques	22
Deuxième partie Expérimentale	24
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes	23
1-Objectif	24
2-Matériel et solutions	24
2-1Les acides aminés synthétiques utilisés	24
2-2Les solutions utilisés et appareil	24
3-Preparation des acides aminés	25
3-1Méthode de FRAP	25
3-2Méthode de DPPH	26
4-Evaluation de l'activité antioxydante des acides aminés par la méthode FRAP et DPPH	27
a-Principe de méthode de FRAP	28
b-Mode opératoire	28
c-Principe de méthode de DPPH	29
d-Préparation de solution	29
Chapitre 4 : Résultats et Interprétation	31

1-Réduction de fer	32
1-1 L'effet de l'acide ascorbique sur la réduction de Fer	32
1-2 L'effet de l'acide aminé glycine sur la réduction de Fer	33
1-3 L'effet de l'acide aminé méthionine sur la réduction de Fer	33
1-4 L'effet de l'acide aminé phénylalanine sur la réduction de Fer	34
1-5 L'effets de l'acide aminé glutamate sur la réduction de Fer	35
2-Test de piégeage du radical DPPH	36
2-1 L'effet de l'acide ascorbique sur la réduction du radical libre DPPH	36
2-2 L'effet de l'acide aminé la méthionine sur le pourcentage de réduction du DPPH	37
2-3 L'effet de l'acide aminé le glutamate sur la réduction du radical du DPPH	38
2-4 L'effets de l'acide aminé la phénylalanine sur la réduction du radical du DPPH	38
2-5 L'effets de l'acide aminé glycine sur la réduction du radical du DPPH	39
Discussion	41
Conclusion Générale	45
Références bibliographiques	47

Introduction générale

Les acides aminés sont une classe de biomolécules importantes (**Maloy, 2013**) qui jouent un rôle crucial dans la structure, le métabolisme et la physiologie des cellules de tous les êtres vivants connus, en tant que des constituants des peptides et des protéines; chaque acide aminé confère à la protéine des propriétés chimiques spécifiques (**Berrat, 2019**).

Le stress oxydatif encore appelé stress oxydant est un déséquilibre de la balance peroxydant/antioxydant en faveur des pro-oxydants qui entraîne les dommages oxydatifs des biomolécules (**Cillard, 2011**) et implique la production d'espèces réactives de l'oxygène(ERO) (**Pelletier et al., 2004**). Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ERO dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies parmi lesquelles nous pouvons citer les arthrose, l'asthme, le cancer, le diabète, les maladies cardiaques ; l'athérosclérose (**Haleng et al., 2007**).

Le terme d'espèces réactives de l'oxygène est préféré à celui de radicaux libres puisque le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre. La réactivité chimique des radicaux libres de l'oxygène est variable selon la molécule considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxynitrite (**Puppo et Halliwell, 1988**).

Pour se protéger des effets nuisibles des espèces réactives de l'oxygène notre corps a besoin de sources d'antioxydants qui sont des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant (**Iserin et al., 2001**).

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet antioxydant de quelques acides aminés ; à savoir la réduction du DPPH, le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

Pour cela, notre étude englobe deux parties :

- ✓ La première partie est d'ordre théorique divisée en deux chapitres ; nous aborderons dans le premier des données générales sur les acides aminés, le deuxième chapitre est réservé aux stress oxydant, les espèces réactives de l'oxygène, les radicaux libres et les antioxydants et leurs classifications
- ✓ La deuxième partie est une étude expérimentale qui repose sur évaluation de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques (méthionine, glycine, phénylalanine, acide glutamique) par l'application de deux méthodes, la méthode de réduction du fer (FRAP) et le test de piégeage du DPPH.
- ✓ Finalement, la dernière partie est consacrée pour une conclusion générale

Première Partie:
Synthèse Bibliographique

Chapitre 1
Les acides aminés

1. Structure générale des acides aminés

Un acide aminé est un composé bi fonctionnel comportant un groupe carboxylique –COOH et un groupe amine –NH₂ (Goudet&Yindoula, 2008).

Chaque molécule contient un atome de carbone asymétrique(C), appelé le carbone α auquel sont attachés à la fois un groupe amine et un groupe carboxyle. Les deux liaisons restantes de l'atome de carbone α sont généralement satisfaites par un atome d'hydrogène et le groupe R (Reddy, 2022).Le groupe R est la seule caractéristique unique de chaque acide aminé (une exception mineure à cette structure est celle de la proline, dans laquelle l'extrémité du groupe R est attachée à l' α -amine), à l'exception de la glycine, qui a un groupe R constitué d'un atome hydrogène (Ahern et al., 2021) .



Figure 1 : La structure générale des acides aminés(Marques, 2013)

1.1 Les acides aminés essentiels et non essentiels

1.1.1 Les acides aminés essentiels

Les acides aminés sont qualifiés d'essentiels lorsque ces derniers ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme seul et qui doivent être apportés par l'alimentation ou bien la supplémentation. Ils sont d'avantage présents dans les sources de protéines (Guillaume, 2022)

Chez l'homme, on compte neuf acides aminés essentiels : le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine et l'histidine (Quéré, 2022)

1.1.2 Les acides aminés non essentiels

Les acides aminés non essentiels peuvent être synthétisés dans le corps (John & hall, 2021), qui n'est donc pas essentiel à l'alimentation humaine, il s'agit de : alanine, arginine,

asparagine, acide aspartique, cystéine, acide glutamique, glutamine, glycine, proline, sérine et tyrosine (Davis, 2021).

1.1.3 Les acides aminés semi essentiels

Il existe deux acides aminés, l'histidine et l'arginine sont dits semi-essentiels car seuls les nourrissons ont besoin d'un apport exogène (Yahiaoui et Zitouni, 2018).

L'arginine est un acide aminé semi essentiel car sa synthèse endogène est insuffisante pour permettre la croissance chez les mammifères et un apport exogène est nécessaire (Virginie et Richard, 2011).

1.2 Stéréochimie

Une des caractéristiques principales des acides aminés, plus précisément α -acide aminés, est de posséder un atome asymétrique, c'est-à-dire un atome de carbone avec quatre substituants différents. Deux isomères, appelés dans ce cas énantiomères, sont possibles comme illustré ci-dessous (figure 2). Les formes chirales L et D pour lévo (gauche) et dextro (droit) proviennent de leur propriété de faire tourner la lumière polarisée à gauche ou à droite (d'où le terme d'isomérisation optique). Les acides aminés L sont aussi appelés les acides aminés S dans la nomenclature de Cahn-Ingold-Prelog (à l'exception de la L-cystéine qui est classée dans la série R) mais, comme dans le cas des glucides, la nomenclature D, L est préférée dans le monde des acides aminés. Les acides aminés D (ou R), sont également présents dans la nature mais de façon moins abondante (Werner *et al.*, 2010).

Tous les acides aminés entrant dans la composition des protéines sont de la série L (Fergani, 2018).

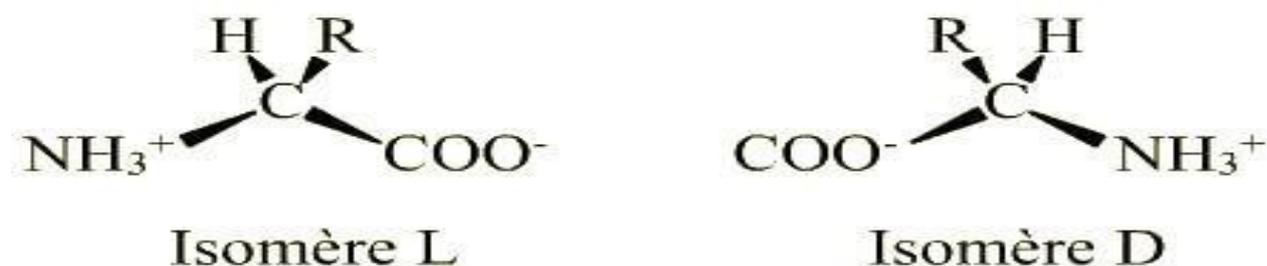


Figure 2 : La structure des isomères optiques L et D des acides α -aminés (Gilles, 2006).

2. Les différents acides aminés

2.1 Nomenclatures

Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés. Cependant, on constate que chez l'Homme, comme chez de nombreuses espèces, seuls vingt acides aminés différents sont incorporés dans les protéines lors de la traduction (**Giles,2006**); et les autres, que l'on trouve soit à l'état libre soit dans des peptides synthétisés par des microorganismes ou des végétaux(**Djarmouni,2017**).

Pour plus de commodité, les acides aminés ont un nom ainsi qu'un code monomérique à trois lettres ou à une lettre (**Blaber, 2020**). Les codes sont représentés dans la liste ci-dessous (tableau 1). Les acides aminés sont caractérisés par la même structure de base, mais ils diffèrent par la nature et les propriétés du radical R fixé sur le carbone (**Gilles, 2006**).

Tableau 1 : L'abréviation des acides aminés :(**Paclet,2015**)

Nom	Code à 1 lettre	Code à 3 lettres
Alanine	A	Ala
Arginine	R	Arg
Acide aspartique	D	Asp
Asparagine	N	Asn
Cystéine	C	Cys
Glutamine	Q	Gln
Acide glutamique	E	Glu
Glycine	G	Gly
Histidine	H	His
Isoleucine	I	Ile
Leucine	L	Leu
Lysine	K	Lys
Méthionine	M	Met
Phénylalanine	F	Phe
Sérine	S	Ser
Thréonine	T	Thr
Tryptophane	W	Trp
Tyrosine	Y	Tyr
Valine	V	Val

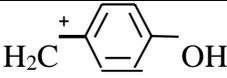
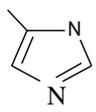
2.2 Les propriétés chimiques des acides aminés

Les propriétés chimiques sont dues à l'existence d'un groupe carboxyle, d'un groupe amine, et à la structure de radical R (**Kamoun, 2022**). Quelques informations pour chacun des vingt acides aminés notamment : la nature de la chaîne latérale et quelques remarques sur les propriétés associées sont représentées dans la liste ci-dessous (tableaux 2) (**Gilles, 2006**).

Les acides aminés sont des ampholytes. Ils peuvent exister sous différents états ionique en solution aqueuse, selon la valeur du pH (**Mayer Rouge & Mayer Rouge, 2012**).

Tableau 2 : Les propriétés des acides aminés (**Garret & Grisham, 2000 ; Seve, 2012**)

Nom	R	Pka du COOH	Pka du NH ₃ ⁺	Pka de la fonction acide de R	Pi	Caractéristiques
Glycine	H	2.3	9.6	–	6.0	Synthèse des purines, acides nucléique, porphyrine, créatine, Glutathion, sels biliaires.
Avec un groupe alkyle						
Alanine	CH ₃	2.3	9.7	–	6.0	Synthèse des purines, acides nucléique, porphyrine, créatine, Glutathion, sels biliaires.
Valine	CH(CH ₃) ₂	2.03	9.6	–	6.0	Métabolisme du muscle, croissance et réparation des tissus.
Leucine	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2.4	9.6	–	6.0	AA aminés essentiel dans l'alimentation chez l'homme
Isoleucine	CH ₃ CHCH ₂ CH ₃ (S)	2.4	9.6	–	6.0	AA aminés essentiel dans l'alimentation chez l'homme
Phénylalanine	H ₂ C 	1.8	9.1	–	5.5	AA aminés essentiel dans l'alimentation chez l'homme
Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2.0	10.6	–	6.3	Pas de rigidité, elle joué un rôle dans les structure protéique.
Avec fonction hydroxyle						
Sérine	CH ₂ OH	2.2	9.2	–	5.7	Site de

						phosphorylation dans nombreuse protéines.
Thréonine	$C_4H_9NO_3$	2.1	9.1	–	5.6	AA essentiel dans l'alimentation.
Tyrosine	H_2C^+  OH	2.2	9.1	10.1	5.7	AA essentiel dans l'alimentation
Avec fonction amine						
Asparagine	O \parallel $H_2C^+ - CNH_2$	2.0	8.8	–	5.4	Importance dans le système nerveux
Glutamine	O \parallel $H_2CH_2 - CNH_2$	2.2	9.1	–	5.7	AA le plus abondant chez l'homme
Lysine	$(CH_2)_4NH_2$	2.2	9.0	10.5	9.7	AA essentiel dans l'alimentation
Arginine	$C_6H_{14}N_4O_2$	2.2	9.0	10.5	9.7	AA essentiel dans l'alimentation
Tryptophane	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	2.8	9.4	–	5.9	AA essentiel dans l'alimentation
Histidine	H_2C^+ H 	1.8	9.2	6.1	7.6	Le groupement imidazole est ionisable .Aa essentiel dans l'alimentation.
Avec fonction sulfure						
Cystéine	CH_2SH	2.1	10.3	8.2	5.1	AA non essentiel dans l'alimentation.
Méthionine	$CH_2CH_2SCH_3$	1.9	9.6	3.7	2.8	Ne forme pas de pont disulfure. Aa essentiel dans l'alimentation
Avec fonction carboxylique						
Acide aspartique	CH_2COOH	1.9	9.6	3.7	2.8	Aa essentiel dans l'alimentation.
Acide glutamique	CH_2CH_2COOH	2.2	9.7	3.4	3.2	Aa non essentiel dans l'alimentation

3. Classifications des acides aminés

Les acides aminés peuvent être classés en quatre groupes généraux en fonction des propriétés du groupe R : les acides aminés peuvent être : **(Bailey,2019)**

- Polaires qui sont hydrophiles.
- Non polaires qui sont hydrophobes
- Chargés positivement
- Chargés négativement

3.1 Les acides aminés polaires

Les acides aminés hydrophiles sont un type d'acides aminés de nature polaires le nom « hydrophile » vient attirer l'eau, c'est à dire ils peuvent se dissoudre dans l'eau.

Les acides aminés hydrophiles contiennent soit une courte chaîne latérale, soit une chaîne latérale avec un groupe hydrophile, habituellement ces acides aminés se trouvent à la surface des molécules de protéines. Parmi ces acides aminés hydrophiles : sérine, thréonine, cystéine, asparagine, glutamine, tyrosine **(Madhu, 2018)**.

3.2 Les acides aminés apolaires

Les chaînes latérales de ces acides aminés sont hydrophobes et incapables de former des liaisons électrostatiques ou de réagir avec de l'eau. Les acides aminés de cette catégorie sont l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine et la méthionine. Les chaînes latérales des acides aminés non polaires sont généralement dépourvues d'oxygène et d'azote **(Karp, 2010)**.

3.3 Les acides aminés basiques

Bases contenant de l'azote avec une charge nette positive à pH neutre **(Blaber, 2020)**. Ce groupe comprend trois composés : lysine, arginine et histidine. À un pH supérieur à leur pKa, les chaînes latérales sont non chargées, à un pH inférieur à leur pKa, les chaînes latérales de la lysine, arginine et histidine acceptent un proton et sont chargées positivement **(Foulquier, 2001)**, il est faux de supposer que l'histidine est toujours protonée à des pH typiques. La chaîne latérale a un pKa d'environ 6.5, ce qui signifie que seulement 10% environ de l'espèce sera protonée **(Betts & Russell, 2003)**.

3.4 Les acides aminés acides

Le radical peut comporter une fonction acide carboxylique, comme dans le cas d'acide aspartique et de l'acide glutamique. Au pH physiologique (pH=7), l'acide aminé est chargé

négativement, (la charge – du radical s'ajoute à la charge – de la fonction –COOH du C- α) et forme l'aspartate ou le glutamate (Segarra et al., 2014).

4. Classification biochimique

Les acides aminés peuvent être groupés en fonction de la nature de leur chaîne latérale (Sève, 2012).

- Les acides aminés aliphatiques avec une chaîne latérale linéaire ou ramifiée elle comprend : glycine, alanine, valine, leucine et isoleucine.
- les acides aminés aromatiques qui contiennent un groupe aromatique. Il s'agit de phénylalanine, tryptophane et tyrosine
- Les acides aminés dicarboxyliques qui contiennent un groupe carboxyle ce groupe comprend l'aspartate et glutamate.
- Les acides aminés dibasiques contiennent une fonction amine. Il s'agit de la lysine, l'histidine et l'arginine.
- Les acides aminés alcools contiennent une fonction alcool. Il s'agit de serine et thréonine
- Les acides aminés soufrés qui contiennent un atome de soufre. Ce groupe comprend deux acides aminés cystéine et la méthionine.
- Groupes iminoacide, l'amine de l'acide aminé est une amine secondaire (imine). Il s'agit de la proline (Boukaboul, 2020)

5. Les propriétés physiques

5.1 La solubilité des acides aminés

La solubilité varie en fonction des acides aminés et en fonction de la polarité de la chaîne latérale, glycine, Alanine bien solubles alors que Leucine, cystéine et faiblement solubles (Jean-Louis, 2008).

Elle diminue avec le nombre d'atomes de carbone du radical et augmente si ce radical porte la fonction polaire NH₂, COOH ou OH (Assaoui, 2016).

5.2 La coloration et absorption des acides aminés

Les acides aminés n'absorbent pas dans le visible, il y a trois acides aminés absorbent dans l'UV : la phénylalanine à 260nm, la tyrosine et le tryptophane à 280nm. Cette propriété d'absorption lumineuse due à la présence dans la molécule d'un noyau aromatique, elle est utilisée pour l'évaluation quantitative des protéines (Besbes, 2021)

6. L'importance médicale et biologique de quelques acides aminés

✓ Glycine :

Un acide aminé impliqué dans des nombreuses fonctions biologiques importantes de notre organisme. La glycine est le principal neurotransmetteur inhibiteur de système nerveux central (cerveau et la moelle épinière). Un antioxydant qui joue un rôle très important dans la protection de notre organisme contre les pathologies liées au stress oxydatif (**Bertrand, 2022**).

✓ Phénylalanine :

Un acide aminé essentiel, il entre dans la composition de nombreuses protéines. La phénylalanine a plusieurs rôles notamment au niveau du système nerveux (**Thomas, 2020**).

✓ Méthionine :

Un acide aminé indispensable d'en apporter en quantité suffisante pour maintenir un bon état de santé, essentiel, se trouve dans les produits animaux en majorité (viande, poisson, produits laitiers). Nécessite la présence de la vitamine B12 peut être synthétisée et assimilée, protégée le foie, permet la synthèse poétique, souvent utilisée chez le sportif ou pour ses propriétés antioxydants (**Lefebvre & Zubiria, 2018**).

✓ Acide glutamique

Le glutamate est un acide aminé indispensable à la vie, additif alimentaire de l'industrie (on le trouve dans les tomates ou le parmesan), nom essentiel et donc un des constituants des protéines, il est synthétisé par l'organisme et utilisé dans le cerveau comme un neurotransmetteur entre les cellules nerveuses (**Heimedinger, 2021**).

7. Technique de séparation des acides aminés

7.1 L'électrophorèse

L'électrophorèse est une technique séparative. Elle est utilisée le plus souvent dans le but analytique mais également parfois pour purifier des molécules solubles. Elle n'est donc pas appropriée pour la séparation des lipides, le principe consiste à soumettre un mélange de molécules à un champ électrique ce qui entraîne la migration des molécules chargées (**Gilles, 2009**). Une électrophorèse peut se faire dans un milieu liquide ou bien sur un support.

Dans le cas de la séparation des acides aminés cela se pratique en générale sur un support, souvent une feuille de papier buvard (cellulose) ou sur l'acétate de cellulose. À un pH donné du milieu d'électrolytes, tamponnés, les sens et la vitesse de migration des acides aminés dépendent de leur état d'ionisation. Si la valeur de leur pH correspond au pH tampon, donc les acides aminés sont sous la forme électroneutre (zwitterionique) et ne migreront pas (immobilisés au niveau de dépôt). Si la valeur de leur pH est inférieure au pH du tampon. Les acides aminés sont souvent sous la forme électronégative et migrent vers l'anode (+). En revanche, si la valeur de pH est supérieure au pH du tampon dans ce cas les acides aminés se trouvent sous la forme d'électropositive et migrent vers la cathode (-). Dans les deux dernières conditions, leur vitesse de migration est d'autant plus grande que leur charge est élevée en valeur absolue. Après la migration, les spots d'acides aminés sont très élevés à la ninhydrine (Norbert et al., 2014).

7.2 La chromatographie échangeuse d'ions

Dans cette technique, le paramètre qui va permettre la séparation des différents constituants est la charge nette. Pour cela on utilise des résines chargées positivement (chromatographie échangeuse d'anions) ou négativement (chromatographie échangeuse de cations) (Ali & Gilles, 2012).

Dans le cas d'un mélange d'acides aminés déposés sur une colonne échangeuse d'ions, les acides aminés sont élués de la colonne en fonction de leur pI (point isoélectrique) et du pH du milieu.

L'ordre de sortie des acides aminés suit l'ordre croissant du point isoélectrique, c'est-à-dire acides aminés acides, neutres et basiques. Cette technique permet de confirmer la composition qualitative et quantitative en acides aminés d'une protéine (sans en connaître la séquence) et donc de déterminer la masse moléculaire de la protéine ou du polypeptide (Norbert et al., 2014).

8. Oxydation des acides aminés

Les acides aminés ou leurs radicaux carbonés peuvent être les précurseurs de composés biologiquement actifs (Université Médicale Virtuelle Francophone, 2011). Les acides aminés possèdent des susceptibilités différents vis-à-vis des espèces oxygénées activées EOA (Haleng & al., 2007).

Les cibles majeurs sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) basiques (arginine, histidine, lysine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane). Citons par exemple la cystéine dont les oxydations réversibles jouent un rôle important dans la régulation de la fonction des nombreuses protéines (**Finkel, 2000**).

Chapitre 2
Stress oxydatif

1-Stress oxydatif

Le stress oxydatif est généralement défini comme un déséquilibre entre le système oxydatif et la capacité antioxydante d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress, qui est avant tout une réponse aux modifications des conditions habituelles de la vie cellulaire (Barouki, 2006).

Le stress oxydant induit par les ERO qui se forment dans nos cellules a été longtemps considéré comme à l'origine de dommage associé à des pathologies (Cillard, 2011).

Ainsi de point de vue mécaniste, le stress oxydatif peut être défini comme une perturbation de la signalisation et du contrôle redox (Jones, 2006).

Ce déséquilibre peut être induit de manière réglementaire en activant le système de production d'ERO. Les réponses antioxydantes peuvent alors compenser efficacement cette production, et ce déséquilibre est temporaire. En revanche, dans certaines pathologies (cancer), la production d'ERO est plus importante et plus longue, et la réponse antioxydante est insuffisante. Ce déséquilibre est permanent. Cette perturbation de l'homéostasie redox peut avoir plusieurs origines : stress exogène (facteurs environnementaux pro-oxydants), intoxication aux métaux lourds, radiations, carences en antioxydants dans l'alimentation, ou encore anomalies génétiques (Migdale & serres, 2011).

2. Espèces réactives

Les espèces réactives (ER) sont des atomes ou molécules générées par voie enzymatique ou par des interactions chimiques.

Il existe trois familles des espèces réactives : les espèces réactives de l'azote (ERN), les espèces réactives de chlore (SRC) et les plus communes, les espèces réactives de l'oxygène ERO (Hamma *et al.*, 2015).

2.1 Les espèces réactives de l'oxygène ERO

2.1.1 Généralités

A l'exception de certains organismes anaérobies et aérobies, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de la chaîne de transport d'électron telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes à la cour de l'évolution.

L'adaptation des espèces vivantes à l'oxygène s'est traduit par l'apparition d'enzymes facilitant non seulement sa consommation, mais également la détoxification de ses métabolites réduits que sont le radical superoxyde O_2^- et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . ces

espèce sont appelées espèce réactives de l'oxygène (ERO) car elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même (Gard-Albert *et al.*, 2003).

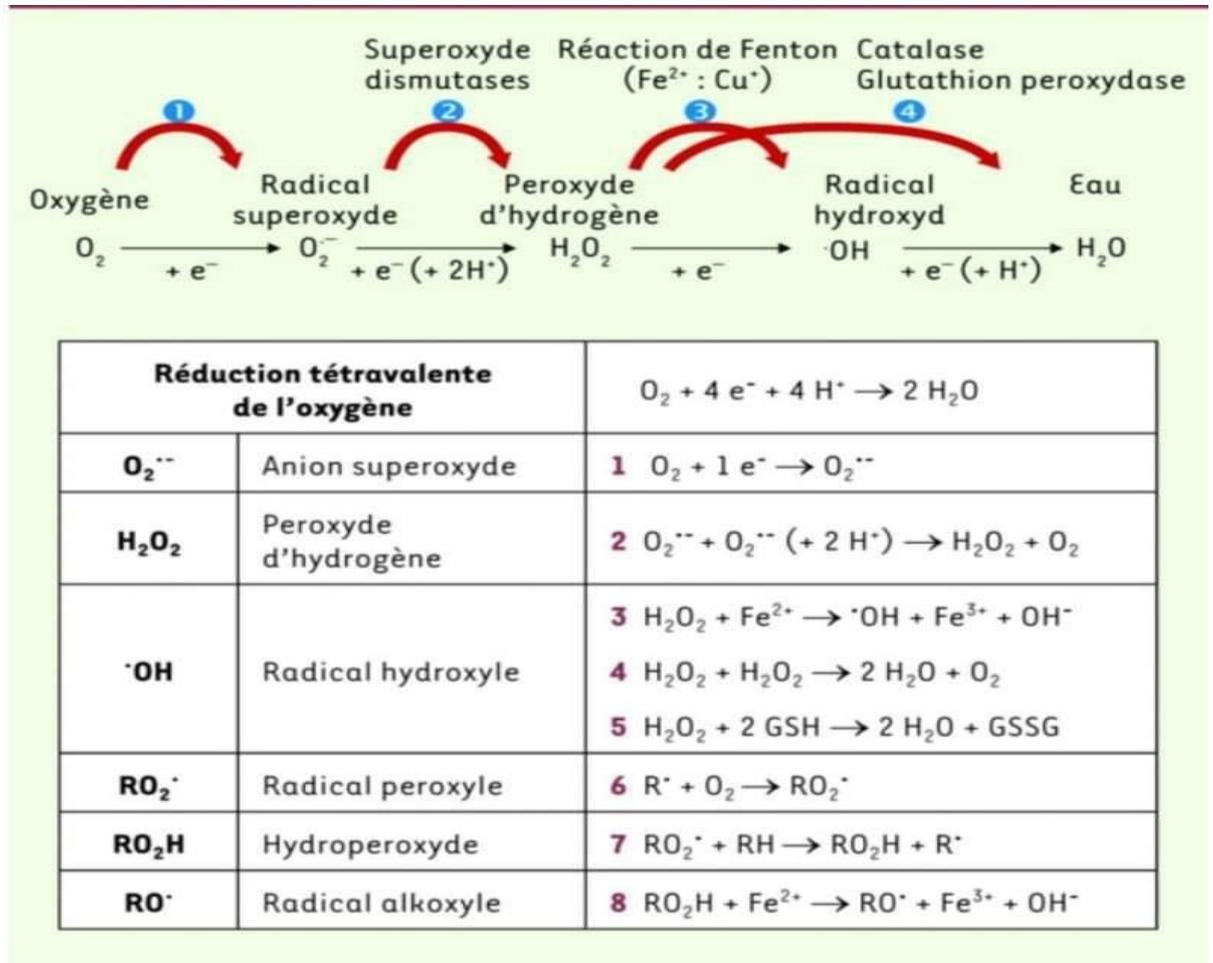


Figure 3 : L'origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal & Serres, 2011).

1-La première réduction de l'oxygène, une consommation d'environ 2 % d'oxygène au niveau de la mitochondrie en radicaux superoxyde $O_2^{\bullet-}$ (1).

2-La production des radicaux superoxydes par les superoxydesdismutase (SDS), qui catalyse leur dismutation en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (2).

3-Le peroxyde d'hydrogène donnent naissance au radical hydroxyle $\bullet OH$ via des réactions de type « réaction de Fenton » Le glutathion possèdent un pouvoir réducteur fort et peut chélater les ions Cu^{2+} et ainsi limiter leur participation à la génération d'ERO par les réactions de Fenton (3).

4-La régulation de la quantité de peroxyde par l'enzyme himnique catalase (CAT) qui accélère sa dismutation (4).

5-La glutathion peroxydase (GPx) qui catalyse sa réduction par le glutathion (5).

6-Il existe des ERO secondaires comme les radicaux peroxydes RO_2^{\bullet} (6), les hydroperoxydes RO_2H (7) et les radicaux alkyles RO^{\bullet} (8).(Migdal&Serres,2011).

Tableau 3 :Principales espèces réactives rencontrées en biologie(Strobel *et al.*, 2011; Gardés-Albert, 2006)

Symbole	Nom	Concentration (M)	Demi-vie (37°C) (s)
O_2	Superoxyde	10-12 à 10-11	Enzymatique*
OH	Hydroxyle	-	10^{-9}
$ONOO$	Peroxynitrite	10^{-9} à 10^{-7}	10^{-9}
NO	Monoxyde d'azote	-	1 à 10
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	10^{-9} à 10^{-7}	Enzymatique*

* les demi-vies du radical superoxyde et du peroxyde d'hydrogène varient en fonction de l'activité enzymatique des enzymes assurant leurs métabolismes.

2.2 Les radicaux libres

2.2.1 Définitions

Un radical libre est une molécule dont un ou plusieurs électrons sont célibataires sur l'orbitale externe d'un ou plusieurs ses atomes (Bellik, 2020).

Notre corps forme ou acquiert ces molécules (Saudi, 2017) qui interviennent ensuite dans diverses réaction chimique, lorsque notre organisme généré une superproduction de radicaux libres que nous ne pouvons pas détruire progressivement, cela crée le stress oxydatif (Pham-huy *et al.*,2008).

2.2.2 L'origine des radicaux libres

Il existe plusieurs, facteurs qui contribuent à la production de radicaux libre .le mode de vie, le stress et l'environnement favorisent la formation excessive de radicaux libres, qui a pour conséquence la production de stress oxydatif (**Migdal & serres, 2011**).

La consommation d'alcool (**Albano, 2006**) un taux de sucre élevé dans le sang (**Marfella et al., 2001**), une consommation excessive d'antioxydant ou un déficit en antioxydants (**Rahal et al., 2014**).

2.2.3 Les différents types des radicaux

Il existe trois types différents des radicaux libres :

- **Radicaux superoxydes** (O_2^-) : un radical libre chargé négativement, de durée de vie extrêmement courte ; capable de provoquer des réactions d'oxydations dans les cellules et dans les lipides membranaires (**dictionnaire médicale de l'académie de médecine, 2022**) ; sont formés par la capture d'un électron par la molécule d'oxygène (**Michel, 2012**).

L'ion superoxyde peut être formé par différents mécanismes : soit au cours du métabolisme normal de l'oxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale, soit par la voie enzymatique (NADPH) ou encore par des réaction d'auto-oxydation non enzymatiques (**Stéphane et al., 2017**).

- **Radicaux hydroxyles** (OH^-) : le radical hydroxyle est une molécule composée d'un atome d'oxygène et d'hydrogène possédant un électron non appariés (électron célibataire) sur son couche externe (**Françoise et al., 2009**). Est l'oxydant le plus puissant des ERO avec un constant de vitesse élevée ; est une espèce qui réagit avec des substrats sur son lieu de production et a une très faible durée de vie, OH peut oxyder un substrat selon trois modes d'action : arrachement d'un électron, arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique ou addition sur une double liaison (**Migdal & serres, 2011**).

- **Monoxyde d'azote (NO)** : c'est un radical très diffusible, liposoluble et dont la durée de vie est courte (6). Le NO favorise la défense immunitaire, ce qui fait de lui un radical libre très important dans l'organisme (**Gómez, 2006**).

Les radicaux libres peuvent également être classés selon la typologie suivante (**Venereo&Justo, 2022**) :

- **Radicaux libres primaires** : ils sont formés par le transfert d'électrons à l'atome d'oxygène. Ils se caractérisent par une durée de vie moyenne très courte.
- **Radicaux libres secondaires** : ce sont ceux formés par le transfert d'un radical primaire à un atome d'une molécule organique ou par la réaction de deux radicaux primaires entre eux. Ils se caractérisent par une durée de vie moyenne plus longue que celle des radicaux libres primaires.
- **Intermédiaires stables des radicaux libres** : ce sont des molécules stables qui ne sont pas des radicaux, mais à partir desquelles ceux-ci sont formés(**Avello & Suwalsky, 2006**).

3. Les conséquences liées au stress oxydant

La variété des conséquences médicales de stress n'a rien de surprenant car en fonction des pathologies celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particulières par exemple des différents espèces radicalaires. Le stress oxydant cause des maladies qui apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production des radicaux mitochondriaux.

Avec l'apparition des particules biologiques anormale et surexpression de certains gènes, le stress oxydant sera la cause majeure de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale

Amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, les relations entre le stress oxydant et le cancer s'apparaissent avec les radicaux libres qui interviennent dans l'activation des pro-carcinogènes et carcinogènes créant les lésions d'ADN et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur.

Ce stress est un des facteurs qui stimule l'apparition de maladies plurifactorielles comme le diabète, l'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, des (**Favier, 2003**), maladies causées par les radicaux libres induites par des anomalies d'un gène antioxydant et

Des maladies neurologiques de la sclérose latérale amyotrophique (SLA) par mutation de la CuZn superoxyde dismutase

3.1 Les conséquences moléculaires :

3.1.1 Les lipides :

Les lipides, principalement leurs acides gras polyinsaturés cible privilégiés pour l'attaque des radicaux hydroxyles, ont la capacité à extraire l'hydrogène du carbone entre deux doubles liaisons, un radical diène se forme conjugués oxydés en radicaux pyroxyde, cette réaction est appelée la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**).

3.1.2 L'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de tout l'organisme produit chimique biologique qui est une molécule très sensible facilement attaqué par les radicaux libres d'oxygène. Au moins, cinq grandes catégories de dommages oxydatifs induits par $\text{OH}\cdot$ peut être généré parmi eux : les oxydes alcalins, site abasique, adduit intra-chaîne, casus- ressources pour les brins et les ponts ADN-protéine. Les bases qui composent l'ADN en particulier la guanine sont sensibles à l'oxydation. Les attaques agressives peuvent être conduites directement à l'oxydation de la base ce qui entraîne un grand nombre de bases modifiées : 8 oxo guanines ,8 groupements

nitro guanine, forme amidepyrimidine, 8-oxoadénine, carboximide uracile, 5-hydroxycytosine, 5-hydroxyméthyluracile, thymidinediol, oxazolone(**Favier, 2003**).

3.1.3 Les protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées.

Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, antienzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome. Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation des zones hydrophobes centrales. Elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas, associés aux lipides, forment les dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (**Favier, 2003**).

4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules naturellement présentes dans nombre d'aliments et qui ont pour fonction de capter les radicaux libres (**André, 2021**).

Ils aideraient nos cellules à vieillir moins vite et protégeraient notre organisme des maladies cardiovasculaires, inflammatoires et du cancer, les maladies de Parkinson et d'Alzheimer ou les maladies liées à la pollution ainsi qu'à la toxicité de notre alimentation (**Elodie, 2016**).

4.1 Les systèmes de défenses antioxydants

Les systèmes de défense qui permettent de réguler la production de ERO ou de neutraliser les oxydants, ces systèmes de défense sont enzymatique ou non enzymatique (**Collard, 2010**).

4.1.1 Les antioxydants endogènes enzymatiques

Les antioxydants endogènes sont synthétisés dans les cellules et comprennent à la fois les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Les principaux antioxydants enzymatiques sont le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (CAT) (**Powers & Jackson, 2018**). Et il comprend des protéines (ferritine, transferrine, albumine) et le système de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (**Haleng et al., 2007**).

4.1.2 Les antioxydants exogènes non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces ingrédients ne sont pas synthétisée par le corps humain et doit être apporté par l'alimentation, dans cette système de défense on retrouve des oligo-éléments, du glutathion réduit (GSH), de l'ubiquinone, cytochrome C et vitamines E et C (**Garait, 2006**), des antioxydants de synthèse Le butylhydroxyanisole (BHA) (E320) et le butylhydroxytoluène (BHT) (E321) qui sont les antioxydants synthétiques les plus utilisé dans l'industrie agroalimentaire.

Ces deux additifs sont insolubles dans l'eau mais ont une bonne solubilité dans les milieux lipidiques.

Ils sont stables dans les conditions opératoires de la plupart des procédés industriel ; ils sont volatils et donc facilement entraînés à la vapeur d'eau ; ils peuvent agir en synergie avec les galates et l'acides citrique (**hamza Karray, 2013**).

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques, en utilisant les tests de réduction du fer (FRAP) et le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle le test de piégeage (DPPH).

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire des biochimies de la faculté des sciences de la nature et de vie SNV, Université de Tlemcen.

2. Matériel et solutions

2.1. Les acides aminés synthétiques utilisés

- ❖ Acide glutamique
- ❖ Glycine
- ❖ Méthionine
- ❖ Phénylalanine

2.2 Les solutions utilisées et appareil

- + Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$
- + Tampon phosphate (0.2 M ; pH=6.6)
- + Acide trichloracétique TCA (10%)
- + Chlorure ferrique ($FeCl_3$)
- + 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle(DPPH)
- + Ethanol C_2H_5OH
- + Méthanol CH_3OH
- + Spectromètre



Figure 4 : Les solutions utilisées dans la méthode de FRAP

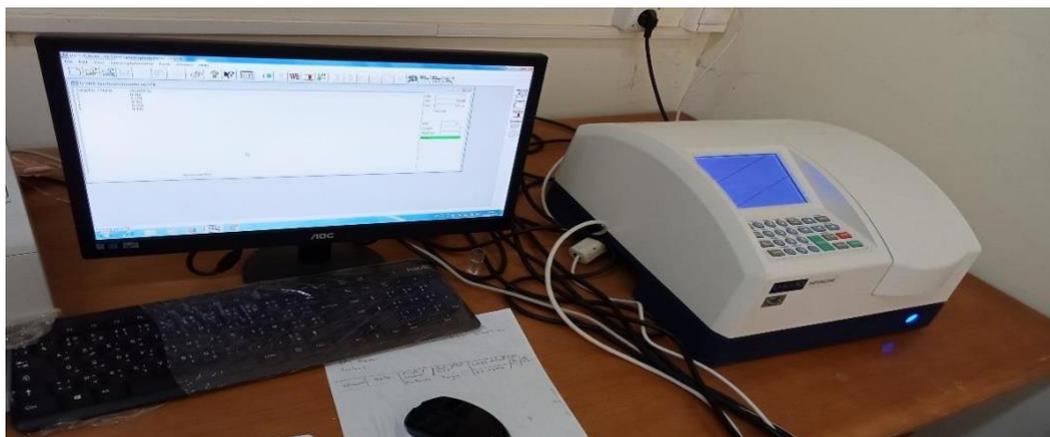


Figure 5 : Spectromètre

3. Préparation des acides aminés

3.1 Méthode de FRAP :

On a pris 0,3 g de chaque acide aminé avec 6000 μ l l'eau distillé, à l'exception de la phénylalanine on a pris 0,3g d'AA avec 3000 μ l l'eau distillé et 3000 μ l d'acétone.



Figure 6 : Préparation les acides aminés avant et après l'incubation

3.2 Méthode de DPPH

On a pris 0,75 g de chaque acide aminé avec 15 ml d'éthanol ou méthanol (selon les solubilisations des acides aminés).

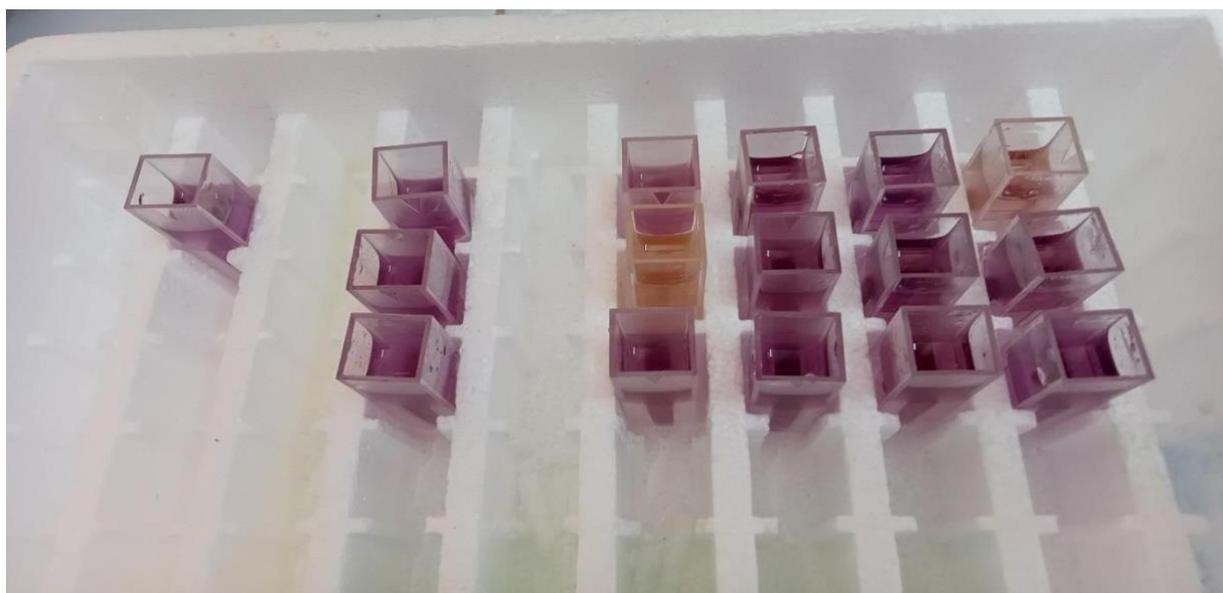


Figure 7 : Les acides aminés après l'incubation 30 min à 4 °

4. Evaluation de l'activité antioxydante des acide aminés par la méthode FRAP et DPPH :

4.1. Principe de méthode de FRAP :

Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique initialement jaune, se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de coloration est proportionnel à l'activité antioxydante (**Hama et al.,2019**)



Mode opératoire :

0,2 ml de l'acide aminés à différentes concentration (5 ; 4 ; 3 ; 2 ; 1 mg/ml) est mélangé avec 0,5 ml de la solution tampon phosphate et 0,5 ml de ferricyanure du potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 min.

Après l'incubation 0,5 ml d'acide trichloracétique sont ajoutés à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (remarque : cette dernière étape ne peut pas être nécessaires).

0,5 ml de surnageant sont mélangés avec 0,5 ml d'eau distillée et de 0,1 ml de chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectromètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'acide aminé par l'eau distillé

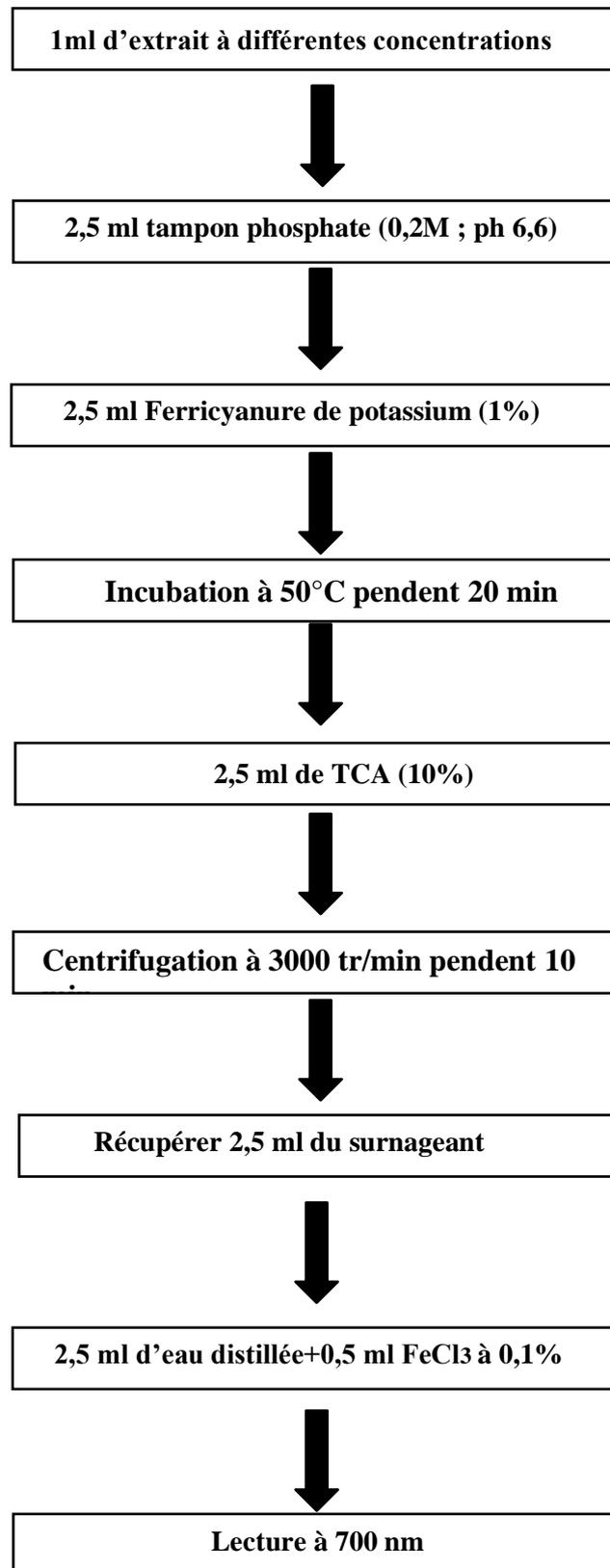
Protocole :

Figure 8 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur FRAP (Rohman et al., 2010).

4.2. Principe de méthode DPPH

Le radical DPPH est une molécule stable soluble dans le méthanol caractérisée par sa couleur violet forcé (Emmanuel, 2021).

En présence d'un antioxydant, le DPPH se transforme plus au moins rapidement en diphenyl picéylhydrazine (DPPH₂) faiblement colorée en jaune par captation d'un hydrogéné de l'antioxydant (Cherif et al., 2006).

Cette réduction peut suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoqué par les antioxydants (Molyneux, 2004).

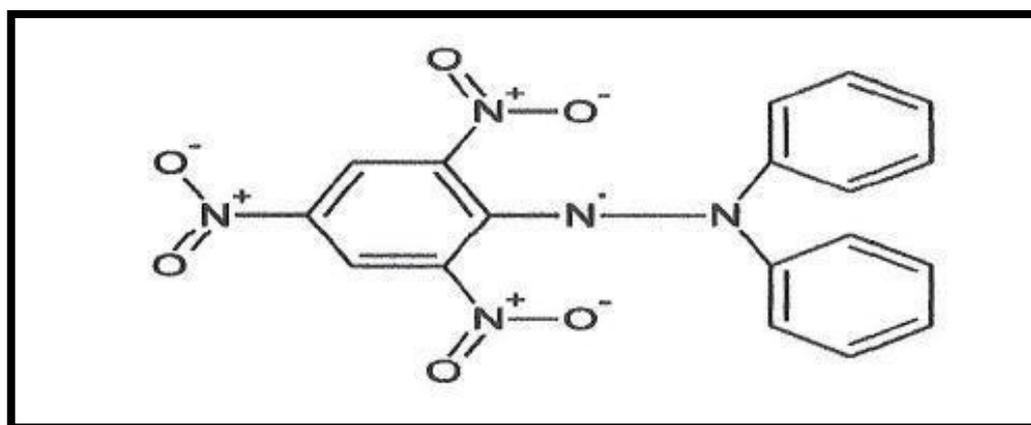


Figure 9 : Structure chimique du radical libre DPPH (Popovici et al., 2009)

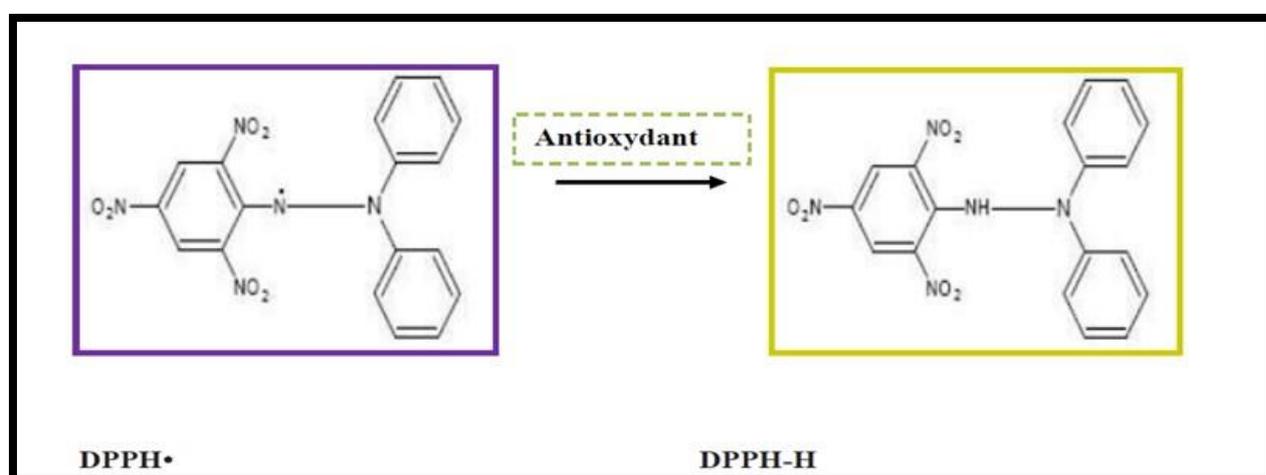


Figure 10 : Structure chimique du radical DPPH' et de sa forme réduite (Endoetal., 2006)

Préparation de solution :

On a pesé 0,006 g de DPPH dans bicher de 100 ml et on a compléter avec l'éthanol jusqu'à 100 ml est placer dans un agitateur pendant 1 heure à température ambiante.

Un volume de 1 ml d'une solution de DPPH est mélangée avec 1 ml de la solution d'acide aminé à différentes concentrations (50 ; 40 ; 30 ; 20 ; 10 mg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 min, et l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin.

Parallèlement un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1 ml d'éthanol avec 1 ml de solution du DPPH, la lecture de l'absorbance se fait à 517 nm après incubation de 30 min à température ambiante.

Pour chaque concentration le test est répété 3 fois et les résultats sont exprimés en calculant le pourcentage d'inhibition.

L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante : **(Dieng et al., 2017)**.

$$\frac{(\text{Do contr}) - (\text{Do éch})}{(\text{Do contr})} \times 100$$

DPPH (%) : pourcentage de réduction du DPPH.

Do contr : Densité optique du tube contrôle négatif.

Do éch : Densité optique de l'échantillon.

Les CI_{50} concentrations de l'échantillon nécessaires pour réduire 50 % des radicaux libres ont été déterminées graphiquement pour chaque acide aminé de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration **(Samarth et al., 2008)**.

Chapitre 4

Résultats et interprétation

1. Réduction de Fer

L'activité antioxydante de quelques acides aminés a été évaluée par la méthode de pouvoir réducteur de fer.

Pour lire les résultats obtenus et pouvoir les interpréter, en traçant les graphes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées et la molécule de référence (l'acide ascorbique).

1.1 L'effet de l'acide ascorbique sur la réduction de Fer

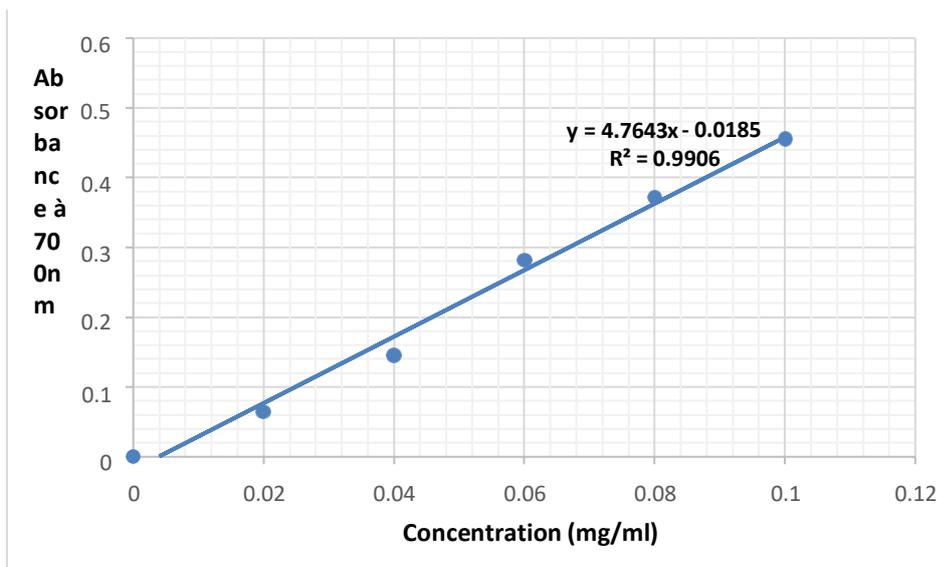


Figure 11 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du Fer par l'acide ascorbique

D'après la figure 11 ; on remarque que l'acide ascorbique a un effet antioxydant important.

Le pouvoir réducteur de fer d'acide ascorbique augmente avec l'augmentation de la concentration. Alors, on dit que les absorbances sont proportionnelles aux concentrations.

1.2 L'effet de l'acide aminé glycine sur la réduction de Fer

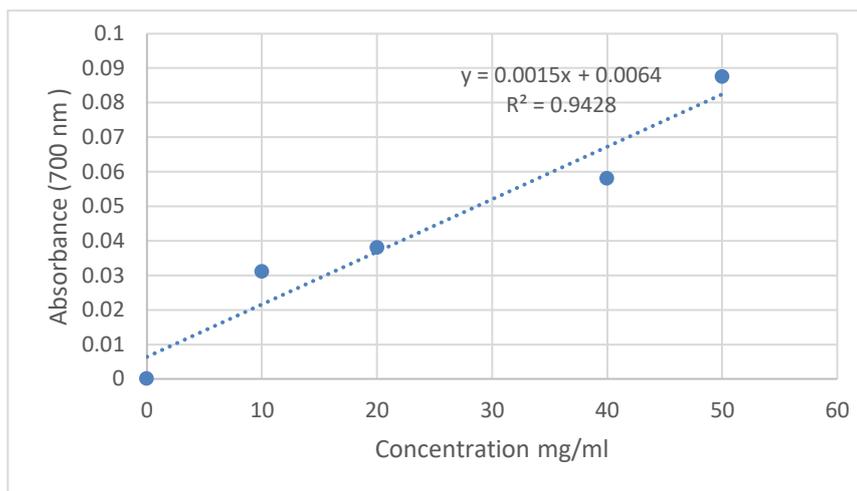


Figure 12 : Graphe représentatif de la variation des absorbance mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminée glycine.

On remarque qu'avec l'augmentation des concentrations de la glycine il y a une augmentation des absorbances, donc la glycine possède un effet antioxydant sur la réduction du Fer.

1.3 L'effet de l'acide aminé méthionine sur la réduction de Fer

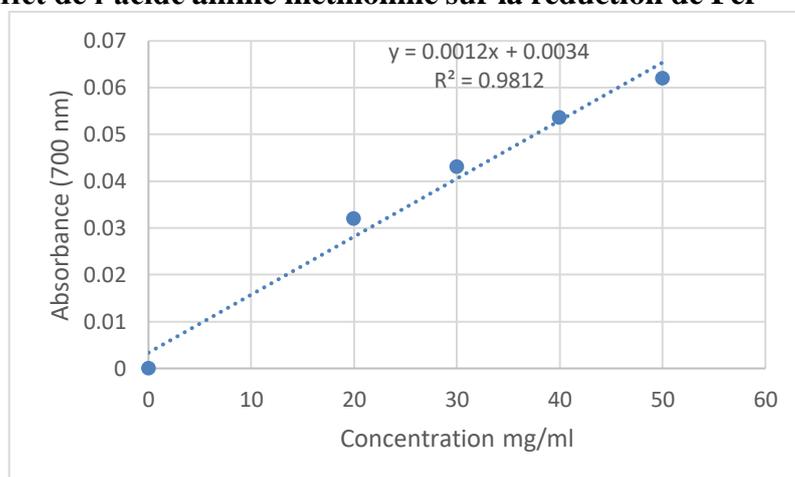


Figure 13 : Représentation graphique de la variation des absorbances mesurées en fonction concentrations de l'acide aminée méthionine.

Les absorbances sont proportionnelles aux concentrations et la méthionine à un effet antioxydant moins important que celui de la glycine et l'acide ascorbique.

1.4 L'effet de l'acide aminé phénylalanine sur la réduction de Fer

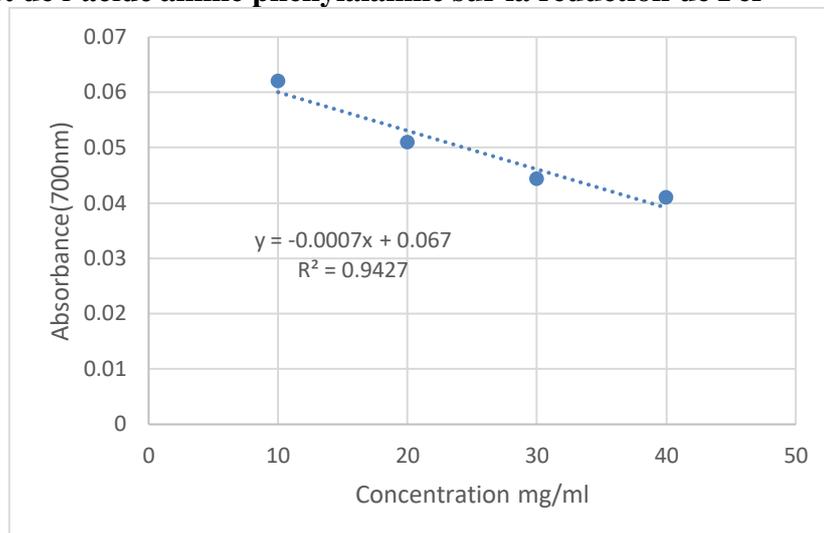


Figure 14 : Représentation graphique de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations d'acide aminé phénylalanine

La figure 14 illustre la variation des absorbances en fonction des concentrations de la phénylalanine. On peut constater que le pouvoir réducteur de cet acide a diminué avec l'augmentation des concentrations ; ce qui indique un effet d'antioxydant moins important que l'acide ascorbique.

1.5 L'effet de l'acide aminé glutamate sur la réduction de Fer

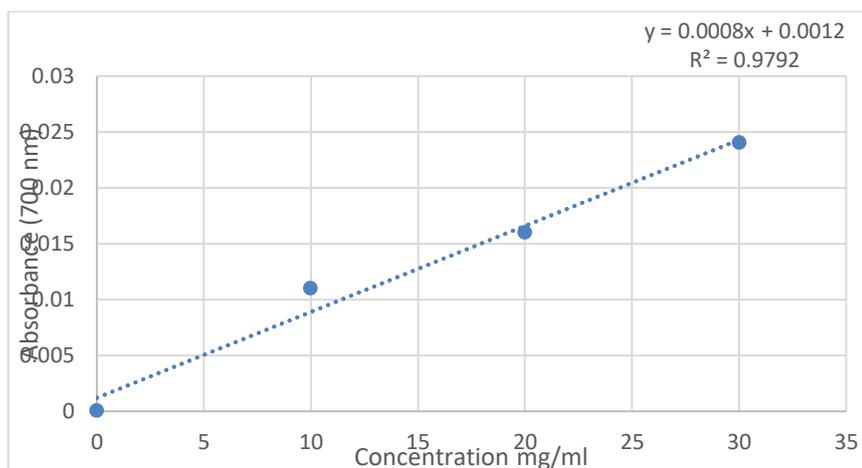


Figure 15 : Représentation graphique de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide aminé glutamate.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que le glutamate a un effet antioxydant moins important que l'acide ascorbique ; cela suggère que la réduction du fer est présente mais moins intéressante.

Par conséquent, nous pouvons déduire que les acides aminés étudiés possèdent la capacité de réduction de fer, mais toujours inférieure de la molécule de référence.

Pour confirmer ces résultats on doit calculer l'EC₅₀, cette valeur est calculée à partir du graphe des absorbances en fonction des différentes concentrations des acides aminés ou l'acide ascorbique, par utilisation de l'équation de la régression linéaire, les résultats obtenus indiquent dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Les valeurs d'EC₅₀ des acides aminés étudiés et d'acide ascorbique

Acide aminé	acide ascorbique	Glycine	Méthionine	Phénylalanine	Glutamate
EC ₅₀ mg/ml	0,109	42,47	50,04	71,85	74,77

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de pouvoir réducteur du fer a montré que l'acide ascorbique a l'EC₅₀ la plus faible (0,109 mg/ml), suivie par la glycine (42,47 mg/ml),

Suivie par la méthionine (50,04mg/ml), la phénylalanine à une concentration (71,85mg/ml), et le glutamate qui est supérieur à l'acide ascorbique et les d'autres acides aminés (74,77 mg/ml).

2. Test de piégeage du radical DPPH

Cette méthode est largement utilisée pour l'étude de l'activité antioxydante de quelques acides aminés.

Les résultats obtenus sont représentés en pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des acides aminés ou de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence.

2.1 L'effet de l'acide ascorbique sur la réduction du radical libre DPPH

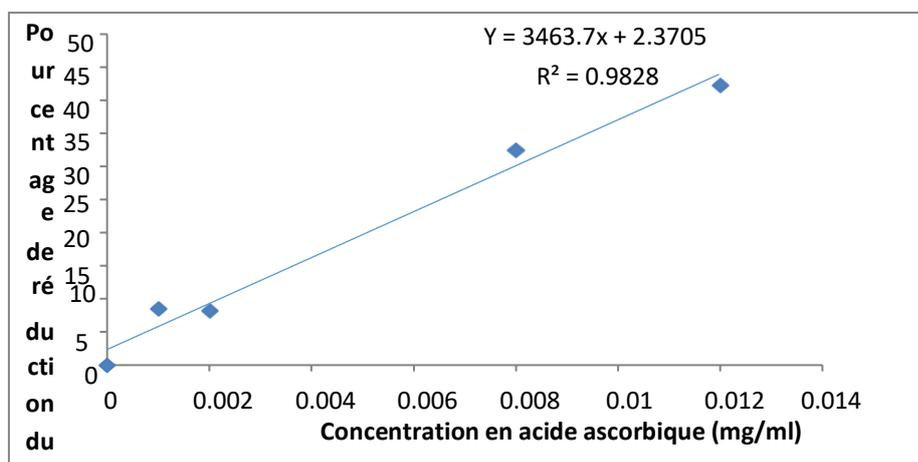


Figure 16 : Pourcentage de réduction du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

L'acide ascorbique est utilisé comme un témoin positif ou bien une molécule de référence pour la vérification des conditions expérimentales. D'après la figure 16 on remarque que le pourcentage de réduction du DPPH est proportionnel aux différentes concentrations d'acide ascorbique.

2.2 L'effet de l'acide aminé la méthionine sur le pourcentage de réduction du DPPH

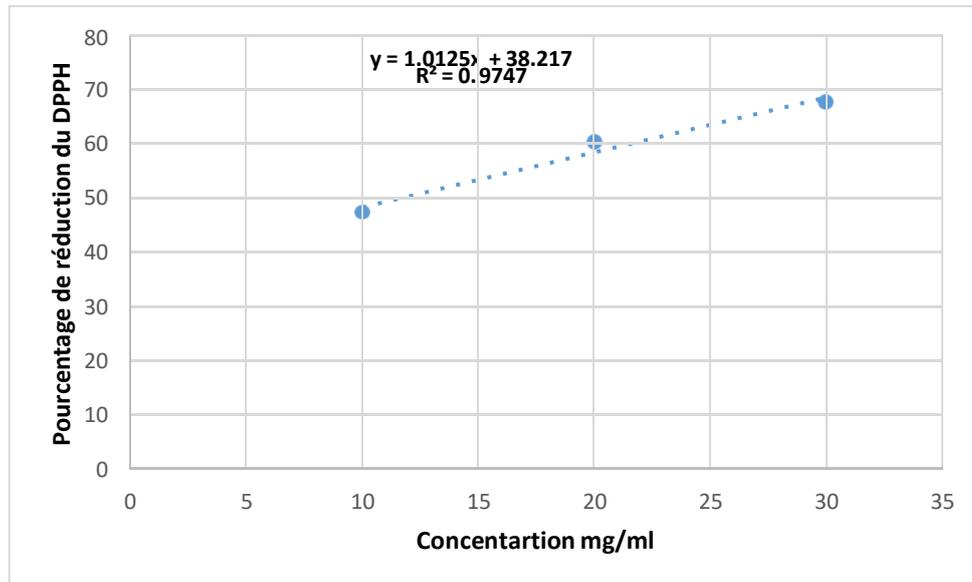


Figure 17 : Représentation graphique de pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide aminé la méthionine.

La figure 17, illustre la variation des pourcentages de réduction du DPPH en fonction des concentrations de la méthionine. On peut constater que cet acide aminé présente une activité importante et intéressante par rapport aux autres acides aminés testés.

2.3 L'effet d'acide aminé le glutamate sur le pourcentage de réduction du DPPH

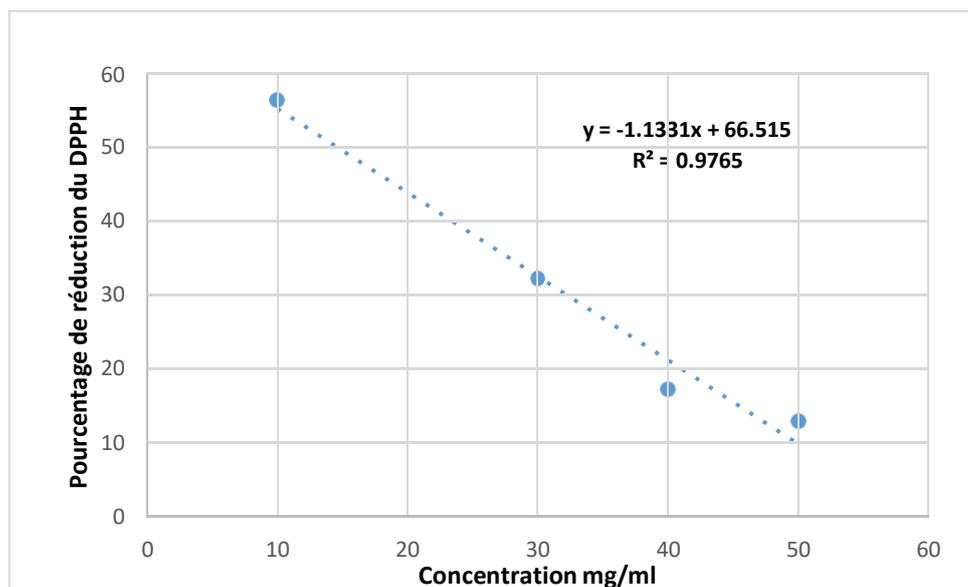


Figure 18 : Représentation graphique de la variation de pourcentage de réduction du DPPH mesurées en fonction des différentes concentrations d'acide aminé glutamate

Le glutamate (figure18), présente une activité moins importante par rapport l'acide ascorbique et la méthionine.

2.4 L'effet de l'acide aminé la phénylalanine sur la réduction de radical du DPPH

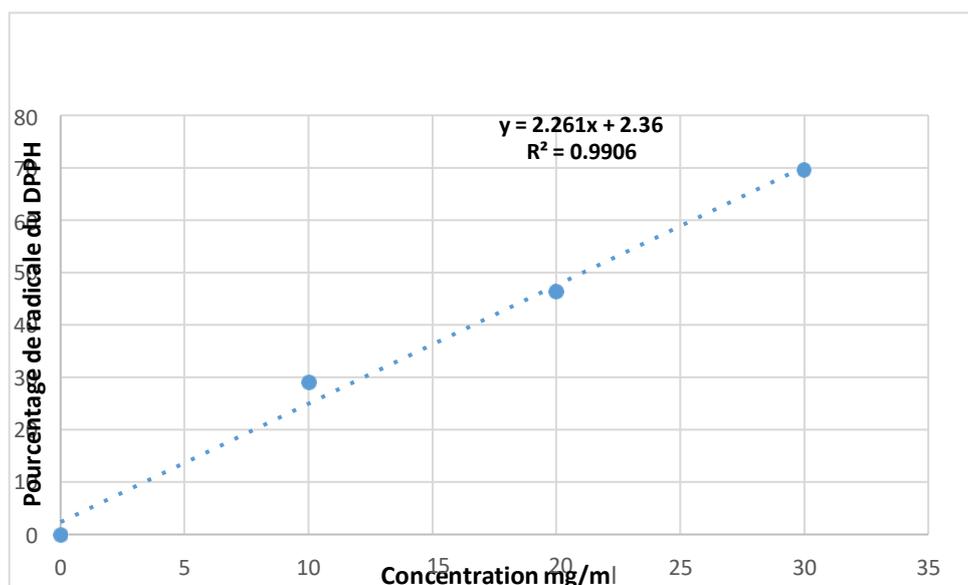


Figure 19 : Représentation graphique de la variation de pourcentage de réduction du DPPH mesurées en fonction des différentes concentrations d'acide aminé la phénylalanine

Selon les résultats obtenus on note une augmentation de l'activité antiradicilaire proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'acide aminé.

Alors, on peut conclure qu'il y a un effet réducteur antiradicilaire moins important que la molécule référence.

2.5L'effet de l'acide aminé glycine sur la réduction de radical du DPPH

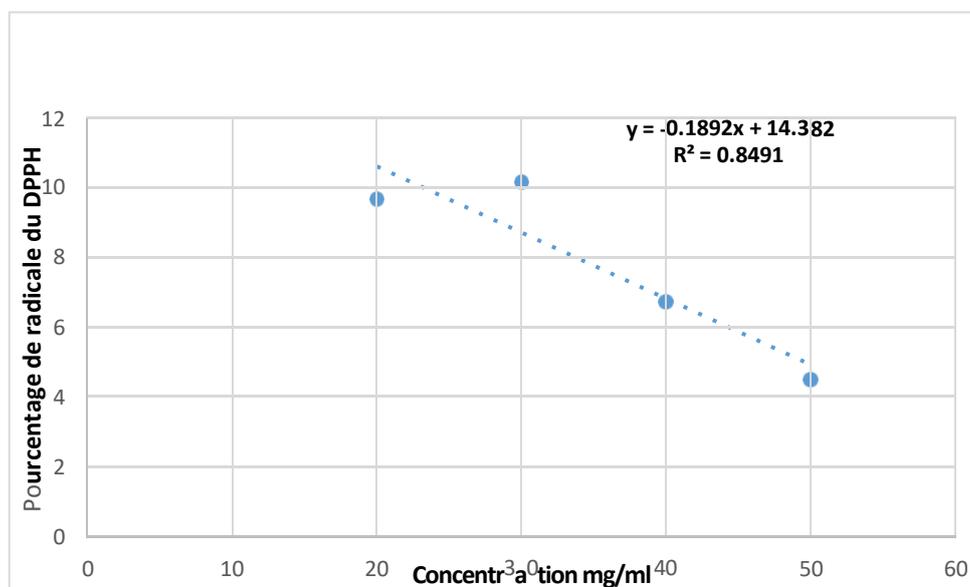


Figure 20 : Représentation graphique de la variation de pourcentage de réduction du DPPH mesurée en fonction des différentes concentrations d'acide aminé glycine

Selon les résultats obtenus dans la figure 20, on remarque qu'avec l'augmentation de la concentration de la glycine il y a diminution du pourcentage réducteur du DPPH, on peut constater que l'activité antiradicilaire de la glycine est faible par rapport aux autres acides aminés testés.

Le pouvoir antioxydant de nos différents acides aminés est déterminé à partir des IC₅₀. C'est la concentration en acide aminé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les valeurs des IC₅₀ trouvées pour tous les acides aminés testés sont représentées dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Les valeurs d'IC₅₀ des acides aminés étudiés et d'acide ascorbique

Acide aminé	Acide ascorbique	Méthionine	Glutamate	Phénylalanine	Glycine
IC ₅₀ (mg/ml)	0,0137	11,63	14,57	21,07	188,25

On comparant les IC_{50} des différents acides aminés étudiés par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité antiradiculaire des acides aminés est inférieure à celle de la molécule de référence (0,0137mg/ml).

Donc en classant nos acides aminés : la méthionine est l'acide aminés le plus intéressant (11,63 mg/ml) suivie par le glutamate (14,57 mg/ml), la phénylalanine (21,07mg/ml), par contre la glycine présentant la valeur d' CI_{50} la plus élevée (188 ,25 mg/ml).

Discussion

Les acides aminés sont nécessaires pour un grand nombre de processus métaboliques qui s'effectuent chaque jour dans notre corps ils servent des enzymes, anticorps, de précurseur hormonaux et composent les protéines qui transportent l'oxygène et les nutriments dans le corps (**Mortiz, 2022**).

L'objectif de notre étude est porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques (méthionine, glycine, phénylalanine et acide glutamique) par deux méthodes:FRAP et DPPH.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante in vitro tel que le piégeage de radical peroxyde ROO• par la méthode TRAP (Total Radical-Trapping Antioxydant Parameter) et ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Réduction du radical DPPH et autres.

Concernant le test de réduction de fer (FRAP), la glycine présente une meilleure activité de réduire le fer suivie par la méthionine, la phénylalanine et le glutamate, mais ces activités restent toujours inférieures à celle de la molécule de référence (acide ascorbique).

Selon nos recherches bibliographique et nos connaissances, on n'a pas trouvé des travaux antérieurs sur l'activité antioxydante des acides aminés qui ressemble à notre objectif. Pour cette raison, nos résultats ont été comparés à ceux obtenus pour des plantes. Cependant il existe un travail réalisé par **Merini & Feroui en 2021** sur la réduction de fer FRAP, les résultats ont montré une activité importante de la phénylalanine avec une valeur d'EC₅₀ 24, 68 mg/ml suivie par la leucine (32,038mg/ml), l'aspartate avec une valeur d'EC₅₀ 50,435 mg/ml et la méthionine avec une valeur d'EC₅₀ 60,156 mg/ml. Par contre, la glutamine présente la valeur d'EC₅₀ 66, 94mg/ml, ces résultats ont montré une activité proche de nos résultats.

Belkacem et al., (2014) ont étudié l'activité antioxydante par la méthode de FRAP des fruits de *Punicagranatum*, les résultats ont montré que les différents extraits des fruits de cette plante présentent une bonne activité antioxydante par rapport à celle des acides aminés testés dans ce travail.

Les résultats obtenus par **Abdou-Latif et al., (2010)**, concernant le test de FRAP des extraits phénoliques présentent un pouvoir très élevé par rapport aux acides aminés.

Concernant le test du DPPH en comparant les IC₅₀ des différents acides aminés testés par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité anti radicalaire de tous nos acides aminés est inférieure à l'activité du piégeage du radical DPPH de la

substance de référence (0,0137mg/ml). Cette activité est importante dans la méthionine (11,63 mg/ml) suivie par le glutamate (14,57 mg/ml), la phénylalanine (21,07 mg/ml) et la glycine (188,25 mg/ml), Il est possible que l'activité de la méthionine est attribuée à la présence du soufre.

La méthionine est un acide aminé essentiel contenant du soufre (**Bronsanet Bronsan, 2006**), joue un rôle essentiel dans la synthèse du glutathion, et exerce un effet antioxydant dans divers réaction physiologique (**Atmaca, 2004; Kim et al., 2018**) de plus certains études ont révélé que les dommages oxydatifs peuvent être supprimés via le système méthionine sulfoxyde réductase, les résidus de la méthionine peuvent agir comme antioxydant catalytique (**Métayer, 2008**).

La présence des acides aminés contenant du soufre dans le tractus gastro-intestinale peut être plus important que d'autres facteurs ce qui concerne le statut antioxydant (**Liu et al., 2016 ; Wang et al., 2016**).

Abdou-Latif et al., (2010) ont montré une forte activité des composé phénoliques par rapport à nos acides aminés testés avec une IC_{50} de 0.52 mg/ml à 8.95 mg/ml.

Les résultats obtenus par **Belkacem et al., (2014)** concernant le test de DPPH des extraits de graines de *Punicagranatum* présentent un pouvoir très élevé avec une IC_{50} de 0,10 mg/ml à 0, 50 mg/ml, l'extrait méthanoïque de feuilles de *Punica granatum* présenté une bonneactivité avec une IC_{50} de 5,62 mg/L

Mendes et al., (2011) ont étudié l'activité antioxydante de fruit de l'arbousier par la méthode du piégeage de radical DPPH, les résultats ont montré une activité élevée par rapportà nos acides aminés avec une IC_{50} de $0,790 \pm 0,016$ mg/ml.

Bouhdid et al ., (2006) et **Bounatirou et al., (2007)** , ont montré que l'huile essentielle de *T.ciliatus* possède un pouvoir antioxydant important avec l' IC_{50} de l'ordre de 74,025 µg/ml, suivie de extrait de *T. bleicherianus* ($IC_{50} = 77,8$ µg/ml). L'activité antioxydante de ces trois thymus est presque quatre fois supérieure à celle de *T. spathulifolius* ($IC_{50} = 243,2$ µg/ml, (**Sokmen et al., 2004**) et à l'huile essentielle de *T. caramanicus* ($IC_{50} = 263,09$ µg/ml) (**Safaei-Ghomi et al., 2009**). Les huiles essentielles de différentes espèces de *Thymus* possèdent une activité antioxydante élevée par rapport à nos acides aminés testée dans cette étude

A la lumière de ce modeste travail nous pouvons constater que les acides aminés testés dans cette étude présentent un pouvoir antioxydant. Cependant cette activité est inférieure à celle de la molécule de référence (acide ascorbique).

Conclusion générale

Au terme de ce travail consacré à l'étude d'activité antioxydante de quelques acides aminés en réalisant deux tests : FRAP et DPPH. Notre étude a été orientée sur les acides aminés synthétiques (glycine, glutamate, méthionine, phénylalanine).

D'abord on a montré que les acides aminés étudiés possèdent une activité antioxydante modérée et inférieure à celle de la molécule de référence, les calculs des EC_{50} par la méthode FRAP et IC_{50} par la méthode DPPH de chaque acide aminé nous ont permis de les classer du plus fort au plus faible en capacité de réduction du fer dans un ordre croissant des EC_{50} et en capacité de piégeage des radicaux de chaque acide aminé (IC_{50}).

Pour le test de FRAP, la glycine présente une meilleure activité de réduire le fer, suivie par la méthionine, la phénylalanine et le glutamate, avec des EC_{50} de 42,47, 50,04, 71,85 et 74,77mg/ml respectivement.

Pour la technique DPPH, la méthionine montre l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 11,63mg/ml, suivie par le glutamate avec une IC_{50} de 14,57 mg/ml, suivie par la phénylalanine avec une IC_{50} de 21,07 mg/ml et la glycine avec une IC_{50} de 188,25 mg/ml.

A la lumière de ces résultats, cette étude préliminaire nécessite d'autres recherches qui s'intéressent à :

- ✓ Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes in vitro : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), et ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes in vivo.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques.

**Références
Bibliographiques**

1. Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. Proc Nutr Soc. 2006 Aug ; 65(3) :278-90. doi : 10.1079/pns2006496. PMID : 16923312.
2. Ali, L., Gilles C. la chromatographie publiée le 15.05.2012.
3. Anna, V.-M. Les acides aminés et la synthèse peptidique ; publié le 15.05.13
4. Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicals libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción), (494), 161-172.
5. Ahern, k. Rajagopal, I. Taralyr, T. 2021. Université d'état de l'Oregon ; livre : biochimie gratuit pour tous.
6. Assaoui, R. 2016. Propriétés et méthode d'étude les acides aminés ; université d'Oran faculté de médecine, module de biochimie.
7. Albert, M-G, Abdeinzadeh, Z et Daniel, J. 2003. Espèce réactif de l'oxygène ; comment l'oxygène peut-il devient toxique.
8. Atmaca G. Effets antioxydants des acides aminés soufrés. Yonsei Med. J. 2004 ; 45 :776–788. doi : 10.3349/ymj.2004.45.5.776. [Pub Med] [CrossRef] [Google Scholar]
9. Alain, F., 2003 .Le stress oxydant ; intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.
10. Barouki, R. Stress oxydant et vieillissement ; Med Sci (Paris) 2006 ; 22 :266-272.
11. Blaber, M. (2020). Université d'Etat de Floride vignette ; modèle 3D du L-tryptophane Domain public ; benjah-Bmm27.
12. Bailey. (9 juin 2019) . Amino Acide ; structure ; groups and fonction.
13. Besbes .A, université d'Oran, Faculté de médecine première année médecine dentaire, année universitaire 2020-2021.
14. Betts, MJ., Russell, R-B. (2003). Les propriétés des acides aminés et conséquences des substituants dans bio-informatiques for Généticiens, MR, Barnes, IC, Gray eds, Wiley

15. Bellik, Y.2 (019-2020) .Chapitre 1 : les radicaux libres : ROS et RNS ; définition ; formation ; M1 Biochimie, module : biochimie et pathologie radriculaire ; département des sciences biologiques page 1/16.
16. Bertrand, N.(29/04/2022) . Les bienfaits de la glycine les dossiers ; santé NutriPure.
17. Bounatirou S, S. Smiti, M.G. Miguel, L. Faleiro, M.N.Rejeb, M. Neffati, M.M. Costa, A.C. Figueiredo, J.G Barroso & L.G. Pedro, 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff. Link. Food Chem., 115, 146-155.
18. Brrat, E.2019. LES ACIDES AMIN2S ESSENTIEL.
19. Brosnan JT, Brosnan ME Les acides aminés soufrés : un aperçu. J. Nutr. 2006 ; 136 :1636S–1640S. doi : 10.1093/jn/136.6.1636S. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
20. Boukaboul.K ; (2019-2020) . Cours 1ère année pharmacie : métabolisme primaire des protéines ; faculté de médecine de Blida département de pharmacie Laboratoire de botanique médicale.
21. Boua,P.R ,Abdou-Latif ,F.,Kone , H.O,Basole N.i.H,Dicko,H.M.2010. Etude des composé phénolique et de l'activité antioxydante de 10 variétés de Sorgho en l'Afrique de l'Ouest .
22. Bouhdid S., M. Idaomar, A. Zihi, D. Baudoux, N.S. Skali & J. Abrini, 2006. Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès Internatinal de Biochimie, 09-12mai 2006,.Agadir, Maroc
23. la Quéré ,C.,.(13/01/2022) .acides aminé ; définition ; rôle ; aliment essentiel ; c'est quoi.
24. Charles Patrick Davis, MD, PhD. (29mars 2021) . Définition of Amino Acide non essentiel.
25. Cherif, J.K., Merabet, I. Habiri, M ., Abidi, R.,Albrecht-Gary , A-M.(2006). Mesure de l'activité antiradriculaire du jus et des peaux d'oranges tunisiennes par le radical DPPH ; fruits , vol 61 (2) ; Doi : 10.1051/fruits :2006008 .www.edpsciences.org .
26. Cillard , J. (2011) . Physiologie du stress oxydant , Faculté de Pharmacie –Université de Rennes EA 1274 « Mouvement –sport-santé ».
27. Davis, P .MD.PHD. (2021) . Les acides aminés non essentiel.
28. Dictionnaire médical de l'académie de médcin version 2022, edit 2017.anion syperoxyde 1.m.
29. Djermouni, M. (2016-2017). Cours de biochimie structural ; polycopié destinée aux étudiant de 2 ème année de tronc commun ; université Ferhat Abbas Sétif 1 ; faculté des sciences et la nature de vie département de tronc commun.

30. Ellasad, Z., & Ouarri, Y. (2011-2021). (Mémoire de MAGISTER) Etude de la formation des complexes de la L-sérine avec les sels de nickel(II), et de fer(II) détermination de la conductivité ; étude de l'effet antibactérien du complexe synthétisé (Université des Sciences et de la Technologie d'Oran "Mohamed BOUDIAF").
31. Endo, T., Fukunaga, T., Yoshimura, T., & Esumi, K. (2006). Scavenging DPPH radicals catalyzed by binary noble metal–dendrimer nanocomposites. *Journal of colloid and interfacescience*, 302(2) ,516-521.
32. Emmanuel,M-N.(2021).chapitre 31-plantes médicinales , potentiel antioxydant et cancer , page 349-357
33. Fergani, J. (2010) . Les propriétés physico-chimiques des acides aminés, université de Constantine ; faculté de médecine ; département de médecine : 1ère année médecine.
34. Foulquier, E. (2001) .Les acides aminés basiques ; éditeur : Chantal Ginesteaux.
35. François, Z., Patrick, D., Guy Mercier and François, J.2009. Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux est des effluents industrielles ; Application à la dégradation des polluants réfractaires ; Revue des sciences de l'eau.
36. Finkel, T. Redox dépendent signal transduction.FBSLETT 2000 ; 476 :52-54 .
37. Garait, B.2006 . Thes pour obtenir le garde de Docteur de l'unevrsité JOSEPH FOURIER : le stress oxydant induit par voi métabolique (régimes alimentaires) ou par voi gazeuse (hyperoxie) et effet de la GLISODIN. Laboratoire de bioénergétique Fondementale et Appliqué –EMI0221.
38. Garrett H. R., Grisham C. M., Biochimie. 2ème édition, 2000, p 82.
39. Gardés-Albert, M. Aspects physico-chimiques de l'espèce réactive de l'oxygène.Anm Pham François 2006,64 :365 – 372.
40. Geumsoo Kim, Stephen J. Weiss et Rodney L. LevineOxydation de la méthionine et réduction des protéines(2015) . PMCID : PMC3766491, ID NIHMS : NIHMS476146, PMID : 23648414.
41. Gilles Camus ; l'électrophorèse publiée le 16.02.2009
42. Gilles Camus ; les acides aminés publié le 16.03.06.
43. Goudet,P., Yindoula,PH. (2008).Matière énergie dans les systèmes : manuel de chimie-biochimie alimentaire, bac technologique 1res et terminales STAV.
44. Gómez, A-M.,Inmunidad y nutrición, Vol. 20. Núm. 3. páginas 52-57 (Marzo 2006).Ligne] ; URL : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/amino-acides-acides-amines/>.
45. Guillaume, J., (2022) Les acides aminés essentiels : comment les différencier des ramifiés ?

46. Hamma,S.A.,Nourri ,N. ,Ferghani,I.,Lekhal ,A.,Cheriet,S.,Abadi,N.,Lezzar,A. ,Benlatreche ,C Biologie des espèces réactives et stress oxydant ;Vol XXIII, N°2 Mars/Avril 2015.
47. Hamza karray, M. (2013).Doctorant en biologie bioconvention enzymatique des composés phénoliques des plantes issus de l'extraction d'huile d'olive : une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel.
48. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. le stress oxydant ; Rev Med Liege (2007) ; 62 :10 :628-638 .
49. Heimerdinger.E, 2021 .Glutamate : inoffensif ou malsain ? Ital. EPPOS, 43, 11-18.
50. Jean-Louis CUQ ; biochimie des protéines .université de MONTPELLIER ; 2006-2008.
51. John, E., Hall, PHD. (2021) . Métabolisme des protéines Dans Guyton and Hall textbock Médical physiologie.
52. Jones, D.P.2006.Redefining oxydative stress.Antioxydants & Redox signaling, 8(9-10),1865-1879. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865>.
53. Kim SH, Kwon DY, Kwak JH, Lee S., Lee YH, Yun J., Son TG, Jung YS Le stress ER induit par la tunicamycine s'accompagne d'un stress oxydatif via l'abrogation du métabolisme des acides aminés soufrés dans le foie. Int. J. Mol. Sci. 2018 ; 19 :4114. doi : 10.3390/ijms19124114. [Article PMC gratuit] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
54. Krap, G. (2010) .Biologie cellulaire et moléculaire ; concept and expériences –page 54 :3éme édition ; traduction de la 5éme édition Par Jules Bouharmont révision scientifique de Pierre L.Mass .
55. Lefebvre .C et Zubiria .L ,2018 .Passeport santé Nutrition.
56. Liu Y., Wang Z., Li H., Liang M., Yang L. Activité antioxydante in vitro de la protéine de riz affectée par le degré alcalin et la digestion des protéases gastro-intestinales. J. Sci. Alimentaire Agric. 2016 ; 96 :4940–4950. doi : 10.1002/jsfa.7877. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
57. Marfella R, Quagliario L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. La hiperglucemia aguda induce un estrés oxidativo en sujetos sanos. J Clin Invest. Agosto de 2001 ; 108 (4) : 635-6. doi : 10.1172 / JCI13727. PMID : 11518739 ; PMCID : PMC209408.
58. Maloy, S., (2013). dans Breners Encyclopedia of Genetics (2éme édition) ; Acides aminés page 108-110.
59. Métayer S., Seiliez I., Collin A., Duchêne S., Mercier Y., Geraert P., Tesseraud S.

Mécanismes par lesquels les acides aminés soufrés contrôlent le métabolisme des protéines et le statut oxydatif. J. Nutr. Biochimie.

60. Madhu. (2018). Defference between hydrophobic and hydrophile Amino Acides.

61. Michel démarchez samedi 16 juin 2012. Le stress oxydant cutané anion superoxyde O_2^- ; biologie de la peau.
62. Merini,R.,Feroui,F-Z-N.(2021).Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master : theme , evaluation du pouvoir antioxydant de quelques acides aminés synthétique,faculté de science de vie et de nature , Université Abou-Baker Belkaied Tlemcen .
63. Michel SEVE .2012 .Chapitre les acides aminés : structure, UE1 : biomolécule(1) : acides aminés et protéines ; année universitaire 2011/2012.université joseph Fourier de Grenoble – tous droits réservés.
64. Migdal,C. ,Serres ,M . (avril 2011). Espece réactif de l'oxygene et stress oxydant .université lyon 1, EAU1-69, laboratoire de recherche dermatologique ; volume 27/N04 MES SCI (PARIS) 2011 ; 27 :405-412 .
65. Molyneux, P., Songklanakajin. (2004) .The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity .Science technology Vol 26 (2) :211_21.
66. Mortiz Jaax .les acides aminés : bienfaits et fonction.Pourquoi ils nous font du bien ! (2022).
67. Norbert, L., François-B., Bertrand, D., Joseph, V. Biochimie : tous les cours en fiches Liscence-PACES-UE1, CAPES.2014.
68. Pawores, S.K., Jackson, K.J.2008 ; SEE 137 d'endurance et apport supplémentaire en antioxydant : est –ce sensé ou absurde ?-PARTIE 1.
69. Paquet, M-H ., (2014-2015) . Biochimie des acides aminés ; institue de soin infirmières 1ére année.
70. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. 2008 Jun ; 4(2) :89-96. PMID : 23675073 ; PMCID : PMC3614697.
71. Pierre KAMOUN ; AMINOACIDES ou ACIDES AMINÉS ; *Encyclopédie Universalise*.
72. Philippe, B .radicaux et antioxydants ; sport passion (reproduction interdit)
73. Popovici C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel. (4) :8p.
74. Reddy, M., K (.2 mai 2022) Acides aminés ; Encyclopédie Britannica <https://www.britanica.com/science/aminoacide>.
75. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. Biomed Res Int. 2014 ; 2014 :761264. doi : 10.1155/2014/761264. Epub 2014 Jan 23. PMID : 24587990 ; PMCID: PMC3920909.

76. Rouge Mayer, S., Rouge Mayee, K. (2012). Biochimie Métabolique (1ère addition) URL : http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/doc_num.php?explnum_id=865.
77. Saudi, M. J., Deadly nanoparticle for cancer cells: free radical generating hybrid nanomaterial for the oxidative destruction of hypoxic cancer cells. Saudi Med J. 2017 Jun ; 38(6) : 670. PMID : PMC5541195.
78. Samarth R.M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A. (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract, Food Chemistry, 106 : 868-873.
79. Segarra J., Chauvet E., Colson-Proch C., Huille M., Labrousse M., Louet F., Metz F., Piètre E. (2014) Biologie BCPST1 - conforme au nouveau programme 2013 - Page 44.
80. Sokmen A., M. Gulluce, H.A. Akpulat, D. Daferera, B. Tepe, M. Polissiou, M. Sokmen & F. Sahin, 2004.- Their in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control, 15, 627-634.
81. Safaei-Ghomi J., A.H. Ebrahimabadi, Z. Djafari-Bidgoli & H. Batooli, 2009. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus carmanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. Food Chem., 115, 1524-1528.
82. Stéphane, J., Aurore, D., Gorisse, L., Gillery, Ph. Med SCI (Paris) 2017 ; 33 : 176-182 : protein molecular aging : which role in physiopathologie ?
83. Silly, Y. (2011). Lutter contre le stress oxydatif.
84. Strobel, N. A. Faseett, R. G., March, S. A., Coombes, J. S. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. In Jcandiol 2011 ; 147-191-201.
85. Tepe B., M. Sokmen, A. Akpulat, D. Daferera, M. Polissiou, A. Sokmen, 2005.- Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *roslans*. J. Food Eng., 66, 447-454.
86. Thomas, C. (24/08/2020); la phénylalanine ; bienfaits ; effet et danger dernière miss à jour : 1/10/2020.
87. Venereo Gutiérrez, Justo R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar, 31(2), 126-133. Recuperado el 23 de noviembre de 2020.
88. Virginie, M., Richard, F-L. Arginine and innate immune response : Med SCI (Paris) 2011-461-463.
89. Werner, J.-B., Raphaël, B., & Jürg. (2010). Science et technologie des aliments : principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Presses polytechniques et universitaire ROMANDES.

90. Yahiaoui, S., Zitouni, K.,(11/06/2018) . Sous la direction de Dr.S...Pour l'obtention du diplôme Master en chimie des matériaux ; thèse : synthèse et caractérisation par UV
91. Isérin, P., Masson, M., & Kedellini, J. P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Identifications, Préparations. Soins. Paris: Edition Larousse/VUEF, 335.
92. Puppo, A., & Halliwell, B. (1988). Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent?. *Biochemical Journal*, 249(1), 185-190.
93. Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., ... & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.

Résumé :

Les acides aminés sont l'un des molécules biologiquement importantes qui s'assemblent pour former des chaînes peptidiques ou des protéines. Comme ils sont nécessaires pour de nombreux processus métaboliques.

L'objectif de notre travail est porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques acides aminés synthétiques (méthionine, glycine, phénylalanine et acide glutamique) par deux techniques, la méthode de la réduction de fer FRAP et test de DPPH,

Les résultats obtenus par la méthode du FRAP montrent un pouvoir antioxydant élevé de la glycine par rapport aux autres acides aminés testés, ce dernier a été classé ainsi par la mesure de la concentration efficace la plus faible EC_{50} .

Cependant, l'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage de radical DPPH a révélé que la méthionine présente une meilleure activité avec une IC_{50} de 11.63 mg /ml. L'activité de la méthionine est attribuée à la présence du soufre qui peut servir d'un donneur d'électron aux radicaux libres.

Mots clés : acide aminé, DPPH, FRAP, activité antioxydante

Abstract :

Amino acids are one of the biologically important molecules that join together to form peptide chains or proteins. As they are necessary for many metabolic processes.

The objective of our work is focused on the evaluation of the antioxidant activity of some synthetic amino acids (methionine, glycine, phenylalanine and glutamic acid) by two techniques, the method of iron reduction FRAP and DPPH test,

The results obtained by the FRAP method show a high antioxidant power of glycine compared to the other amino acids tested, the latter was thus classified by measuring the lowest effective concentration EC_{50} .

However, the evaluation of antioxidant power by the DPPH radical scavenging method revealed that methionine has better activity compared to other acids with an IC_{50} of 11.63 mg / ml. The activity of methionine is attributed to the presence of sulfur which can serve as an electron donor to free radicals.

Keywords : amino acid, DPPH, FRAP, antioxidant activity

ملخص:

الأحماض الأمينية هي واحدة من الجزيئات المهمة بيولوجيًا التي تتحد معًا لتشكيل سلاسل أو بروتينات الببتيد. لأنها ضرورية للعديد من عمليات التمثيل الغذائي.

الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لبعض الأحماض الأمينية الاصطناعية (ميثيونين، جليسين، فينيل ألانين وحمض الجلوتاميك) من خلال تقنيتين، طريقة ارجاع الحديد **FRAP** واختبار **DPPH** ،

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة طريقة **FRAP** قوة عالية من مضادات الأكسدة للجليسين مقارنة بالأحماض الأمينية الأخرى التي تم اختبارها، وبالتالي تم تصنيف الأخير عن طريق قياس أقل تركيز فعال **EC50**.

ومع ذلك، فإن تقييم قوة مضادات الأكسدة بواسطة طريقة ارجاع الجذري **DPPH** أظهر أن الميثيونين له نشاط أفضل مقارنة بالأحماض الأخرى مع تركيز **IC** بنسبة 11.63 مجم / مل. يُعزى نشاط الميثيونين إلى وجود الكبريت الذي يمكن أن يكون بمثابة متبرع إلكتروني للجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية: حمض أميني، **FRAP**، **DPPH**، نشاط مضاد للأكسدة

