

Quantification des métabolites spécialisés, activités anti radicalaire et immunostimulante d'un thé codé « THE » formulé à partir d'essences aromatiques de la Côte d'Ivoire

N'DRI Quesnelle Epiphany^{1,*}, KPOROU Kouassi Elisée¹, OUATTARA Sitapha², BEUGRE Avit Grah Maxwell¹, KOUAKOU-SIRANSY Gisèle³.

¹ Laboratoire d'Agrovalorisation, Groupe de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT), UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé, BP.150 Daloa, Côte d'Ivoire..

² Laboratoire de Biologie et Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP. 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

³ Laboratoire de Pharmacologie clinique et thérapeutique, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, BP.1679, Abidjan, 22, Côte d'Ivoire).

Date de réception : 15 Mai 2025 ; Date de révision : 25 Juin 2025 ; Date d'acceptation : 09 Juillet 2025.

Résumé :

Les plantes aromatiques constituent une source précieuse de métabolites spécialisés aux propriétés biologiques variées. Cette étude vise à valoriser un thé codé « THE » formulé à partir d'essences aromatiques locales. Pour ce faire, les poudres végétales des espèces *Lippia multiflora*, *Zingiber officinale* et *Mentha piperita* ont été combinées selon des proportions spécifiques. L'activité antioxydante du THE a été évaluée par les tests (DPPH) et (ABTS). L'effet immunostimulant a été étudié selon le protocole de Griess par le dosage des monoxyde d'azote (NO) à partir d'une culture *in vitro* de cellules RAW. La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés a été réalisée par spectrophotométrie UV-Vis à différentes longueurs d'ondes. L'analyse du potentiel antiradicalaire du THE a donné des valeurs de IC_{50} de 7,55 µg/mL (DPPH) et 53,72 µg/mL (ABTS). Une augmentation progressive de la production de nitrites a été observée avec des doses croissantes du THE jusqu'à atteindre une production de 10 µM à 300 µg/mL du THE. Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins ont été évaluées 38,9 ± 2,97 mg EAG/g; 15,1 ± 0,17 mg EQ/g et 22,76 ± 1,49 mg EC/g respectivement. Ces résultats suggèrent que ce le THE pourrait être utilisé comme complément alimentaire pour la prévention du stress oxydatif et le renforcement des défenses immunitaires.

Mots-clés : Antiradicalaire, immunostimulant, THE, Essence aromatique, métabolites spécialisés.

Quantification of specialized metabolites, antiradical and immunostimulant activities of a TEA formulated from aromatic plants of Côte d'Ivoire

Abstract:

Aromatic plants represent a valuable source of specialized metabolites with diverse biological properties. This study aims to assess the multiple bioactivity values of a tea codified mix «THE » formulated from locally sourced aromatic plant species. To achieve this, plant powders of *Lippia multiflora*, *Zingiber officinale*, and *Mentha piperita* were combined in specific proportions. The antioxidant activity of the tea was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical scavenging assays. The immunostimulatory effect was evaluated using the Griess assay by measuring nitric oxide (NO) production from an *in vitro* culture of RAW cells. Quantification of total polyphenols, total flavonoids, and condensed tannins was performed using UV-Vis spectrophotometry at specific wavelengths. The antiradical potential analysis revealed IC_{50} values of 7.55 µg/mL (DPPH) and 53.72 µg/mL (ABTS) for the tea. A dose-dependent increase in nitrite production was observed, reaching 10 µM at a concentration of 200 µg/mL of the tea. The contents of total polyphenols, flavonoids, and tannins were estimated at 38,9 ± 2,97 mg EAG/g; 15.1 ± 0.17 mg GAE/g and 22.76 ± 1.49 mg CE/g, respectively. These results suggest that this tea « THE » could be used as a dietary supplement for the prevention of oxidative stress and the enhancement of immune defenses.

Keywords: Antiradical, immunostimulant, TEA, Aromatic plant, specialized metabolite.

Introduction

L'intérêt croissant pour les produits naturels à potentiel thérapeutique s'est renforcé ces dernières décennies en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine et de leur toxicité relativement faible. Parmi ces produits, les infusions ou thés à base de plantes médicinales et aromatiques occupent une place importante dans les pratiques de santé traditionnelles et dans la recherche sur les agents bioactifs naturels (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011). Les plantes médicinales renferment des métabolites spécialisés tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les

alcaloïdes, qui confèrent à ces espèces des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunostimulantes (Harborne, 1998 ; Balasundram *et al.*, 2006).

En Afrique de l'Ouest, et particulièrement en Côte d'Ivoire, la richesse du patrimoine phytogénétique demeure encore largement sous exploitée, en dépit de son potentiel significatif pour le développement de produits naturels à visée fonctionnelle et thérapeutique. Dotée d'une biodiversité végétale remarquable, la Côte d'Ivoire regorge d'espèces aromatiques utilisées en médecine traditionnelle ; mais, dont les

(*) Correspondance : N'DRI Q.E ; e-mail : quesnellendri15@gmail.com ; tél. : (XXXX) XXXXXXXXXXXXX.

propriétés restent souvent peu valorisées de façon scientifique. Parmi ces espèces à fort intérêt, *Lippia multiflora* Moldenke, *Zingiber officinale* Roscoe, et *Mentha piperita* L. se distinguent par leur usage répandu, tant dans l'alimentation que dans les soins traditionnels. *Lippia multiflora*, plante aromatique emblématique de la pharmacopée africaine, est connue pour ses vertus antioxydantes, anti-inflammatoires et immunostimulantes, bien que les données mécanistiques sur ses effets demeurent encore limitées (Abena et al., 2003). *Zingiber officinale*, quant à lui est l'un des végétaux les plus étudiés pour ses composés phénoliques actifs (gingérols et shogaols) dont les propriétés antioxydantes et immunomodulatrices sont bien établies (Mashhadi et al., 2013). Enfin, *Mentha piperita*, riche en acides phénoliques et flavonoïdes, est reconnue pour sa capacité à neutraliser efficacement les radicaux libres (McKay & Blumberg, 2006).

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Lippia multiflora*, de rhizomes de *Zingiber officinale* et des feuilles de *Mentha piperita*. Ces organes ont été récoltés en Côte d'Ivoire de Juin à Août 2020 respectivement à Korhogo pour *L. multiflora* et à Daloa pour *Z. officinale* et *M. piperita*.

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de l'extrait sec du thé

Cette préparation a consisté à prélever 100 g du mélange des poudres végétales des différents organes de plante dans des proportions égales, puis cette quantité de poudre a été infusée dans 1 L d'eau bouillante pendant 15 minutes. L'infusat obtenu a ensuite été soumis à une série de filtrations : une première à l'aide d'un tissu blanc, suivie de deux filtrations successives sur coton hydrophile, et enfin une filtration sur papier Whatman N°3, afin d'éliminer efficacement les fibres. Le filtrat obtenu a été séché à 50 °C pendant 72 heures. Le résidu sec récupéré après séchage représente l'extrait sec du thé codé «THE».

1.2.2. Etude quantitative des quelques métabolites spécialisés

1.2.1.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Un volume de 100 µL d'extrait aqueux de «THE» a été introduit dans une fiole jaugée de 25 mL, suivi de l'ajout de 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué au dixième. Après un temps de réaction de 2 minutes, 2 mL d'une solution de bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20

Dans cette optique, la formulation d'un thé associant ces trois essences aromatiques vise à exploiter la synergie de leurs composés bioactifs pour proposer une boisson chaude à la fois agréable à consommer et dotée d'un effet bénéfique démontré sur la santé. Le développement d'un tel produit s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources végétales locales, avec pour ambition de créer une solution naturelle à haute valeur ajoutée. La présente étude a pour objectif d'évaluer le contenu en métabolites spécialisés d'un thé codé « THE » formulé à base de *Lippia multiflora*, *Zingiber officinale* et *Mentha piperita*, ainsi que ses activités antiradicalaire et immunostimulante à travers des tests *in vitro*. Cette investigation permettra non seulement d'appuyer scientifiquement les usages traditionnels, mais également de favoriser l'émergence de produits phytothérapeutiques innovants, issus de la biodiversité ivoirienne, au service de la santé humaine.

% (m/v) ont été ajoutés. Le mélange a été ensuite maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante pour permettre le développement de la coloration.

L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, en utilisant une solution témoin dans laquelle l'extrait avait été remplacé par de l'eau bidistillée. Une courbe d'étalonnage a été établie à partir d'un standard d'acide gallique à différentes concentrations (de 0 à 0,5 g/L), permettant de déterminer la teneur en polyphénols totaux par interpolation. Chaque mesure a été réalisée en triplicat. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

1.2.1.2 Dosage de la teneur en flavonoïdes totaux

Pour la quantification des flavonoïdes totaux, 2,5 mL de l'extrait de THE ont été mélangés à 0,75 mL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5 % (m/v) dans une fiole de 25 mL. Après homogénéisation, 0,75 mL d'une solution d'aluminium trichlorure (AlCl_3) à 10 % (m/v) ont été ajoutés, et le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 6 minutes. Par la suite, 5 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH , 1 N) et de l'eau distillée ont été ajoutés pour compléter jusqu'à 25 mL. Après agitation manuelle, l'absorbance de la solution a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Chaque échantillon a été analysé en triplicat.

La concentration en flavonoïdes totaux a été déterminée par interpolation à partir d'une

courbe standard de quercétine et les résultats exprimés en microgrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq Q/g}$), selon la méthode décrite par Miliauskas *et al.* (2004).

:

$$C = \frac{C_1 \times V}{m}$$

C : mg équivalent quercétine dans 1g d'extrait sec du THE,

C_1 : Concentration de l'échantillon lue sur la courbe d'étalonnage (mg/L),

V : volume d'extrait utilisé pour le dosage

M : masse de l'échantillon (g).

1.2.1.3 Dosage des tanins condensés

Un volume de 200 μL de l'extrait aqueux de «THE » a été mélangé à 1 000 μL de réactif à la vanilline. Après agitation, le mélange a été incubé à l'obscurité à une température contrôlée de 30 °C pendant 20 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en utilisant un blanc constitué d'un mélange de méthanol à 37 % et d'acide chlorhydrique (HCl) à 8 %, à volumes égaux.

La teneur en tanins condensés a été déterminée par interpolation à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des solutions standards de catéchine, dans une gamme de concentrations comprises entre 0 et 0,3 mg/mL. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS), selon la méthode décrite par Miliauskas *et al.* (2004).

1.2.3. Activités antiradicalaires

L'évaluation de l'activité antiradicalaire du THE formulé a été réalisée à l'aide de deux méthodes spectrophotométriques couramment utilisées : le test de réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et celui de l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

- Test de DPPH

Une solution stock de DPPH a été préparée en dissolvant 24 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. La solution obtenue a été homogénéisée, puis son absorbance a été ajustée à environ $0,98 \pm 0,021$ à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, assurant ainsi une concentration stable et reproductible pour l'essai.

Des solutions de l'échantillon de «THE » ont été préparées à différentes concentrations (de 3,125 à

100 $\mu\text{g/mL}$) par dilution méthanolique. Pour chaque essai, 1,68 mL de la solution de DPPH a été mélangée à 1,6 mL de la solution d'échantillon. Le mélange a été agité vigoureusement afin d'assurer une bonne homogénéisation, puis incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à température ambiante pour éviter toute dégradation photochimique du radical DPPH. Le blanc (contrôle négatif) a été préparé dans les mêmes conditions, mais sans ajout d'extrait, tandis que l'acide ascorbique a servi de contrôle positif et préparé dans la gamme de concentrations que l'extrait. L'absorbance finale a été mesurée à 517 nm.

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicat pour assurer la fiabilité des données.

L'activité antiradicalaire a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, calculée selon l'équation proposée par Torres *et al.* (2006) :

• Expression des résultats

➤ Calcul des pourcentages d'inhibitions

Les pourcentages d'inhibition ont été évalués à l'aide de la formule de la relation :

$$I \% = [(DO_{\text{témoin}} - DO_{\text{échantillon}}) / (DO_{\text{témoin}})] \times 100$$

$DO_{\text{témoin}}$: densité optique du témoin (Solution méthanolique de DPPH)

$DO_{\text{échantillon}}$: densité optique de l'échantillon testé

➤ Détermination des Concentrations inhibitrices 50 efficaces CI_{50}

CI_{50} ou concentration inhibitrice 50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les CI_{50} sont déterminées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'échantillon testé. Plus la CI_{50} est faible plus l'activité antiradicalaire est forte.

- Test de l'ABTS

Cette évaluation a été réalisée selon le protocole décrit par Leong & Shui (2002). Une solution mère du radical ABTS $\bullet^+$ a été préparée en dissolvant 38,40 mg d'ABTS dans 10 mL d'eau distillée, à laquelle ont été ajoutés 6,75 mg de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). Le mélange a été incubé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 12 heures afin de permettre la formation complète du radical stable ABTS $\bullet^+$.

Avant utilisation, cette solution a été diluée avec de l'éthanol pour ajuster son absorbance à 734 nm à une valeur d'environ $0,70 \pm 0,02$, garantissant ainsi une réactivité optimale. L'essai

a été réalisé en mélangeant à parts égales 2 mL de la solution d'ABTS^{•+} avec 2 mL d'une solution éthanolique de l'extrait du THE formulé, préparée à des concentrations allant de 3,125 à 200 µg/mL.

L'acide gallique, un composé de référence, a été utilisé comme témoin positif et testé dans les mêmes conditions expérimentales. L'absorbance des mélanges réactionnels a été mesurée après 2 minutes de réaction à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis, l'éthanol servant de blanc. Chaque concentration a été testée en triplicat pour assurer la robustesse statistique des résultats.

Dans ce test, l'expression des résultats a été faite comme précédemment (test de DPPH), c'est-à-dire le calcul des pourcentages d'inhibition et la détermination des concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀).

1.2.4. *Activité immunostimulante*

Les cellules RAW264.7, issues de la lignée macrophagique murine (ATCC TIB-71), ont été cultivées dans un milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) enrichi de 10 % de sérum foetal bovin (SFB) et de 1 % de pénicilline/streptomycine.

1.2.4.1 *Mesure de la viabilité cellulaire et évaluation de la production de NO*

- *Préparation des cellules*

Les cellules macrophagiques murines RAW 264.7 ont été décongelées et cultivées dans un milieu DMEM complet, maintenu à 37 °C dans une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO₂. Lorsque la confluence cellulaire atteignait environ 80 %, les cellules ont été délicatement détachées à l'aide d'une spatule cellulaire stérile, puis numérotées à l'aide d'un hémodécomètre afin de déterminer leur densité.

- *Traitement des cellules RAW par le THE et le lipopolysaccharide LPS*

Les cellules RAW 264.7 ont étéensemencées dans des plaques de culture de 96 puits à une densité de 5×10^5 cellules par puits, dans un volume de 100 µL de milieu complet par puits. Après 24 heures d'incubation pour permettre l'adhésion cellulaire, les cellules ont été traitées avec différentes concentrations du thé formulé (THE),

allant de 1 à 200 µg/mL, selon des dilutions successives avec un facteur de dilution de 3. Ces concentrations ont été établies selon un protocole de dilution standard, en ajoutant l'extrait directement dans le milieu de culture (Novilla *et al.*, 2017).

Des contrôles ont été mis en place : un contrôle négatif (sans traitement) et un contrôle positif induit par le lipopolysaccharide (LPS) à une concentration de 1 µg/mL, connu pour stimuler la production de NO par les macrophages.

1.2.4.2. *Évaluation de la production de monoxyde d'azote (NO) par la méthode de Griess*

Ce test permet d'évaluer l'effet immunomodulateur ou anti-inflammatoire potentiel de l'extrait végétal à travers la mesure de la production de NO par les cellules RAW 264.7.

Après traitement avec le THE et/ou le LPS, les cellules ont été incubées pendant 24 heures supplémentaires à 37 °C sous 5 % de CO₂. Le surnageant de chaque puits a ensuite été recueilli et transféré dans une nouvelle plaque de 96 puits pour l'analyse.

La concentration de NO a été estimée de manière indirecte en mesurant les nitrites, principaux produits stables du NO, par la méthode colorimétrique de Griess. Le réactif de Griess a été ajouté aux échantillons, et le mélange incubé à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes. Un complexe azoïque de couleur pourpre s'est ainsi formé, dont l'intensité a été mesurée à 540 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Les concentrations de nitrites ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec du nitrite de sodium (NaNO₂), conformément à la méthode de (Kim *et al.*, 2009).

Les résultats obtenus ont été exprimés en fonction des concentrations de nitrite mesurées dans le surnageant, permettant d'évaluer quantitativement l'effet dose-dépendant du THE sur la production de NO. Ces données ont été comparées aux témoins négatif et positif, et représentées sous forme de courbe dose-réponse en échelle logarithmique.

2. *Résultats*

2.1. *Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés*

La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a permis de déterminer les teneurs respectives de ces métabolites spécialisés dans les extraits du THE lesquelles s'élèvent à $38,9 \pm 2,97$ mg EAG/g pour les polyphénols totaux, $15,1 \pm 0,17$ mg EQ/g pour

les flavonoïdes, et $22,76 \pm 1,49$ mg EC/g pour les tanins condensés (Figure 1).

2.2. *Potentiel antiradicalaire*

- *Test de DPPH*

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par la vitamine C et du THE augmentent avec la croissance des concentrations. Toutefois une inhibition d'environ 91 % a été obtenue pour

l'acide ascorbique à des concentrations comprises entre 50 $\mu\text{g/mL}$ et 100 $\mu\text{g/mL}$, alors que l'inhibition maximale obtenue par l'extrait est de 80 % à 100 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 2).

Sur la figure 3, les valeurs de CI_{50} de la vitamine C et de l'extrait de THE étaient de $7,78 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ et de $31,31 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

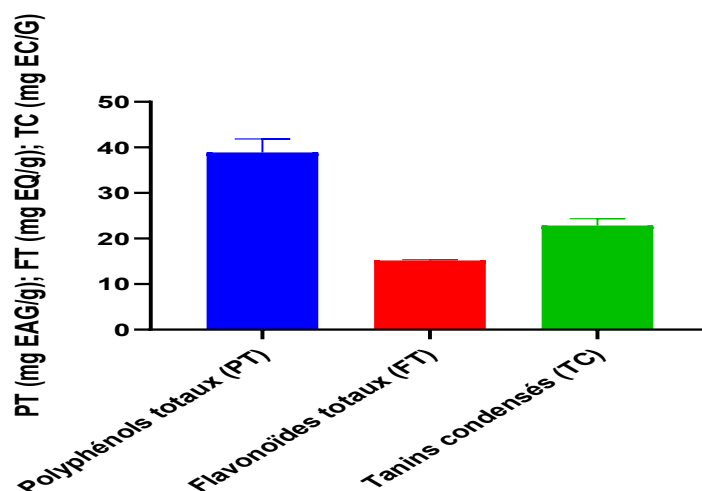


Figure 1 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés

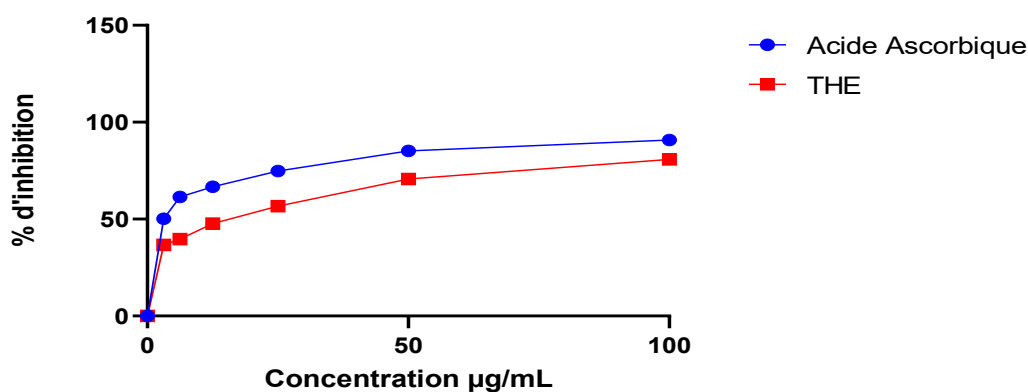


Figure 2: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait de THE et la vitamine C

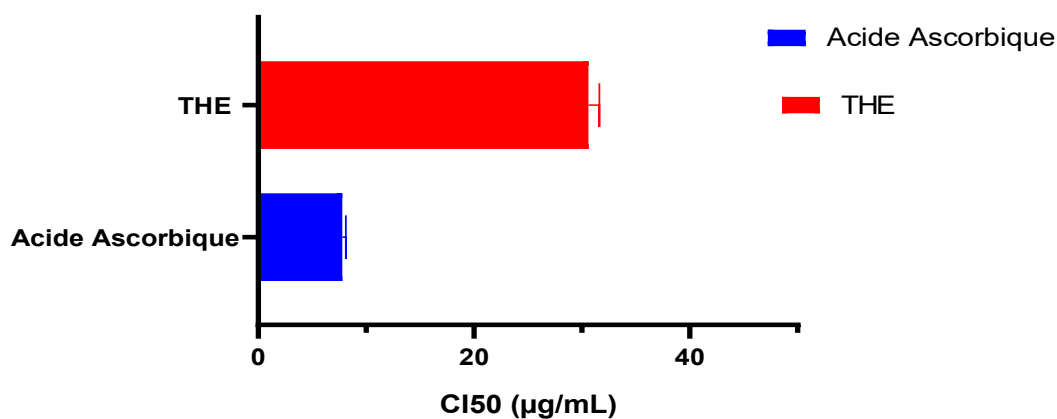


Figure 3 : Représentation en histogramme des valeurs CI_{50} de la vitamine C et de l'extrait de THE

- Test de l'ABTS

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et par l'extrait du THE augmentent proportionnellement à leurs concentrations.

Toutefois, une inhibition proche de 98 % est observée avec l'acide gallique pour des concentrations comprises entre 50 $\mu\text{g/mL}$ et 200 $\mu\text{g/mL}$, tandis que le THE atteint une inhibition maximale de 81 % à la concentration de 200 $\mu\text{g/mL}$. L'ensemble de ces résultats est illustré dans la figure 4.

Les valeurs de CI_{50} de l'acide gallique et de l'extrait de THE étaient de $5,86 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$ et de $53,72 \pm 1,69 \mu\text{g/mL}$ respectivement comme illustrées par la figure 5.

2.3. Activité immunostimulante

La production de nitrite augmente progressivement avec la concentration du THE 4, atteignant environ 10 μM à la plus forte concentration de 200 $\mu\text{g/mL}$. Le LPS (lipopolysaccharide) a induit la production de NO dans les macrophages à une valeur située autour de 10 μM (Figure 6).

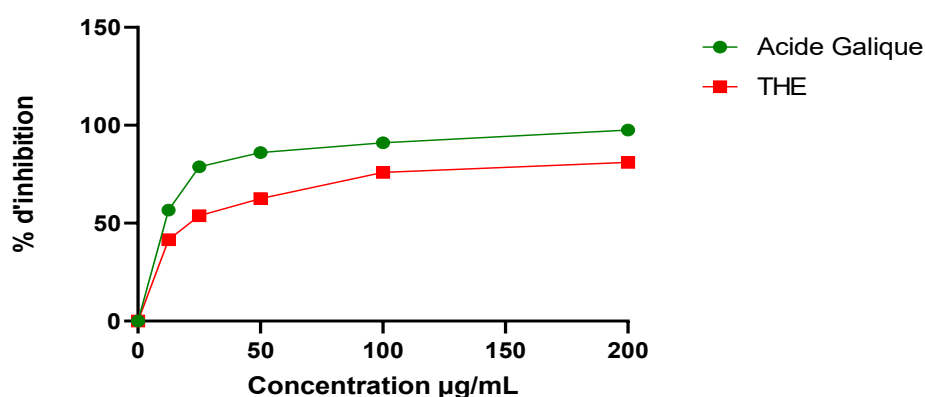


Figure 4 : Evolution des pourcentages d'inhibition de l'ABTS par l'extrait de THE et l'acide gallique

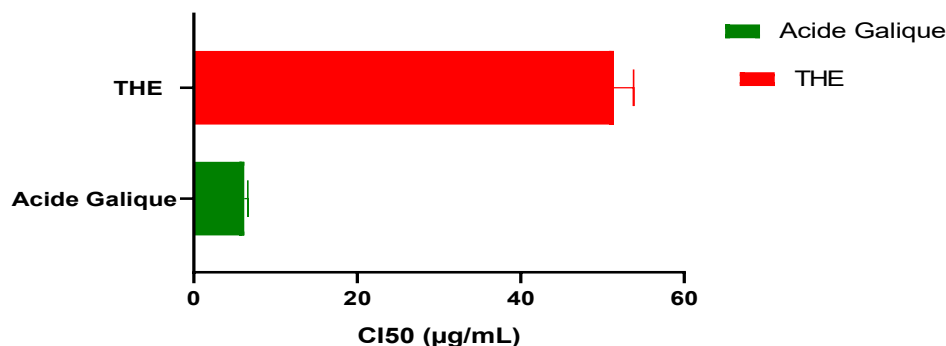


Figure 5 : Représentation en histogramme des valeurs de CI_{50} de l'acide gallique et du THE

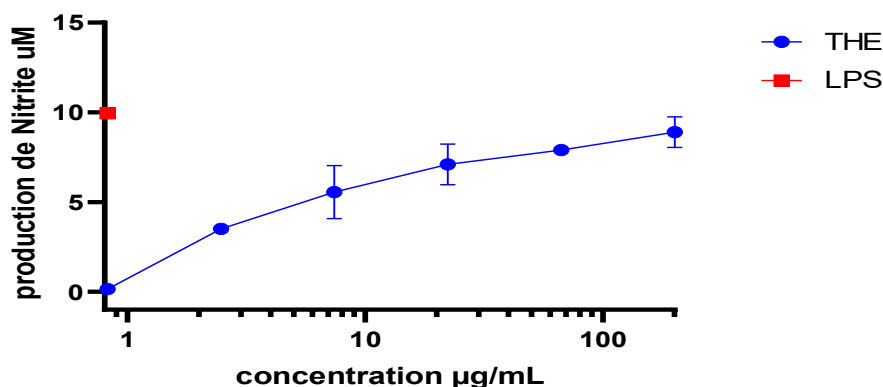


Figure 6 : Courbe Dose-réponse des concentrations du THE sur la production des NO

2.4. Discussion

Les teneurs en phytoconstitués du « THE » ont révélé une richesse en métabolites spécialisés, notamment en polyphénols totaux ($38,9 \pm 2,97$ mg EAG/g), flavonoïdes ($15,1 \pm 0,17$ mg EQ/g) et tanins condensés ($22,76 \pm 1,49$ mg EC/g). Ces composés sont bien connus pour leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène (ROS), principalement via des mécanismes de transfert d'électrons, de donation de protons, ou encore de chélation des ions métalliques pro-oxydants (Pietta, 2000 ; Manel et al., 2017).

L'évaluation de l'activité antiradicalaire de la formulation THE par les méthodes DPPH et ABTS a mis en évidence un potentiel antiradicalaire notable, avec des valeurs de CI_{50} respectives de $31,31 \mu\text{g/mL}$ et $53,72 \mu\text{g/mL}$. Bien que ces valeurs soient supérieures à celles des standards de référence tels que l'acide ascorbique ($CI_{50} = 7,55 \mu\text{g/mL}$) et l'acide gallique ($CI_{50} = 5,86 \mu\text{g/mL}$), elles traduisent néanmoins une activité antioxydante significative. Cette activité, bien que modérée en comparaison avec les antioxydants purs, demeure biologiquement pertinente, surtout si l'on considère la complexité de la matrice végétale et l'effet synergique potentiel entre les différents constituants phytochimiques (Dai & Mumper, 2010 ; Ghasemzadeh et al., 2012). La comparaison des valeurs de CI_{50} met en évidence que le potentiel antioxydant du « THE » est supérieur à celui d'un thé formulé à partir de *Phyllanthus debilis*, *Osbeckia octandra* et *Artocarpus heterophyllus* (formulation M2). En effet, selon une étude menée par Dias et al. (2024), cette association de plantes médicinales, testée selon la même méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH), a présenté une CI_{50} de $45,79 \mu\text{g/mL}$, contre $31,31 \mu\text{g/mL}$ pour « THE ». Ce résultat suggère que THE possède une meilleure capacité de neutralisation des radicaux DPPH•. Par ailleurs, la valeur de CI_{50} de « THE » est proche de celle observée pour la formulation M7 de la même étude ($CI_{50} = 34,40 \mu\text{g/mL}$), ce qui confirme la compétitivité antioxydante de la formulation à base de *Lippia multiflora*, *Zingiber officinale* et *Mentha piperita*.

Les résultats obtenus par le test ABTS+ corroborent ceux du DPPH, en confirmant le pouvoir antiradicalaire de « THE ». En effet, l'analyse des CI_{50} révèle que « THE » est également capable d'inhiber efficacement le radical cationique ABTS•+.

Les valeurs de CI_{50} observées pour la formulation s'inscrivent dans la même gamme que celles rapportées pour ses plantes

constitutives. Par exemple, Dabiré et al. (2015) ont mis en évidence une CI_{50} de $23,8 \mu\text{g/mL}$ pour *Lippia multiflora*, soulignant sa contribution prépondérante à l'activité antioxydante globale. De leur côté, Natalia et al. (2023) ont obtenu une CI_{50} de $59,2 \mu\text{g/mL}$ pour *mentha piperita*, confirmant l'implication modérée de cette espèce dans l'effet observé de « THE ». En ce qui concerne *Z. officinale*, Ali et al. (2018) ont rapporté une CI_{50} de $250 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité antioxydante. Ces données corroborent la contribution de chacune de ces plantes à l'activité antiradicalaire globale de la formulation. Il est également bien établi que la combinaison de plusieurs extraits végétaux peut générer une synergie positive, augmentant l'efficacité antioxydante globale par rapport aux extraits pris individuellement (Ghasemzadeh et al., 2012). Cette assertion a été confirmée avec « THE » par le test réalisé au DPPH.

D'un point de vue immunologique, la formulation THE induit une production dose-dépendante de monoxyde d'azote (NO) par les macrophages, atteignant environ $10 \mu\text{M}$ à la concentration la plus élevée testée ($200 \mu\text{g/mL}$). Cette production est comparable à celle induite par le lipopolysaccharide (LPS), une substance de référence connue pour activer la voie TLR4/NF- κ B, entraînant l'induction de la NO synthase inducible (iNOS) et la libération de NO, un marqueur clé de l'activation immunitaire (Zhihong et al., 2012 ; Shanshan et al., 2022).

L'effet observé pourrait résulter de l'action combinée des trois plantes utilisées. Des travaux récents ont montré que *Lippia multiflora* stimule l'activité des macrophages, induisant une production accrue de NO et une expression significative de iNOS à des concentrations supérieures à $100 \mu\text{g/mL}$ (Soro et al., 2016 ; Bayala et al., 2014). Le gingembre (*Zingiber officinale*), riche en géraniols et shogaols, exerce un effet immunomodulateur en activant les macrophages tout en modulant positivement la production de cytokines via la régulation de la voie NF- κ B (Kitti et al., 2024). Quant à *Mentha piperita*, ses extraits ont démontré une capacité à augmenter modérément la production de NO et à stimuler la sécrétion de cytokines telles que IL-1 β et IL-6, sans compromettre la viabilité cellulaire (Arruda et al., 2017 ; Cosentino et al., 2009).

En comparaison avec le LPS dans la stimulation des cellules RAW 264.7, la production de NO est comprise entre 20 et $28 \mu\text{M}$ de NO (Zhihong et al. 2012 ; Hyun et al. 2020). Cela montre que le THE est capable de susciter une activation

macrophagique similaire, mais potentiellement plus équilibrée. Contrairement au LPS, souvent associé à une inflammation excessive, les extraits

végétaux de THE pourraient offrir une alternative plus douce et physiologiquement tolérable.

Conclusion

Cette étude vise à quantifier les métabolites spécialisés, et à évaluer les activités anti radicalaire et immunostimulante d'un thé codifié « THE », élaboré à partir de *lippia multiflora*, *zingiber officinale* et *mentha piperita*. L'analyse quantitative des métabolites spécialisés a révélé des teneurs appréciables en polyphénols totaux ($38,9 \pm 2,97$ mg EAG/g), en flavonoïdes ($15,1 \pm 0,17$ mg EQ/g) et en tanins condensés ($22,76 \pm 1,49$ mg EC/g), soulignant la richesse chimique de la formulation.

L'évaluation des activités biologiques de « THE » a montré un potentiel anti radicalaire significatif

avec des valeurs de CI_{50} de $31,31 \mu\text{g/mL}$ (DPPH) et $53,72 \mu\text{g/mL}$ (ABTS), indiquant une bonne capacité de piégeage des radicaux libres. Par ailleurs, Ce « THE » stimule la production d'oxydes nitriques (NO) de manière dose dépendante, suggérant une activation de la réponse immunitaire.

Ces résultats fondés sur des données expérimentales soutiennent la valorisation scientifique des ressources végétales locale et appuis leur usage traditionnel dans une perspective de développement de produits de santé naturels à haute valeur ajoutée.

Références

- Abena A.A., Diatwa M., Gakosso G, Gbeassor M., HondiAssah T., & Ouamba J., 2003. Effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires de l'huile essentielle de *Lippia multiflora*. *Fitothérapie*, **74**(3), 231-236.
- Ali A., El-Nour M. & Yagi S.M., 2018. Teneurs totales en phénols et flavonoïdes et activité antioxydante du rhizome, du cal et du cal de gingembre (*Zingiber officinale* Rosc.) traités avec certains éliciteurs. *Revue Genetetic Engineering and Biotechnology*, **16**(2), 677-682.
- Arruda M.O., Mendes S.J.F., Teixeira A.S., Ludmilla S.S.M., Ribeiro M.N.S., Stanley De Sousa L.G., Muscara M.N., Fernandes E.S. & Monteiro-Neto V., 2017. The hydroalcoholic extract obtained from *Mentha piperita* L. Leaves attenuates oxidative stress and improves survival in Lipopolysaccharide-Treated macrophages. *Journal of Immunology Research*, **20**, 1-9.
- Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, **99**(1), 191-203.
- Bayala B., Bassole I.H.N., Gnoula C., Nebie R., Yonli A., More L., Figuered G., Nikiema J-B., Lobaccaro J.-M.A. & Simpore J., 2014. Chemical composition, antioxidant, anti-Inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina-Faso. *Plos one*, **9**(3), 1-11.
- Cosentino M., Bombelli R., Conti A., Colombo M.L., Azzetti A., Bergamaschi A., Marino F. & Lecchini S., 2009. Antioxidant properties and in vitro immunomodulatory effects of peppermint (*Mentha x piperita* L.) Essential oils in human leukocytes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **1**(3), 33-43.
- Dabire C.M., Bationo R.K., Adama H., Nebie R.C.H., Pale E., Dhanabal S. P. & Nacro M., 2015. Total phenolics content, flavonoids profiling and antioxidant activity of *Lippia multiflora* leaves extracts from Burkina Faso, *Asian Journal of Plant Science and Research*, **5**(5), 28-33.
- Dai J., & Mumper R.J., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, **15**(10), 7313-7352.
- Dias P.G.I., Marapana R.A.U.J., Rathnayaka R.M.U.S.K., Gayathri S.M.D.S., Anuradha N.G.D., Kananke T.C., Rathnayaka R.M.K.T., Perera M.G.A.N., Sabaragamuwa R.S. & Wickramaratne M.N., 2024. Identification of the best plant ratios for a polyherbal tea mix to obtain optimum antioxidant, antidiabetic, and β -glucuronidase inhibition activities. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, **15**(5), 1-7.
- Ghasemzadeh A., Azarifa M., Soroodi O. & Jaafar H.Z.E., 2012. Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants *Journal of Medicinal Plants Research*. **6**(13), 2639-2643.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N., 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human health a review. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(31), 6697-6703.
- Harborne, J.B., 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall, London.

- Hyun S.K., Jae H.L., Sun H.M., Dong U.A. & Hyun-Dong P., 2020. Ovalbumin hydrolysates inhibit Nitric Oxide production in LPS-induced RAW 264.7 Macrophages. *Journal Science of Animal resources*, **40**(2), 273-285.
- Kim J.H., Park Y.M., Shin J.S., Park S.J., Choi J.H., Jung H.J., Park H.J. & Lee K.T., 2009. Fraxinellone inhibits lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by negatively regulating nuclear factor-kappa B in RAW 264.7 macrophages. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **32**(6), 1062-1068.
- Kitti P., Beatrix A., Attila G.S., Attila B. & Tünde F., 2024. Ginger-derived bioactive compounds attenuate the Toll-like receptor mediated responses of human dendritic cells. *European Journal of Pharmacology*, 967, 1-16.
- Manel O., Maria P.A. & Leila B.B. K., 2017. Composés phénoliques et capacité antioxydante des extraits méthanoliques du *Tripodion* (*Anthyllis tetraphylla* L.). *Revue des Régions Arides*, **43**, 589-594.
- Mashhadi N.S., Ghiasvand R., Askari, G., Hariri, M., Darvishi, L., & Mofid, M.R., 2013. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of ginger in health and physical activity: Review of current evidence. *International Journal of Preventive Medicine*, **4**(Suppl 1), S36-S42.
- McKay D.L., & Blumberg, J.B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, **20**(8), 619-633.
- Miliauskas G., Venskutonis P.R. & Beek V.T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, **85**(2), 231-237.
- Nataliia H., Lesya K., Katarzyna P., Vladimira H., Sedlá C., Roman F., Mariia V., Iryna M.J.B., Piotr P.W. & Jacek L., 2023. *Mentha piperita* : Huile essentielle et extraits, leurs activités biologiques et perspectives de développement de nouveaux produits médicinaux et cosmétiques. *Molecules*, **28**(21), 1-27.
- Novilla A, Djamhuri D.S., Widyaningrum A. & Widodo M.A., 2017. Anti-inflammatory properties of oolong tea (*Camellia sinensis*) ethanol extract and epigallocatechin gallate in LPS-induced RAW 264.7 cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7**(11) :1035-1041.
- Pietta P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**, 1035-1042.
- Shanshan W., Ting W., Qi C., Xue C., Zhiyong C. & Zhenzhen Z., 2022. Anti-inflammatory effects of Torin2 on lipopolysaccharide-treated RAW264.7 murine macrophages and potential mechanisms. *Heliyon*, **8**, 1-8.
- Soro L.C., 2016. Caractérisation biochimique et activités biologiques des feuilles de *Lippia multiflora* Verbenaceae "théier de savane" cultivées en milieux forestiers et savanicoles de Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat Nutrition et sécurité alimentaire, Université Nangui ABROGOUA, Abidjan, Côte d'Ivoire, 204 p.
- Torres R., Francesca F., Brenda M., Francisco U., Cecilia L & Juan G., 2006. Antioxydant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, **67** (10), 984-987.
- Zhihong C., Walid J., Karl B.S., Kenneth T.F., Ranjan D., Xinghua Y., Grahame J.K., Cornelia C.B., Stephen A.S. & Bruce D.T., 2012. *Journal of Neurosciences*, **32**(34), 11706-11715.