

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé:

**Évaluation de l'activité antioxydante
des composés phénoliques extraits
de la plante médicinale *Zingiber
officinale***

Présenté Par:

- Lannabi Imene
- Redjil Lyna

Membre de Jury:

Mme. BENZAZIA Samia (MCA)	Présidente	Univ. Du 20 Août 1955-Skikda
Mme. KHADRI Sihem (MCB)	Promotrice	Univ. Du 20 Août 1955-Skikda
Mme. MELIAHI Lamia (MCB)	Examinatrice	Univ. Du 20 Août 1955-Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remercîments

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu clément et miséricordieux De nous avoir donné la force, la volonté et le courage de même a bien Ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous adressons nos sincères remerciements à Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce Travail.

Nous remercions particulièrement:

Mme Khadri Sihem pour avoir dirigé ce travail et pour ses conseils Et ses orientations tout au long de ce travail, et nous la remercions Vivement pour sa gentillesse.

Nous souhaitons remercier Mme Benzazia S de nous avoir fait L'honneur de présider le jury .Nous tenons aussi à exprimerons

Gratitudes à l'examinatrice Mme Mellahi L, qui nous a fait l'honneur de juger notre travail et ses remarques ne feront qu'améliorer la qualité de ce document.

Nous adressons de même nos remerciements à tous nos enseignants du Département de Biologie surtout Qui ont déployé leurs efforts pour nous faire profiter de leurs vastes Connaissances et leurs conseils fructueux et judicieux.

Enfin, nous exprimons notre profonde reconnaissance à nos parents et Nos amis qui nous ont aidés d'un sourire, d'une critique, d'un

Encouragement ou d'un service pour tous les sacrifices consentis.

Dédicace Lynda:

Je tiens de dédire ce modeste travail :

Avant tout je remercie Dieu tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et la patience et qui a guide mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

A ma petite belle cousine Zineb Chams , Mon petit ange , tu nous manques tellement , Prix a son ame

*A l'homme, qui est toujours été pour moi et sacrifie pour me voir réussir que dieu le protège et le garde à moi mon père : **Redjil abd El hakim***

*A la plus belle femme du monde et ma force est mon soutien dans ma vie A celle qui ma arrose de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible a la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières à ma mère :**Zouak hakima (Alima).***

*A la prunelle de mes yeux mon frère : **Rezak Diaa Eddine** a tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé .*

*A mes chères amies et sœurs **imene** et **alaa** vous m'avez toujours offert soutien et réconfort, j'exprime envers vous une profonde admiration, reconnaissance et attachement inconditionnels. Merci de m'avoir soutenue et encouragé, d'avoir crus en moi, pour votre précieux aide et votre amour infini*

*A ma précieuse Binôme et mon bras droit **Imene**, qui m'accompagne dans se travaille et qui a partages avec moi les moments difficile pour réaliser ce travaille*

*A mon cœur et le secret de mon bonheur mon bébé d'amour et mon homme et mon bras droit **Mourad** Que dieu te garde pour moi*

*A mon beau Chat **simba***

*A mes petits **Aya** et **Adam***

*A mes tantes maternelle **Tata naima** et **Meriem** et ma belle cousine **Malak***

*A Mon oncle maternelle **ZouakFethi***

A toute la famille sans exception

Dédicace imene:

Je tiens de dédire ce modeste travail :

Avant tout je remercie Dieu tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

*A l'homme, qui est toujours été pour moi et sacrifie pour me voir réussir que dieu le protège et le garde mon père : **lannabi rachid***

*A la plus belle femme du monde et ma force est mon soutien dans ma vie A celle qui ma arrose de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible a la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières à ma mère : **bendjedi hakima (warda)**.*

*A la prunelle de mes yeux mes frères : **mohcen** et **yesser** A tous les moments d'enfance passés avec vous mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'as apporté. Et vous m'as soutenu, réconforté et encouragé .*

*A mes chère amie et sœur **lyna** et **alaa** vous m'avez toujours offert soutien et réconfort, j'exprime envers vous une profonde admiration, reconnaissance et attachement inconditionnels. Merci de m'avoir soutenue et encouragé, d'avoir crus en moi, pour votre précieux aide et votre amour infini*

*A ma précieuse Binome et mon bras droit **Lyna** , qui m'accompagne dans ce travailée tqui a partages avec moi les moments difficile pour réaliser cetravaillee*

*un morceau de mon cœur et le secret de mon bonheur mon bébé d'amour **mohamed (dadi)***

*A mes petits **youcef** et **iyed***

*A mes tantes maternelles **fairouz** et **nadia***

A toute la famille sans exception

Imene

SOMMAIRE		
	Résumés.....	
	Liste des figures.....	
	Liste des tableaux.....	
	Liste des abréviations.....	
	Introduction.....	1
	Partie Théorique Chapitre I phytothérapie et plantes médicinales	
I.1	Phytothérapie.....	02
I.1.1	Définition.....	02
I.2	Plantes médicinales.....	02
I.2.1	Définition.....	02
I.3	Les métabolites.....	03
I.3.1	Métabolites primaires.....	03
I.3.2	Métabolites secondaire.....	03
I.4	Polyphénols.....	04
I.4.1	Définition.....	04
I.4.2	Classification des polyphénols.....	04

I.4.3	Rôle et intérêt des composés phénoliques	05
Chapitre II Radicaux libres et les antioxydants		
II.1	Radicaux libres	07
II.1.1	Définition.....	07
II.1.2	Production des radicaux libres.....	08
II.2	Stress oxydatif.....	09
II.2.1	Définition.....	09
II.3	Antioxydants.....	09
II.3.1	Antioxydants enzymatiques.....	09
II.3.2	Antioxydants non enzymatique	10

Chapitre III Plante médicinale «Zingiber officinale»		
III.1	Historique.....	13
III.2	Description botanique.....	13
III.2.1	Partie souterraine	13
III.2.2	Partie aérienne	14

III.3	Classification de la plante	14
III.4	Propriété antioxydante..	15
III.5	Autres utilisations..	15
	Partie Pratique Chapitre IV Matériel et méthodes	
IV.1	Matériel..	16
IV.1.1	Matériel végétal.	16
IV.1.2	Matériel du laboratoire.	16
IV.2	Méthodes..	16
IV.2.1	Extraction des composés phénoliques.	17
IV.2.2	Calcul du rendement en extraits secs.	17
IV.2.3	Dosage des polyphénols totaux.	18
IV.2.4	Dosage des flavonoïdes totaux.	18
IV.2.5	Teste de l'activité anti-oxydante.	19
	Chapitre V Résultats et discussion	
V.1	Rendement en extrait sec.	21
V.2	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes..	21

V.3	Activité antioxydante.	24
	Conclusion..... ..	27
	Références bibliographique.	28

LISTE DES FIGURES		
Figure 01	Classification générale des polyphénols.	05
Figure 02	Origines des différent radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie..	08
Figure 03	Dismutation de l'anions uperoxyde par les uperoxyde dismutase.	10
Figure 04	Le peroxyde d 'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase.	10
Figure 05	Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme oxydée.. .	10
Figure 06	La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSH-réductase qui utilise du NADPH.	10
Figure 07	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	14
Figure 08	Rhizomes de gingembre.	14
Figure 09	Préparation de matériel végétale.	17
Figure 10	Extraction des composés phénoliques.	17
Figure 11	Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant(AH)	19
Figure 12	Test de Piégeage du radical libre DPPH•.	20
Figure 13	Rendements d'extraction du <i>Zingiber officinale</i> frais et sec..	21
Figure 14	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	22
Figure 15	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	22
Figure 16	Teneur en polyphénols totaux de l'extrait sec et l'extrait frais de la plante <i>Zingiber officinale</i>	23
Figure 17	Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait sec et l'extrait frais de la plante <i>Zingiber officinale</i>	23
Figure 18	Activité anti radicalaire des extraits éthanolique brut de la plante <i>Zingiber officinale</i>	24

LISTE DES ABREVIATIONS

UV:	Ultra-violet.
ERO:	Espèces réactives de l'oxygène.
SOD:	Les superoxyde dismutase:
BHA:	Le butylhydroxyanisole
BHT:	L'hydroxytoluènebutylé.
Abs:	Absorbance.
Rdt:	Le rendement
DPPH:	2,2-diphényl-1-picrylhydrazil
AH :	Antioxydant
EC50 :	Concentration effective à 50%.
I%:	Taux d'inhibition

Résumé

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses plantes qui existent dans leurs habitats, afin de traiter toutes sortes de maladies.

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne et méditerranéenne, on s'est intéressé à l'étude du pouvoir antioxydant des polyphénols extraits de la plante médicinale gingembre appelée communément « *Zingiber officinale*»: c'est une plante vivace appartenant à la famille des Zingibéracées évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen, elle est très connue pour ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des composés phénoliques de la plante a été effectuée par macération qui a donné un rendement relativement élevé en extrait sec par rapport à l'extrait frais.

L'extrait sec dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométrique avec un taux de 24.290µg EAG/mg et 7.04 µg EQ/mg respectivement.

Par ailleurs, des quantités faibles en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été enregistrées pour l'extrait frais (16.412 µg EAG/mg et 4.082µg EQ/mg).

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH révèle que l'extrait éthanolique sec de notre plante est doté d'une activité inhibitrice importante ($IC_{50} = 95 \mu\text{g} /\text{ml}$) par rapport à l'extrait éthanolique frais ($IC_{50} = 290 \mu\text{g} /\text{ml}$)

Mots clés: Activité antioxydante, composés phénoliques, plantes médicinales et, test DPPH et *Zingiber officinale*

Abstract:

Since ancient times, humanity has used various plants that exist in their habitats, in order to treat all kinds of diseases.

As part of the valorization of medicinal plants from the Algerian and Mediterranean flora, we were interested in the study of the antioxidant power of polyphenols extracted from the medicinal plant ginger commonly called "*Zingiber officinale*": it is a perennial plant belonging to the Zingiberaceae family grows in most of the Mediterranean basin, it is well known for its therapeutic properties.

The extraction of phenolic compounds from the plant was carried out by maceration which gave a relatively high yield of dry extract compared to fresh extract.

The dry extract has a notable content of total polyphenols and flavonoids measured by spectrophotometric methods with a rate of 24.290 µg EAG/mg and 7.04 µg EQ/mg respectively. Furthermore, low quantities of total polyphenols and flavonoids were recorded for the fresh extract (16,412 µg EAG/mg and 4,082 µg EQ/mg).

The evaluation of the antioxidant activity by the DPPH test reveals that: the dry ethanolic extract of our plant has significant inhibitory activity (IC₅₀ = 95 µg/ml) and the fresh ethanolic extract (IC₅₀ = 290 µg /ml)

Keywords: Antioxidant activity, phenolic compounds ,*Zingiber officinale*, medicinal plants,DPPH test.

الملخص

منذ القدم، استخدمت البشرية مختلف النباتات الموجودة في بيئتها الطبيعية، من أجل علاج جميع أنواع الأمراض. في إطار تثمين النباتات الطبية من نباتات الجزائر والبحر الأبيض المتوسط، كنا مهتمين بدراسة قوة مضادات الأكسدة للبوليفينول المستخرجة من نبات الزنجبيل الطبي المعروف باسم '*Zingiber officinale*': وهو نبات معمر ينتمي إلى عائلة Zingiberaceae. ينمو في معظم مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط، وهو معروف بخصائصه العلاجية.

تم استخلاص المركبات الفينولية من النبات بطريقة النقع إنتاجية عالية نسبياً من المستخلص الجاف مقارنة بالمستخلص الطازج.

يحتوي المستخلص الجاف على محتوى ملحوظ من إجمالي البوليفينول والفلافونويدات التي يتم قياسها بواسطة الطرق الطيفية بمعدل 24.290 ميكروجرام EAG/مجم و 7.04 ميكروجرام مكافئ/مجم على التوالي. علاوة على ذلك، كانت هناك كميات منخفضة من إجمالي البوليفينول والفلافونويدات تم تسجيله للمستخلص الطازج (16,412 ميكروجرام EAG/مجم و 4,082 ميكروجرام مكافئ/مجم).

يكشف تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة اختبار DPPH أن: المستخلص الإيثانولي الجاف لنباتنا له نشاط مشبث كبير (IC50 = 95 ميكروجرام/مل) والمستخلص الإيثانولي الطازج (IC50 = 290 ميكروجرام/مل).

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة، المركبات الفينولية، *Zingiber officinale*، النباتات الطبية، اختبار

.DPPH



INTRODUCTION



Les relations entre les plantes et l'homme existent depuis l'antiquité (Ngene et al., 2015), elles ont été utilisées pour soulager les douleurs, guérir les maux et panser les blessures (Benkhigui et al., 2010). En effet les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine... etc.) ont eu recours aux plantes médicinales en raison de leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles (**Lahsissene, H., et al., 2009**).

Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**Benkhigui, O., et al., 2010**).

Notamment l'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique qui reste très peu explorée, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques (**Louni, 1994**).

Les plantes de la famille de Zingibéracées sont employées depuis des siècles dans la cuisine traditionnelle comme colorant, ainsi que dans la médecine traditionnelle comme remède. De nombreuses ont été incluses dans les pharmacopées de l'Occident. (**Cheikh Ali, 2012**).

L'espèce *Zingiber officinale* communément connue sous le nom de gingembre en français, ginger en anglais et zanjabil en arabe (**Faivre et al., 2006**), est consommée comme épice à travers le monde depuis plus de 2000 ans et un agent aromatisant de l'ancien temps (**Gigon, 2012**). Utilisée traditionnellement dans les régions d'Inde et en Asie.

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à ce travail qui consiste à mettre en évidence l'éventuel pouvoir anti oxydant des polyphénols extraits de la plante médicinale *Zingiber officinale* dans le but de chercher des alternatives pour le traitement de plusieurs maladies.



Partie Théorique





Chapitre I
Phytothérapie et
plantes médicinales



I.1 Phytothérapie

I.1.1 Définition

Le terme phytothérapie provient du grec : « phyto » signifie plante et « thérapie » signifie traitement; donc c'est le traitement par les plantes (**BabaAissa, 2000**).

La phytothérapie est le traitement par des produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de séparation de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout ce que contient la plante. Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite de substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode d'emploi. (**Bruneton, 1999**).

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes:

- La phytothérapie : l'utilisation des différentes parties des plantes (racine feuilles, fleurs ou la plante entière) sous différentes formes galéniques;
- La gemmothérapie: l'utilisation des bourgeons de la plante ;
- L'aromathérapie: l'utilisation des huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction (**Vernex-Lozet, 2011**) .
- Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop de gouttes, de gélules ...etc (**Strang, 2006**).

I.2 Plantes médicinales

I.2.1 Définition

Les plantes médicinales sont les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

L'expression «drogues» brutes d'origine naturelle ou biologique, est utilisée par le pharmacien ou le pharmacologue pour désigner les plants ou les parties de plantes qui ont propriétés médicinales.

Les plantes médicinales utilisées dans divers domaines de la santé, et pour la recherche pharmaceutique, aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments (**Baba Aissa, 2000**).

On peut utiliser une partie ou plusieurs parties de la plante selon le but d'utilisation (feuilles, tige, racines, fleurs ou la plante entière). (Tableau 01) montre quelques plantes médicinales utilisées en Algérie.

I.3 Métabolites végétales

Les métabolites sont des molécules qui se forment suite à des réactions chimiques se produisant dans le métabolisme de la plante dont on distingue deux classes: métabolites primaires et métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

I.3.1 Métabolites primaires

Un type de métabolite connu par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, D, 2000**).

- Les glucides : une source d'énergie et de structure surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose).
- Les lipides : aussi une source d'énergie et de structure présente dans les Membranes cellulaires;
- Les acides aminés: une source primaire de construction des protéines.

I.3.2 Métabolites secondaires

Également appelés métabolites particuliers, sont des éléments photochimiques complexes, généralement synthétisés par des voies de biosynthèse faisant intervenir de nombreuses étapes catalysées par des enzymes spécifiques, ces éléments interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...). (**Royer, M, 2013**).

Les métabolites secondaires se caractérisent par une faible concentration dans les tissus végétaux, on les retrouve dans des compartiments particuliers a des moments précis de la vie des plantes , peuvent être utilisé pour leurs classification (familles genres,).(Pr,Labbani,2013)

Ils sont classés ent rois grands groupes:(Hartmann,2007).

- Les alcaloïdes : souvent toxiques, correspondent à la présence d'azote dans un hétérocycle, on peut donner comme exemple la caféine, la cocaïne, la morphine ,la nicotine, la quinine, la colchicine et l'atropine .
- Les terpènes : polymères de l'isoprène (monomère de base), on peut donner comme exemple : le caoutchouc, le taxol, des glycosides cardiotoniques et des huiles essentielles.
- Les poly phénols : on peut donner comme exemple les rutosides, les citro-flavonoïdes: les oligomères flavonoïdes, les anthocyanes les coumarines.

I.4 Polyphénols

I.4.1 Définition

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques de règne végétal qui appartient à leur métabolisme secondaire, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à six carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction :éther, ester ou hétéroside .Les polyphénols regroupent 8000composés connus à ce jour. Certains auteurs classent les polyphénols en neuf familles en se basant sur le squelette carboné des molécules (C6-C1, C6-C3, C6-C4, C6-C1-C6, C6-C2-C6, C6-C3-C6)alors que d'autres utilisent seulement 4 familles (les acides hydrox benzoïques, les acides hydrox cinnamiques, lesstilbènes et les flavonoïdes) (Bouaziz, H *et al* 2008).

I.4.2 Classification

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (Clifford M.N., 1999).

La (figure01) représente les différentes classes des composés phénoliques.

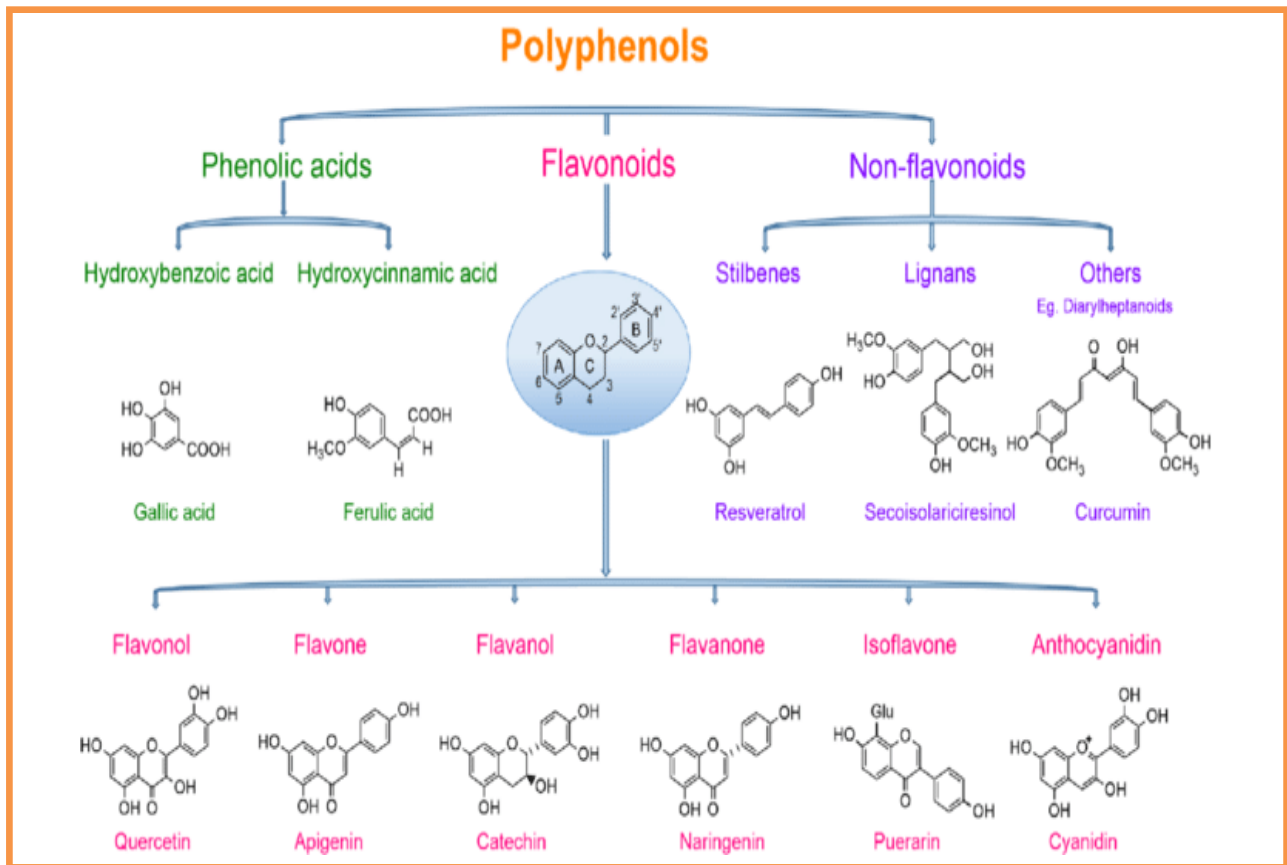


Figure 01: Classification générale des polyphénols (GervaiseY,2004).

I.4.3 Rôle et intérêt des composés phénoliques

❖ Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation.

❖ Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydants. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérosée réduit la thrombose (caillots dans les artères). (Fleuriet A *et al.* 2005).

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le (tableau 01).

Tableau01 : Activités biologiques de quelques composés phénolique (Bruneton,1999).

Composés phénoliques		Activités biologiques
Acides phénols	-Acide caféique -Acide salicylique	-Antibactérienne -Antifongique -Antioxydante
Tanins	-Tanin gallique -Proanthocyanidine	-Effet stabilisant sur le collagène -Antioxydant -Antidiarrhéique -Antiseptique -Vasoconstricteur
Flavonoïdes	-Lutéoline -Catéchine -Hespéridine -Quercétine -Naringénine	-Antitumorale -Anticarcinogène -Anti-inflammatoire -Antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse -Antivirale, antimicrobienne, hypotenseur -Diurétique
Coumarines	-Dicoumarol	-Anticoagulant, antioxydant -Protectrice vasculaire -Antioedémateuse



Chapitre II
Radicaux libres Et
Antioxydants



Radicaux libres

II.1 Définition

Un radical libre est un fragment obtenu par scission d'une molécule et qui possède un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui lui confère une grande réactivité chimique et une instabilité énergétique et cinétique. Les radicaux libres réagissent rapidement avec d'autres composants en donnant ou capturant leurs électrons nécessaires pour acquérir la stabilité, les composants deviennent alors eux-mêmes un radical libre. **Martinez, C. (1995) ; Kehler, P. (2008)**, dont on peut distinguer deux types

a) Les radicaux libres primaires

Un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires ces derniers regroupent : **Favier, A. (2003)**.

- Les espèces radicalaires (radical super oxyde, radical hydroxyle et le monoxyde d'azote);
- Les espèces non radicalaires (oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène, peroxydinitrite). **Gardès-Albert M et al (2003)**.

B) Les radicaux libres secondaires

Le radical libre primaire va oxyder de nombreuses molécules biologiques (lipides, glucides, protéines et acides nucléiques) ne comportant pas d'électron célibataire provoquant ainsi une réaction en chaîne au cours de laquelle apparaissent de nouveaux radicaux, dits secondaires ($R^* + R' \rightarrow R + R'^*$). **Adjélé, W., et al (2003)**.

Bien que les sources suivantes : rayonnement électromagnétique, métaux de transition, fumées de combustion, produits chimiques et les poussières puissent causer la formation de radicaux libres dans l'organisme **Adjélé, Wilson., et al (2003)**.

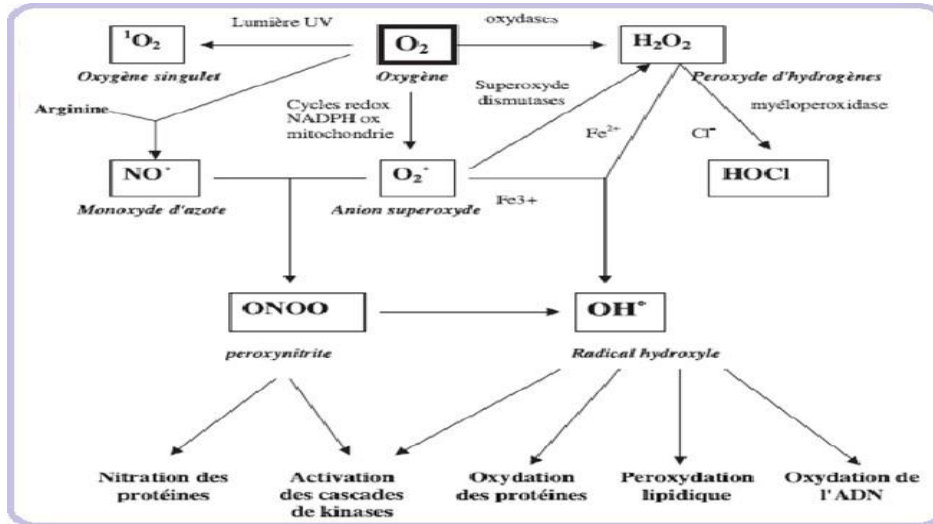


Figure 02: Origines des différents radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. (P. Wetwitayaklung, et al (2011)).

II.1.2 Production des radicaux libres

La production des radicaux libres semble être permanente et est contrôlée par un matériel de défense cellulaire, ce qui permet aux cellules et aux tissus de conserver leur intégrité structurale et fonctionnelle. Cette production s'effectue durant les réactions oxydo-réduction, ces différentes molécules radicalaires peuvent avoir deux origines (Sanchez M, (1994)).

A. Production endogène (interne):

Mitochondrie: la formation du radical libre est liée à l'activité physique et à l'intensité d'oxygénation. (Favier, 2003).

Cellules phagocytaires: par une enzyme membranaire spécialisée dans la fabrication du radical super oxyde. (Aruna et al., 2003 ; Mette et Berger, 2006).

Xanthine-déshydrogénase: est une enzyme ubiquitaire qui peut être modifiée en xanthine- oxydase, cette enzyme génère du superoxyde en présence d'oxygène et de xanthine ou d'hypoxanthine. (Berger, 2006; Kœchlin-Ramonatxo, 2006)

Les métalliques: (chrome, vanadium, cuivre, fer libres) génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton (Favier, 2003).

B. Production exogène (externe)

Les radicaux libres peuvent être produits par diverses sources comme le rayonnement UV, les particules inhalées, le tabac, l'ingestion de l'alcool et les médicaments (Favier, 2003).

II.2 Stress oxydatif

II.2.1 Définition

Le stress oxydatif est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), cela est dû à un déséquilibre lié à une surproduction d'espèce réactive ou à une diminution de la capacité anti-oxydante de l'organisme (Defragin *et al.*, 2007).

Le stress oxydatif est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies telles que les cancers, les pathologies oculaires, les maladies neurodégénératives, la sclérose latérale amyotrophique familiale. Il peut causer des dommages cellulaires, entraînant des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, la prolifération ou la mort cellulaire et des troubles immunitaires mutagènes. (Favier, 2003 ; Iness).

Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipolique, et des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines (Morel Y., *et al.*, 1998 ; Beckman *et al.*, 1999 ; Delattre J., *et al.*, 2005).

II.3 Antioxydants

L'antioxydant est une substance qui ralentit, empêche ou inhibe l'oxydation en neutralisant des radicaux libres, et bloque de ce fait la réaction en chaîne de propagation produite par ces oxydants.

L'organisme possède des systèmes de défense complexes de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques, localisés dans les compartiments intra et extracellulaires. (Tang, *et al.*, 2010 ; Azouzi *et al.*, 2014).

II.3.1 Les anti oxydants enzymatiques

Les enzymes les plus connues sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx), et la glutaredoxine (GRx). Présentes dans le cytoplasme (Berger, 2006).

Ces enzymes permettent de transformer les molécules radicalaires en substances inoffensives, elles s'associent à des éléments appelés « cofacteurs » comme le zinc, le sélénium, le cuivre et le manganèse, qui leur permettent d'exercer leur activité.

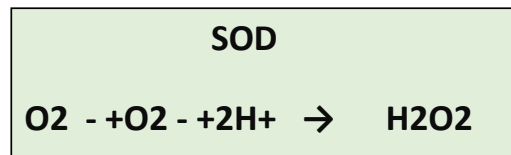


Figure 03:

Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase. (Adjélé, W., et al, 2003).

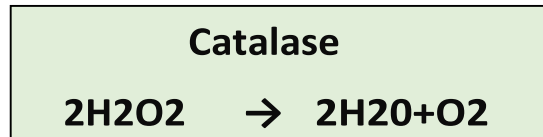


Figure 04 :

Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase. (Adjélé, W., et al, 2003).

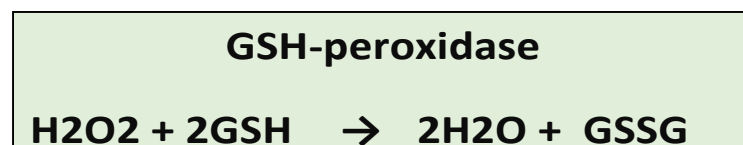


Figure 05:

Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme oxydée. (Adjélé, W., et al, 2003).

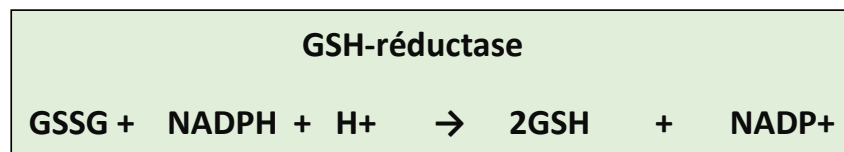


Figure 06:

La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSH-réductase qui utilise du NADPH. (Adjélé, W., et al, 2003).

II.3.3 Les antioxydants non enzymatiques

Sont des composés naturellement apportés par l'alimentation ou différents polyphénols des agents d'origine ou synthétique. (Vamecq et al., 2012).

A. Les antioxydants endogènes

Inclut de nombreux thiols dans majoritaires, Les formes oxydée et réduite de l'acide lipolique, autre composé qui présente des propriétés antioxydantes.

In vitro en piégeant les OH^* , RO_2^* , l'HOCL . En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (Packer *et al.*, 2001 ; Panfili *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2004).

B. Les antioxydants exogènes

Des antioxydants chimiques, comprennent majoritairement: (Bensakhria, A2015)

Vitamine E: antioxydant majeur des structures lipidiques et membranaires, elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO^*



- **Vitamine C :** acide ascorbique, présente dans la plupart des fruits et légumes, un agent réducteur et chélateur réagit directement sur radicaux libres et élimine H_2O_2 .
- **Provitamine A (caroténoïdes):** précurseur de vitamine A elle interrompt le processus de la peroxydation lipidique par simple addition électrophile et transfert d'électron, permettent en particulier de neutraliser l'oxygène singlet.
- **Composés phénoliques:** vitamine P (flavonoïdes), ont une faculté à «terminer» Les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons.
- **Les oligoéléments:** Se, Zn comme cofacteur de la GPx, SOD1, SOD3, respectivement.
- **Protéines transporteuses:** par séquestration des métaux.

c) Les antioxydants synthétiques

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique, sont des antioxydants lipophiles les plus fréquemment utilisés. Employés comme conservateurs à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. (Ito *et al.*, 1983 ; Chen *et al.*, 1992).

Tableau 02 : Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-Oxydantes**(Moon et Shibamoto, 2009).**

Nom scientifique	Nom commun	Composés actifs
Inula viscosa	MagramaneR	Composés phénoliques
Glycyrrhiza glabra	églisseGinge	Glycyrrhizine
Zingiber officinalis	mbreSojaRom	6_gingerdiols
Glycine max	arinPoivre	Eugenol, maltol, alcool, benzylique
Rosmarinus officinalis	noireEucalypt	Acide acrosomique
Zanthoxylum piperitum	usGiroflierRai	Arbutine, magnoflorine
Eucalyptus globulus	sinTomate	1,8_cineole, benzaldéhyde
Syzygium aromaticum		Eugenol, eugenylacétate
Vitis vinifera		Composés phénoliques
Solanum lycopersicum		rutine, acide ascorbique, lycopène



Le Gingembre
(Zingiber officinale)



III.1. L'historique

Le gingembre est une des plus anciennes plantes connues par le peuple, et il est aussi l'une des premières épices orientales. Plusieurs revues ont été publiées dans la littérature à propos de cette plante, ce qui peut refléter la popularité de son utilisation comme une épice et une plante médicinale (**Ali et al., 2008**). Il entrerait déjà dans la composition des techniques de momification pratiquées dans l'Égypte antique. Cette plante condimentaire et médicinale depuis plus de 3000 ans est originaire de l'Inde. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-Est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1er siècle (**Gigon, 2012**).

III.2 .Description botanique

Il existe environ 100 variétés d'espèce que l'on ne rencontre plus que rarement à l'état sauvage, du moins en ce qui concerne le *Zingiber officinale* qui est une plante vivace herbacée, originaire des régions tropicales d'Asie (**Braga et al ., 2006**).

Le *Zingiber officinale* est divisé en deux parties :

III.2 .1.Partie souterraine

Elle présente des rhizomes horizontaux et ramifiés, peau beige pâle, il devient de plus en plus fibreux avec l'âge (**Faivre et al., 2006**) et son odeur est très aromatique avec une saveur chaude et piquante (**Gigon, 2012**).

III.2.2.Partie aérienne

Cette partie est formée des feuilles et d'une tige de 1,50 mètre et peut atteindre 3 mètre de hauteur (**BRAGA ET AL., 2006 ; GIGON, 2012**). On trouve deux sortes de tiges ; les hautes tiges qui sont stériles, servent à l'assimilation et portent des feuilles alternes, longues et étroites, alors que les basse tiges servent à la reproduction et ne présentent pas de feuilles (**BRAGA ET AL., 2006**). Les fleurs de cette plante sont parfumées, blanches et jaunes, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (**FAIVRE ET AL., 2006**).



Figure 07 : *Zingiber officinale* Roscoe



Figure 08: Rhizome du gingembre

III.3. Classification. (Faivre *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012).

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Trachéobionta
- Division : Angiospermes (ou Magnoliophyta)
- Classe : Liliopsida (ou Monocotylédones)
- Sous-classe : Zingibéridées
- Ordre : Zingibérales (ou Scitaminales)
- Famille : Zingibéroïdées
- Genre : Zingiber
- Espèce : *Zingiber officinale*
-

III.4 Propriété antioxydante

Plusieurs travaux ont montré que le gingembre est doté d'une forte propriété antioxydant in vitro et in vivo. L'action antioxydant du gingembre a été proposée comme l'un des principaux mécanismes possibles pour les actions protectrices de la plante contre la toxicité et les rayonnements (**Jagetta et al., 2003**) un certain nombre d'agents toxiques, tel que le tétrachlorure de carbone et le cisplatine (**Amin et Hamza, 2006**), et comme un médicament antiulcéreux). Récemment, il a été démontré que le gingérol possède une action antioxydant puissante à la fois in vivo et in vitro, en plus des actions anti-inflammatoires et anti-apoptotiques fortes (**Kim et al., 2007**).

III.5 Autres utilisations

- En Asie, le gingembre est utilisé comme plante médicinale pour soigner les problèmes d'estomac et la diarrhée
- Plusieurs essais cliniques sur des femmes enceintes, ont démontré que le gingembre était plus efficace que la vitamine B6 et aussi efficace qu'un traitement sur les nausées et les vomissements pendant la grossesse. Cette propriété antiémétique s'est confirmée pour la prévention des patientes en chirurgie postopératoire (gynécologie, laparoscopie) (**Gigon, 2012**).
- L'association d'un repas protéiné à du gingembre diminue de façon importante les nausées retardées observées après une chimiothérapie et permet de réduire l'utilisation d'un traitement antiémétique (**Gigon, 2012**).
- Cette plante possède un effet antiulcéreux très proche de celui du médicament « Omeprazole »
- Le gingembre a été utilisé aussi en médecine vétérinaire in vivo comme vermifuge de nématodes gastro-intestinaux des moutons.



Partie pratique





Chapitre IV
Matériel
Et méthodes



Notre travail consiste à évaluer l'activité anti-oxydante des deux extraits provenant d'une même plante médicinale *Zingiber officinale* en effet, notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie, Faculté des sciences, université 20 août 1955 Skikda, en 2 parties:

- ✓ Une 1ère partie qui consiste en l'extraction des polyphénols à partir de gingembre sèche et gingembre frais et le dosage du polyphénol totaux et des flavonoïdes;
- ✓ Une seconde partie a été consacrée pour tester le pouvoir antioxydant de nos échantillons.

IV.1 Matériel

IV.1.1 Matériel végétal

Notre étude a porté sur les rhizomes de la plante médicinale *Zingiber officinale* connue sous le nom de gingembre qui ont été achetés frais chez un herboriste.

IV.1.2 Matériel du laboratoire

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leur utilisation

IV.2 Méthodes

Préparation du matériel végétal

Après nettoyage, les rhizomes frais ont été épluchés puis traités de deux manières afin d'avoir deux types de matière végétale utilisées pour l'extraction

1. pour l'extrait sec, les rhizomes frais sont coupés en petits morceaux puis ont été mis à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 3 jours. Après séchage, sont transformés en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique pour avoir une poudre sèche.
2. pour le deuxième extrait, les rhizomes frais sont directement mixés pour obtenir une pâte de gingembre.



Patte de gingembre

Gingembre sèche

Patte de gingembre

Poudre de

Figure09 : Préparation du matériel végétal (original).

IV.2.1 Extraction des composés phénoliques

L'extraction des polyphénols totaux a été effectuée par macération de la matière végétale (50g) dans 500 ml de l'éthanol pendant 72h sous agitation permanente, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les trois filtrats sont regroupés ensuite sont soumis à l'évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Les extraits obtenus sont récupérés dans des boîtes de pétri et mettre à séché dans l'étuve à la température de 40°C et conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.



Figure10 : Extraction des composés phénoliques

IV.2.2 Calcul de rendement

Pour déterminer le rendement de la plante en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt}(\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

- ✓ P1: poids du ballon après évaporation.
- ✓ P2: poids du ballon vide avant évaporation.
- ✓ P3: poids de la matière végétale de départ

IV.2.3 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Wong et al., (2006)**.

➤ Principe de la réaction

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (**Robbins, 2003**).

La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750-765 nm.

➤ Mode opératoire

Il consiste à mélanger 200 µl de l'échantillon (0.5 mg dilué dans 1 ml Méthanol) avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé).

Les solutions sont mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75 g/l) a été ajoutée.

Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures.

Après incubation, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de l'échantillon est réalisé comme le point 0 en mg/ml.

IV.2.4 Dosage des flavonoïdes totaux :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane et al., 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ Principe de la réaction:

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

➤ Mode opératoire :

Brièvement, 1 ml de chaque échantillon et du standard (0.5 mg dissous dans 1 ml de Méthanol) a été ajouté à 1 ml de solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Le blanc contient tout le mélange réactionnel sauf l'échantillon.

IV.2.5 Test de l'activité anti-oxydante

La mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de nos extraits polyphénoliques de la plante médicinale *Zingiber officinale* a été réalisée par une technique chimique en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) (Zeghad, 2009).

Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine en acceptant un atome avec une transformation de sa couleur violette foncée en jaune lors de sa réduction, la décoloration sera proportionnelle au nombre de protons captés peut être suivie par une lecture d'absorbance à

517 nm, elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH, et fournit un moyen pour mesurer l'antioxydant de l'extrait étudié. (Gulçin et al, 2010)

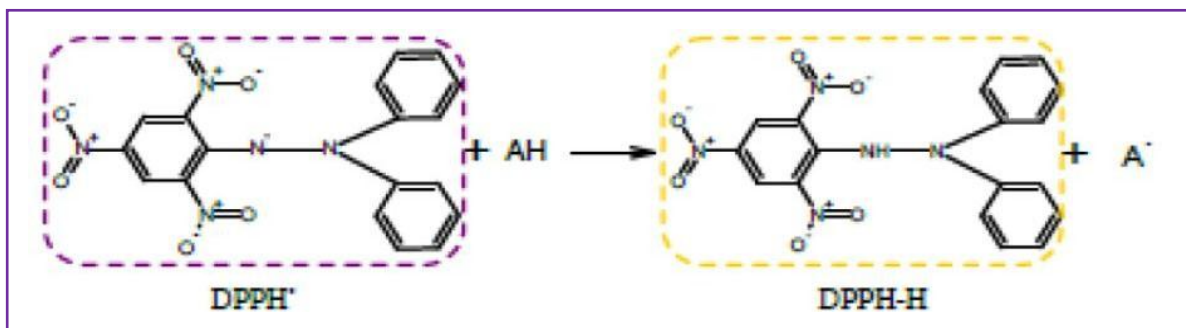


Figure 11: mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) (Michel, 2011)

➤ Mise en œuvre pratique

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 10 mg de DPPH dans 250 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité). Un volume de 400 μl de l'échantillon (à différentes concentrations) a été ajouté à 1600 μl de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité et incubé 30 min à l'obscurité.

Les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre le blanc (solution DPPH/méthanol)

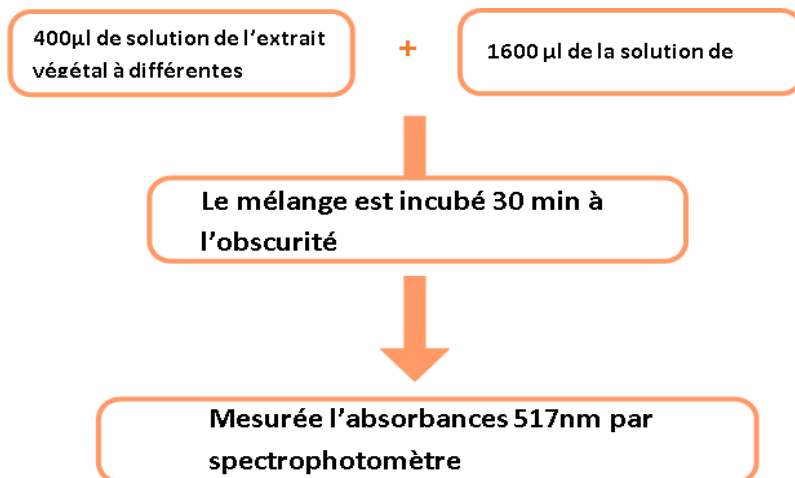


Figure 12: Test de Piégeage du radical libre DPPH•

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence. La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH• en solution dans le méthanol.

Le pourcentage d'activité antioxydante a été déterminé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ Activité antioxydante} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Abs: Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

Le paramètre EC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur).



Chapitre V
Résultat Et discussion



V.1 Rendement d'extraction

On observe que La couleur de l'extrait sec est plus sombre que l'extrait frais.



Extrait sec



Extrait frais

- Les rendements des extraits poly phénoliques obtenus par macération des rhizomes frais et secs de la plante médicinale *Zingiber officinale* sont représentés dans la figure suivante :

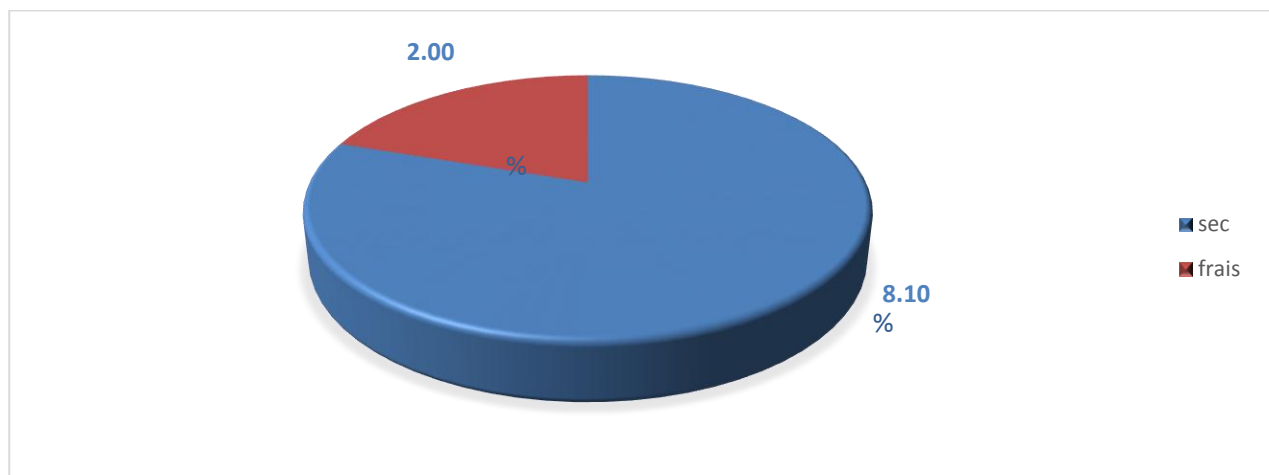


Figure13:Rendements d'extraction du *Zingiber officinale* frais et sec

L'analyse des résultats obtenus indique que l'extrait sec a enregistré le meilleur rendement d'extraction, atteignant 8.097% . Par contre, l'extrait frais a montré un faible rendement d'extraction de seulement 2%.

V.2Teneures en polyphénols et en flavonoïdes :

L'étude quantitative de l'extrait éthanolique sec de la plante *Zingiber officinale* ainsi que de son extrait frais au moyen des dosages spectrophotométries permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

✓ Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur totale des polyphénols a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg).

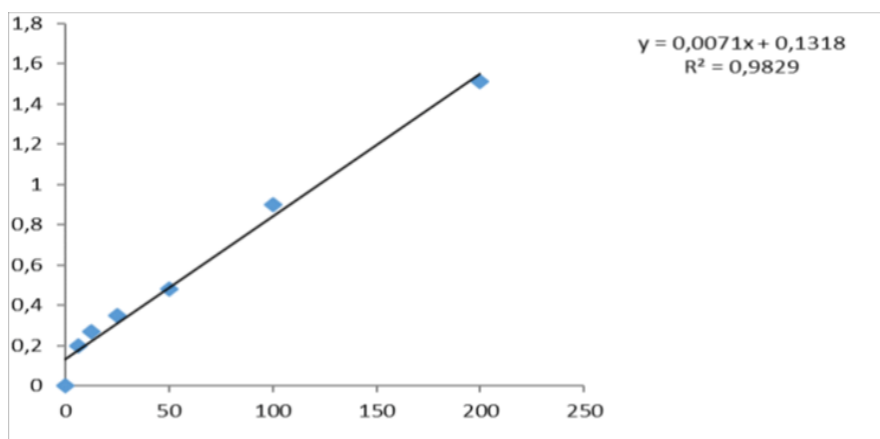


Figure14: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

✓ Flavonoïdes totaux:

La quantité des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de quercétine et exprimés en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{gEQ/mg}$).

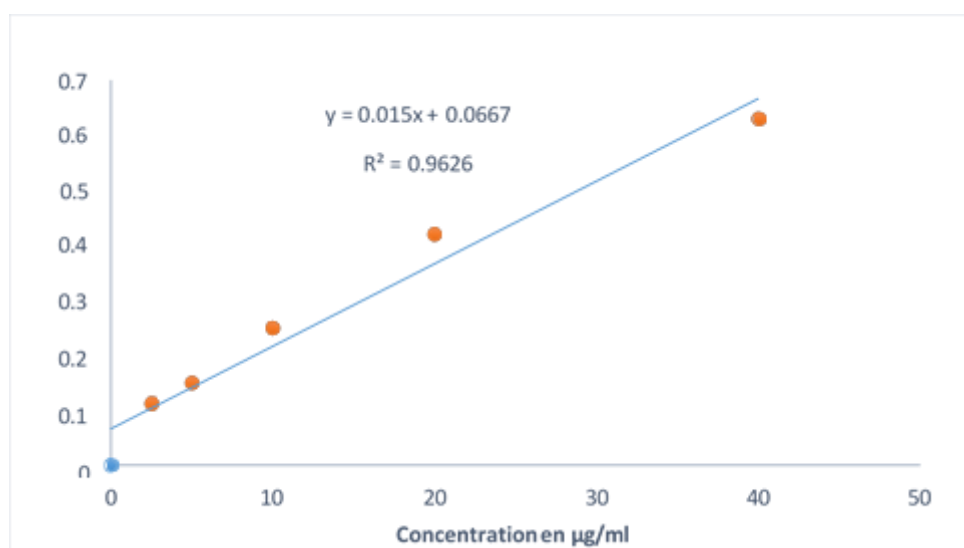


Figure15: Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus sont mentionnés dans les figures (figure16) et (figure17).

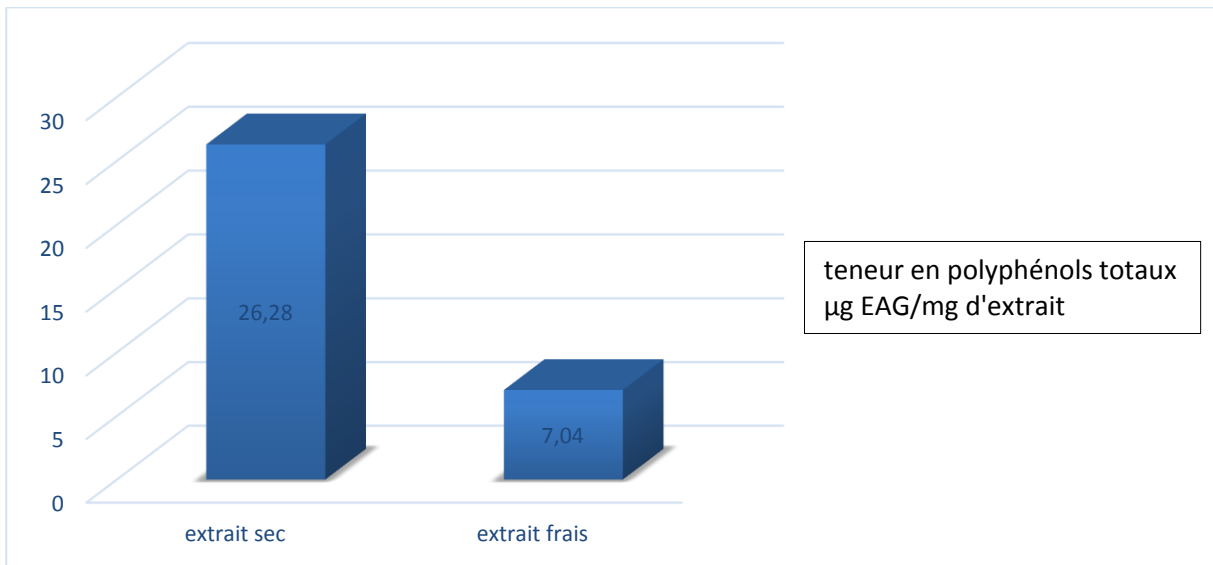


Figure16: Teneur en polyphénols totaux de l'extrait sec et l'extrait frais de la plante *Zingiber officinale*

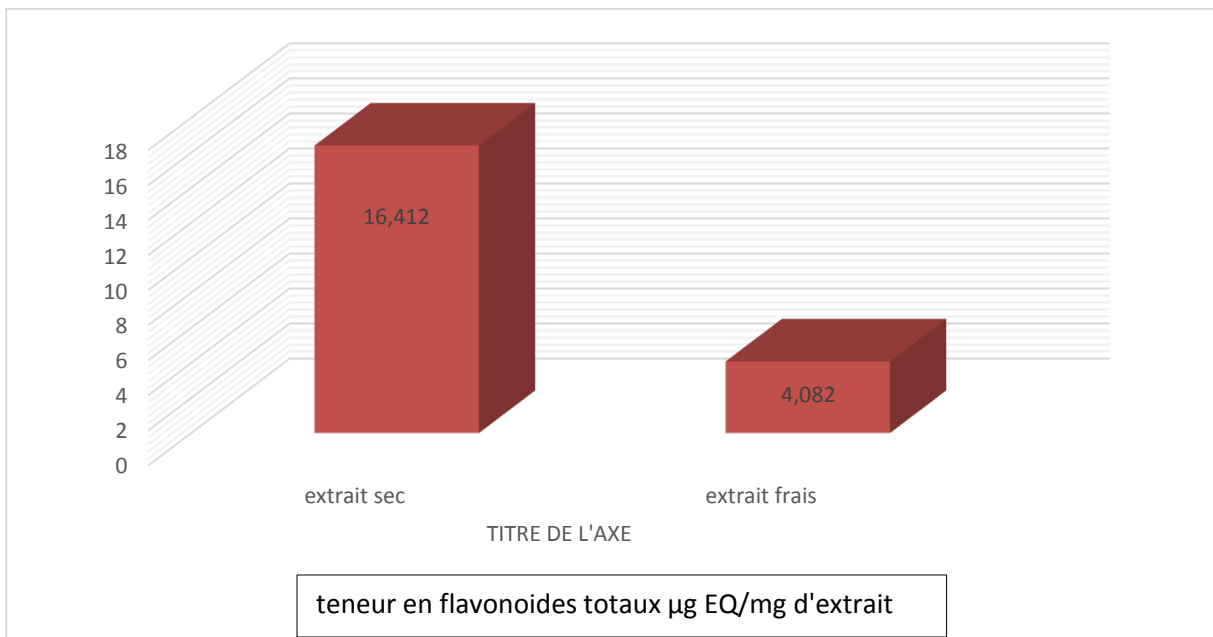


Figure17: Teneur en flavonoides totaux de l'extrait sec et l'extrait frais de la plante *Zingiber officinale*

D'après les résultats obtenus, on constate que la teneur en composé phénolique diffèrent d'un échantillon à un autre, cependant, l'extrait éthanolique sec a montré des teneurs plus élevée que l'extrait frais en polyphénols totaux et en flavonoïdes ; en polyphénolstotaux 24,280 μg EAG/mg et 16, 412 μg EAG/mg respectivement et en flavonoïdes 7,04 μg EQ/mg et 4,082 EQ/mg respectivement.

V.3Activité anti-oxydante

L'efficacité des extrait éthanolique de notre plante *Zingiber officinale* et de l'acide ascorbique à piéger le radical DPPH•, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de chaque échantillon, est illustrée dans la (figure18)

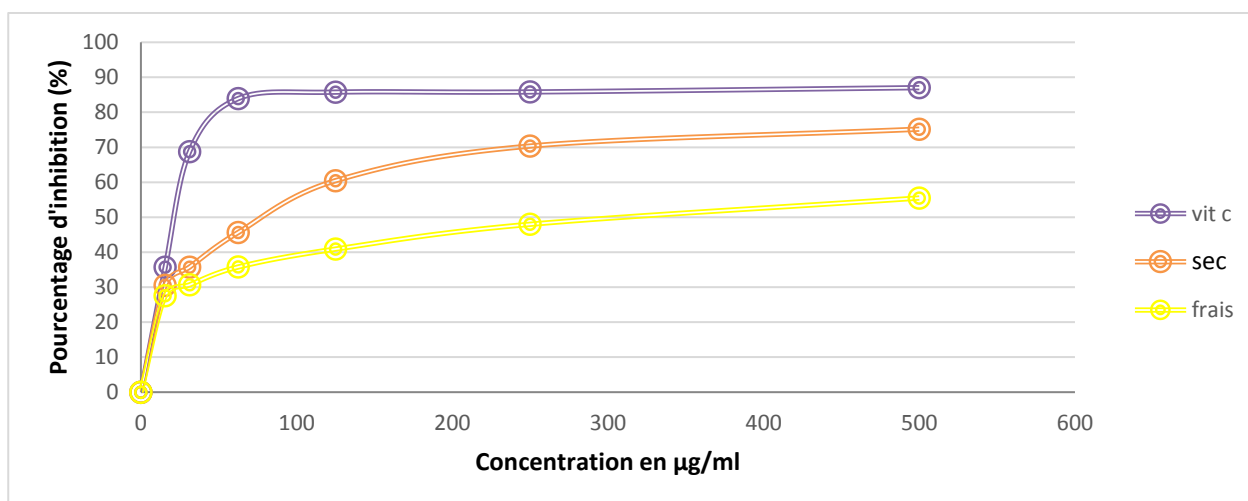


Figure 18: Activité anti radicalaire du l'extrait sec et de l'extrait frais de la plante *Zingiber officinale* et l'antioxydant standard acide ascorbique.

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti radicalaire révèlent que 'l'activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH de nos échantillons et aussi du standard , augmente progressivement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement presque totale du DPPH présent dans le milieu, en effet, l'acide ascorbique testé présente un pouvoir anti radicalaire meilleur que l'extrait sec et aussi frais dont ce dernier présente la plus faible activité vis-à-vis du radical DPPH.

L'acide ascorbique montré un effet maximal de 87% envers le radical DPPH à une concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$, suivi de l'extrait sec avec un effet maximal de 75% à la même concentration et en fin arrive L'extrait frais par un effet maximal faible de 55% (500 $\mu\text{g/ml}$).

Un autre paramètre est introduit pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire ; la concentration effective à 50% (EC50 aussi appelée IC50) qui a été déterminée pour chaque échantillon, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH•.

Tableau 03: Valeurs des EC50 des extraits sec et frais de la plante *Zingiber officinale* ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

<i>Antioxydant</i>	<i>Valeur d'IC50 (µg/ml)</i>
Extrait sec	95 (µg/ml)
Extrait frais	290 (µg/ml)
Acide ascorbique	20 (µg/ml)

La valeur d'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante. Le taux d'inhibition (I%) d'un composé. En effet, plus elle est faible, plus l'activité anti-radicalaire d'un composé est appréciable.

L'extrait polyphénolique sec et l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence ont montré une activité anti-radicalaire très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par leur valeur d'IC50 les plus basses obtenues expérimentalement qui sont respectivement de 95 µg/ml et 20 µg/ml. Par ailleurs, la grande valeur d'IC50 pour de l'extrait frais indique clairement une très faible capacité antioxydante (290 µg/ml).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage de DPPH effectuée par **Mouzaoui. D., et al en 2021** sur les extraits éthanoliques sec et frais de la même plante de la région de Tizi-Ouzou a montré une inhibition de IC50 = 2038 µg/ml pour l'extrait frais et IC50 : 1005 µg/ml pour l'extrait sec, cependant, nos résultats sont meilleurs par rapport à ses résultats.

Le pouvoir anti-oxydant d'un agent est en relation directe avec la nature chimique et la teneur en polyphénols, il varie en fonction de la teneur en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbiques, caroténoïdes, les sucres, acides aminés...etc.), en effet, les flavonoïdes ont toujours un énorme potentiel antioxydant en piégeant ou en décomposant divers molécules

impliquées dans la production des radicaux libres (oxygène, ions métalliques, peroxydes) et en complexant les métaux pro-oxydants (**Suznjevicet *al*, 2011**).



CONCLUSION



Les plantes médicinales sont des sources de principes actifs connus par leur propriété thérapeutique. Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques de la plante *Zingiber officinale*, une plante médicinale connue sous le nom de «gingembre», largement utilisée en médecine traditionnelle par diverses civilisations.

L'extraction des composés phénoliques de la plante a été réalisée par macération, produisant un rendement en extrait sec relativement élevé par rapport à celui de l'extrait frais, l'extrait sec dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométriques avec une teneur respectivement de 24.290g EAG/mg et 7.04µg EQ/mg. Par ailleurs, l'extrait frais a montré des quantités relativement faibles en polyphénols et en flavonoïdes qui sont de 16.421µg EAG/mg et 4.082EQ/mg respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante de ces derniers par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH, nous a permis de conclure que la plante *Zingiber officinale* est une source potentielle des polyphénols et flavonoïdes possédant des propriétés antioxydantes d'origine naturelle qui justifient son utilisation traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections.

Ce travail mérite d'être complété, à l'avenir, en proposant les perspectives suivantes:

- Utiliser d'autres solvants organiques pour optimiser le rendement d'extraction, le fractionnement et la purification des composés phénoliques.
- Identifier les composés phénoliques par des techniques spectrométriques et chromatographiques : RMN, spectrométrie de masse, HPLC, ...
- Évaluer d'autres activités biologiques de *Zingiber officinale* (anti-microbienne, anti-inflammatoire, anti-bactérienne..).
- Évaluer l'activité antioxydante par différentes méthodes : ORAC (Oxygen Radical Absorbance), TRAP (Total-Radical trapping Antioxidant Parameter assay), CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity).
- Étudier *in vivo* de l'effet antioxydant de *Zingiber officinale*



Référence
Bibliographiques



- **Aberkane.K., Bourenane.R. (2019).** Etude de l'effet de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, MEMOIREDEFIND'ETUDESENVUEDEL'OBTENTION DU DIPLOME MASTER, option: Biochimie Appliquée. UNIVERSITE AKLIMOHANDOULHADJ– BOUIRA. p 30.
- **Adjélé, W., Salamatian. L. (2002-2003).** Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre exemple :lacan,B.D.(2001) oxydants / antioxydants : un equilibre important .Université de Versailles Saint-Quentin-en-YvelinesDESSIST.Pp: 1-5.
- **AlDissi,N.,Salhab.K.,Al-Hajj,H.(2001).**Effect of *zingiber officinal* extract son abortionandimplantationin rats, Journal ofEthnopharmacology.77(1). P(117-121).
- **AlDissi,N. ;Salhab,K.etAl-Hajj,H.(2001).**Effect of *zingiber officinal* extractsonabortionandimplantationin rats. Journal of Ethnopharmacology,77(1).p (117-121).
- **(Ali Bh, Blunden G, Tanira Mo, Nemmara).** Some phytochemical, pharmacological and
- toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. 2008 ; 46(2) : 409-20.
- **(Amin A, Hamza A.)** Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. Asian J Androl, 2006 ; 8(5) : 607-12
- **(Ameur, N. , Ammara, N et Hammache, Y.2016).** Etude des propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Rosmarinusofficinalis*. Mémoire de Master en Analyse et Contrôle de la Qualité des Denrées Alimentaires.Université deBordj BouArreridj., p (7-9).
- **Amin. S., Kaloo. Z., Singh. S.,Altaf, T. (2013).** Medicinal importance of Genus review.International Journal ofCurrent Researchand Review, 05 (02):20-26.

- **Ammar.E., Najjaa. H. (2009).** Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Allium roseum* L.“Lazoul,” A Wild Edible endemic species in north Africa; International journal of food properties vol 14No 2.P 371-380.

- **ArunaP.,FredR.andEugeneM., (2003).**AntioxidantActivity.Food chemistry,44:701-705.

- **Aşkin Çelik, T., Aslantürk. Ö.S.(2010).** Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of zingiber officinale leafextracts with *Allium* test.Journalof BioMed Research.

- **Atawodi.S.E.(2005).**AntioxydantpotentialofAfricanmedicinalplants. AfricanjournalOfbiotechnology.4(2) : 128-133.

- **AZOUZI. D., LAKSACI. L. (2014).** Effet d’un traitement thermique sur les polyphénols du milletet leur pouvoir antioxydant. Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention du diplôme de master enchimiedel’environnement. Universitéd’Adrar, p10.

- **BabaAissa,F.(2000).**Encyclopédiedesplantesutiles,flored’AlgérieetduMaghreb,substancesvégétalesd’Afrique, d’Orient et d’Occident. EdLibrairieModerneRouiba, 46.

- **Bakkara. F., Benhammou. N., Panovska, T. (2008).**Biological in activites of the essential oil andethanolic extract of *zingiber officinal* from the tlemcen region of algeria advances in food sciences , 29(3),.(3-139).

- **Barbetti,P.,Chiappini.I.,Fardella.G.,Menghini.A.(1985).**Aneweudesman eacidfromDittrichia *Zingiber officinale* .PlantaMedica,51(5):471.

- **Bartels.A.(1997).**Guide despentesdubassinméditerranéen.EdEugenulmer,paris,172p.

- **Beckman.KB.,Ames.BN.(1999).**EndogenousoxidativedamageofmtDNA.MutatRes;424:51-8.
- **(BRAGA M.E.M., MORESCHI S.R.M., MEIRELES M.A.A. 2006).** Effects of Supercritical Fluid Extraction on Curcuma longa L. and Zingiber officinale R. Starches, Carbohydrate Polymers, 63: 340-346 p.
- **Beldjilali.F.,Madouni.N.(2015).**Evaluationdequelquesactivitésbiologiquesdel'huileessentielle de gingembre, Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master2,option phytothérapie et Santé. Université de Blida1.
- **Bellakhdar,J.(1997).**LaPharmacopéemarocainetraditionnelle:Médecinearabecancienneetsavoirspopulaires,Saint–Etienne, Ed.Ibis Press., p (196-197)
- **Benamara.M.N.,Mesroua.O.(2015).**Evaluationdel'activitéantioxydantedequelqueséchantillonsdemiellalgériens,MémoiredeFindeCycleEnvuedel'obtentiondudiplômeMASTER2,option Sciences Alimentaires ,Université A.MIRA-Bejaia. P16-19.
- **Benhammou,N.,AtikBekkara.F.(2005).**Contributionàl'étudedupouvoirantifongiquedel'huileessentiellede gingembre.MémoiredeMasterenChimie.UniversitédeTlemcen.,p(19).
- **Benhammou.N.,AtikBekkara.F.(2005).**Contributionàl'étudedupouvoirantifongiquedel'huileessentiellede *zingiber officinale*. MémoiredeMasterenChimie.Université deTlemcen., p(19).
- **Benkhnigue.O,et,al.(2010).**EtudeethnobotaniquedesplantesmédicinalesdanslarégiondeMechraâBelKsiri (RégionduGharb duMaroc).ActaBotanicaBarcinonensia, 53:p. 191-216.
- **Benkhnigue.O.,et,al.(2010).**EtudeethnobotaniquedesplantesmédicinalesdanslarégiondeMechraâBel Ksiri(Région duGharb duMaroc).ActaBotanica Barcinonensia,53: p.191-216. 3.
- **Bensakhria.A.(2015).**Stressoxydatif:Toxicologiegénérale.

- **Benseguenitounsi.L.(2001)**,Etudeinvitrodel'effetantibactérienneetantifongique de :*Zingiber officinale*
–lawsoniainermis–asphodelusmicrocarpus–aloevera–
juniperusoxycerdus.MémoiredemasterenmédecinevétérinaireuniversitédeConstantine, P(11).
- **Berger.M.(2006)**.Manipulationnutritionnellesdustressoxydant:étatdesconnaissancesnutritionnelmanipulationofstress:Reviewoftheévidencenutritioncliniqueetmétabolisme,20:48-53.
- **Bessas. A. (2008)**. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Thèse de fin d'étude d'ingénierie d'état en biologie, option contrôle de qualité et analyses. Université Djillali Liabes-Sidi Bel Abbas.
- **Bouaziz, H., Fki. Jemaih., AyadiM., Sayadi. S. (2008)**. Effect Of Storage On Refined And Husk Olive Oils Composition: Stabilization By Addition Of Natural antioxidant from chemlali Olive Leaves. Food Chemistry. 108:253-262.
- **Bruneton.J.(1999)**. Pharmacognosie, Photochimie-
Plantes médicinales. 3^{ème} éd., Tecet Doc. Lavoisier, Paris. pp 484-540, 555-558.
- **Can. Z., Yaldiz. O., Sahim. H., Turumtay. E.A., Silici. S., Kolayli. S. (2015)**. An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical Properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chemistry, 180: 133-141.
- **Chahmi. N., Anissi. J., Jennan. S., Farah. A., Sendide. K., El Hassouni. M. (2015)**. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* L. extracts selected from three regions of Morocco. Asian Pac J Trop Biomed ; 5(3): 228-233.
- **Chaou.S.(2017)**. caractérisation phytochimique de la partie aérienne de

la plante médicinale *Zingiber officinale*. (Asteraceae) de la région de djinet (boumerdès) .mémoire de master en biochimie appliquée. Université de boumerdès, P (3-6).

- **Chen.A., Pearson.M., Gray J.I.(1992).** Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, 43, 177-183.
- **Clifford.M.(1999).** Appendix 1. A Nomenclature For Phenols With Special Reference To Tea. Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- **Defraigne. J.O., Degrune. F., Malherbe. C., Paquot. N., Pincemail. J., Voussure.S. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21: 66-75.
- **Delattre.J., Théron.P., Bonnefont-Rousselot.D.,(2005).** Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier, 281-309.
- **Diallo. D.(2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros*. Thèse de doctorat, Lausanne, 148-17.
- **Djeridane.M., Yousfi.M., Nadjema.B., Boutassouna.D., Stocher P., Vidal.N.(2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. P97.
- **(Favier A., 2006.)** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr* . Mémoire des Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396
- **Favier. A. (2003).** Le stress oxydant intérêt conception et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et

potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 7: 108-115.

- **Fournier.P.(1947).** Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, édition LECHEVALIER : 176-178.
- **Garbari.F., pagni.A.(2007).** Glandular hairs of the ovary, a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy Ann, Bot, Fennici 44, P (1-7).
- **Gardès-Albert. M.B.R.D., Abedinzadeh, Z., Jore D, (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. L'actualité chimique. 330: 91-96. DEFR
- **(Gigon F. 2012)** Le Gingembre, Une Epice Contre la Nausée. Phytothérapie, 10 : 87-91.
- **Georgetti. S.R., Casagrande. R., Di Mambro. V.M., Azolini ana ECS., Fonseca Maria J.V.(2003).** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS Pharma. Sci. 5(2) : 5p.
- **Halimi.A.(1997).** Les plantes médicinales en Algérie. P.158-159.
- **Haoui. I., Derriche, R., Madani L., Oukai. Z. (2015).** Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *zingiber officinale*. Aiton. Arabian Journal of chemistry, 21 (4), p (587-590).
- **Haoui. I.E., et al. (2015).** Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *zingiber officinale* Aiton. Arabian Journal of Chemistry. 8(4): p. 587-590.
- **Hartmann.T.(2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of secondary metabolism, Review. Phytochemistry 68 2831–2846.
- **Ismail., hennaoui.A.(2015).** le guide de la flore de Tlemcen.
- **Ito.N., Fukushima.S., Hagiwara.A., Shibata.M., Ogiso.T.(1983)** .Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. Journal of the National Cancer Institute, 70, 343-352.

- **(Jagetta Gc, Baliga)** Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiat Res*, 2003 ; 160(5) : 584- 92.
- **(Kehrer.p.2008)**.radicauxlibresentantquemédiateurdesblessuresetdesmaladi estissulaires.Examenscritiques en toxicologie, 23 : 21-48.
- **(Kim Jk, Kim Y, Na Km,.)**. [6]-Gingerol prevents UVB induced ROS production and COX2 expression in vitro and in vivo. *Free Radic Res*, 2007 ; 41(5) : 603-14
- **(Khalil. E.A., AfifiF.U., Al-Hussaini. M. 2007)**. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice *Mus musculus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 129.p (104-112).
- **Lahsissene.H., Kahouadji.A., Hseini.S.(2009)**. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*.
- **Louni,D.,1994**. Les forêts algériennes. *Forêt méditerranéenne*, 15(1), p(59-63).
- **Martinez.C.(1995)**. Oxygen free radicals and human disease *biochimie*, 77 : 147-161.
- **Mensor. L.I., Menezes. F.S., Leitao. G.G., Reis. A.S., dos Santos. T., Coube. C.S., Leitao.S.G.(2001)**. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res*, 15, 127-130
- **Messoudi.S., Lahouazi.N.(2015)**. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DESEXTRACTS DES HUILES ESSENTIELLES DE L'INULE VISQUEUSE, projet de fin d'étude d'ingénieur, option Génie.
- **Morel. Y., Barouki. R., (1998)**. Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci(Paris)*; 14 : 713-21.

- **Ngene. J., et al. (2015).** Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88(1): p.8194–8210.
- **P.Wetwitayaklung,T.Phaechamud2.(2011).**Antioxidant activities and phenolic content of Solanum and Capsicum sp. *RJPBCS*, 2(146) :146-154.
- **Packer. L., Kraemer. K., Rimbach. G. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 17(10): 888-895.
- **Panfili.G.,Fratianni.A.Irano.M.(2003).** Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(14): 3940-3944.
- **Pérez Alonso.M.et al.(1996),** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(6): p. 349-351.
- **Pérez-Alonso.M.J.etal ;(1996).** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *zingiber officinale* Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 1996. 11(6): p. 349-351.
- **Pr.LABBANI.(2021-2022).** Métabolisme secondaire. Cours L3, option Biochimie végétale. BPV-FSNV/UFMC.
- **RajamanickamRajkumar.(2012)** .Topicson cervical cancer with an Advocacy for prevention.
- **Robbins.S,P.,Judje.T.(2003).** Essential, sof, Organizational Behavior (VOL.7). Prentice Hall, Upper Saddle River.
- **ROYER.M.(2013).** Etude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez

la tomate avec ousans bioagresseurs. Thèse de doctorat, option Sciences Agronomiques Université.

- Lorraine.**Sanchez. M. (1994)**. Implications des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anticancéreux. Thèse de fin d'étude pour l'obtenir le grade de docteur en pharmacie, option science technologie médecine, université Joseph Fourier-Grenoble 1.
- **Santos. S.A., et al,(2016)**. Changes in volatile compounds of *Dittrichia viscosa* caused by the attack of the gall-forming dipteran *Myopites stylatus*. *Industrial Crops and Products*.87:p.71-77.
- **Smith. A. R., Shenvi. S. V., Widlansky. M.J., Suh, H., Hagen. T. M. (2004)**. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 11 (9):1135-1146.
- **Strang.C.(2006)**. Larousse médical. Ed Larousse.
- **Suznjevic.D.Z.,Pastor.F.T.,Gorjanovic,S.Z.(2011)**. Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85:1398–1403.
- **Talib.W.H.,M.H.A.,Zarga.,A.M.(2012)**. Mahasneh, Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *zingiber officinale* *Molecules*, 17(3): p. 3291-3303.
- **Tang. S.Y., Halliwell. B. (2010)**. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies?. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(1): 1-5.
- **Tebbaa, M. et al, (2011)**. Short and efficient hemisynthesis of α -eudesmol and cryptomeridiol. *Tetrahedron letters*. 52(29): p. 3769-3771.
- **Trimech.I.et,al,(2014)**. Evaluation of Antioxidant and Acetylcholinesterase Activity and Identification of Polyphenolics of the Invasive Weed *Dittrichia viscosa*. *Phytochemical analysis*.25(5):p.

421-428.

- **Vamecq. J., Vallée. L., Storme. L., Gelé. P., Bordet.R. (2012).** Les acteurs immédiats du stress oxydatif. La lettre du pharmacologue volume 18 n°1.
- **Vernex-Lozet. C. (2011)** Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon.
- **Vongsak.B.,Bongsak.B.,Sithisarn.P.,Mangmool.,Thongpraditchote.S., Wongkrajan.(2013).** Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44: p.566-571.
- **(Zeghad.2009);** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales, d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister Université de Constantine. p 17-19-41