



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA –

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master académique en Biologie

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème:

**Etude phytochimique et activité
antioxydante et anti-inflammatoire de la
plante *Zingiber Officinale***

Présenté par:

BELHADJ Fatiha

Soutenu le 19/06/2018

Jury de soutenance :

Président : M. ZERAIB Azzeddine (M.C.B) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

Encadreur : Mme. KRIM Meriem (M.C.B) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

Examineur : M. RAHAL Khaled (M.A.A) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

ANNEE UNIVERSITAIE : 2017 - 2018

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH, le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de ce travail de recherche. Mon mémoire a atteint son terme grâce à l'assistance et à la collaboration de nombreuses personnes.

J'adresse mes sincères remerciements à mon encadreur : Mme. Krim Meriem. Maitre de Conférence Classe B au Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Abbes Laghreur khenchela , qui a tout d'abord accepté la conduite et la direction de mon mémoire, par sa rigueur scientifique, par ses conseils et ses encouragements. Mes sincères remerciements vont à M. Zeraib Azzeddine d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

J'exprime mes vifs remerciements à M. Rahal Khaled pour sa Précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Je voudrai également remercier tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques, en Signe d'un profond respect et d'un profond amour

Un grand Merci à tous les membres du laboratoire de « Biologie » et ceux du département biologie Moléculaire et Cellulaire.

Je tiens à remercier ma famille pour son soutien et ses encouragements.

Je tiens à remercier mes camarades de Master II et mes amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Un profond remerciement à toutes les personnes qui m'ont aidée et soutenue de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma
vie, ma mère, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,
courage et sécurité.*

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au
long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses
encouragements.*

A ma soeur: Zahra

A mes frères : Samir, Ali, Abdellah, Haroun et Khaled

*Et spécialement A mon frère Abdelfattah bien que tu n'es pas avec
moi aujourd'hui mais tu resteras toujours dans mon cœur et j'espère
que tu sois l'un des gens du paradis.*

À mes fidèles amies :

Sara, Mouna, Houria, Sarra.

A toute ma famille, proche ou éloignée.

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumés	
Introduction	01
Etude bibliographique	
Chapitre 1 : Généralités sur la plante	
1. Historique	03
2. Description botanique	03
3. Classification	04
4. Principaux constituants	05
5. Huile essentielle	08
6. Propriétés biologiques	08
6.1. Action antioxydante du gingembre	08
6.2. Action anti-inflammatoire	09
6.3. Action Antimicrobienne et antivirale	09
6.4. Usage de gingembre	09
7. Toxicité de gingembre	10
Chapitre 2 : Les métabolites secondaires	
1. Définition	11
2. Classification des métabolites secondaires	11
2.1. Les composés polyphénoliques	11
2.1.1. Classification des composés polyphénoliques	11
2.1.1.1. Les acides phénoliques	11
2.1.1.2. Les flavonoïdes	12
2.1.1.3. Les coumarines	14
2.1.1.4. Les tanins	14
2.1.1.5. Les quinones	16
2.1.1.6. Les lignanes et les lignines	16
2.2. Les alcaloïdes	17
2.3. Les terpénoïdes et les stéroïdes	18
2.4. Les saponines	18
Chapitre 3 : Activité antioxydante et anti-inflammatoire	
I. Activité antioxydante	20

I.1. Généralités	20
I.2. Les radicaux libres	20
I.3. Les antioxydants	20
I.3.1. Définition	20
I.3.2. Les systèmes antioxydants	21
I.3.3. Antioxydants endogènes enzymatiques	21
a. Superoxydes dismutases	21
b. Catalase	21
c. Glutathions peroxydases	21
d. Les protéines antioxydantes	22
I.3.4. Antioxydants d'origine végétale non enzymatiques	22
a. Vitamine E	22
b. Vitamine C	22
c. Les antioxydants phénoliques	22
I.3.5. Oligoéléments	23
II. Activité anti-inflammatoire	24
II.1. Généralités sur l'inflammation	24
II.2. L'inflammation aigue	25
A. Phase vasculaire (initiation)	26
B. Phase cellulaire (amplification)	26
C. Phase de réparation (effectrice)	26
II.3. L'inflammation chronique	27
II.4. Anti-inflammatoires	27
II.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	27
II.4.1.1. Définition	27
II.4.1.2. Mécanisme d'action des AINS	28
II.4.1.3. Classification des AINS	28
II.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	28
	Etude expérimentale
	Matériel et méthodes
I. Matériel	30
I.1. Matériel végétal	30
I.1.1. Récolte et préparation	30
I.2. Matériel de Laboratoire	30
I.2.1. Réactifs utilisés	31

I.2.2. Appareillage	31
II. Méthodes	31
II.1. Préparation des extraits	31
II.2. Etude phytochimique	32
II.2.1. Tests phytochimiques	32
II.2.2 Analyses quantitatives des extraits	34
II.2.2.1 Dosage des composés phénoliques	34
a. Dosage des polyphénols totaux	34
b. Dosage des flavonoïdes	35
II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante	36
II.2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	38
Résultats et discussion	
I. Etude phytochimique	40
I.1. Rendements des extraits	40
I.2. Tests phytochimiques	40
I.3. Analyses quantitatives des extraits : Dosage des composés phénoliques	41
II. Evaluation de l'activité antioxydante	44
III. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	47
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

Abs :	Absorbance
AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS :	Anti-Inflammatoire stéroïdien
COX-1 :	Cyclooxygénase-1
COX-2 :	Cyclooxygénase-2
DPPH' :	2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl
ERO :	Espèces réactives oxygénées
EZAJ :	Extrait de zingiber avec jus
EZSJ :	Extrait de zingiber sans jus
HCL :	Acide chlorhydrique.
I%:	Pourcentage d'inhibition
IC50 :	Concentration permettant la réduction de 50 % du radical DPPH
IPP :	Pyrophosphate d'isopentényle
R :	Rendement exprimé
m :	Masse en gramme de l'extrait sec récupéré
m0 :	Masse en gramme du matériel végétal
mg EAG / g E :	Milligramme équivalent acide gallique /gramme extrait
mg EQ / g E :	Milligramme équivalent quercitine /gramme extrait
NaCl :	Chlorure de Sodium
Na₂CO₃ :	Bicarbonate de Sodium
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NH₄OH :	Ammoniaque
UV :	Ultra –violet
UV-Vis :	Ultra-violet-Visible
Vit :	Vitamine

Liste des figures

Figure 01: <i>Zingiber Officinale</i> Roscoe.....	04
Figure 02 : Les principaux composants actifs du Gingembre : gingérol, shogaol, paradol et isogingerol.....	06
Figure 03 : Structures de quelques composants de l'huile essentielle du gingembre.....	08
Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes.....	12
Figure 05: Structures des différentes classes de flavonoïdes	13
Figure 06 : Structures générales des deux types de tanins végétaux.....	15
Figure 07 : Les différents types de quinones.....	16
Figure 08 : Structure chimique de lignine.....	17
Figure 09 : La réaction inflammatoire schématisée.....	25
Figure 10 : La réponse inflammatoire aigue : (A) initiation, (B) amplification, (C) réparation.....	26
Figure 11 : Mode opératoire de dosage des polyphénols.....	35
Figure 12 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes.....	36
Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	38
Figure 14 : Rendements des extraits des rhizomes de <i>Z. officinale</i>	40
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'EZAJ.....	45
Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'EZSJ.....	45

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification botanique du gingembre	04
Tableau 2 : Profil nutritionnel du gingembre (100 g).....	06
Tableau 3 : Activités biologiques des composés phénoliques.....	19
Tableau 4 : Réactifs Chimiques utilisés.....	31
Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts des rhizomes des <i>Z. Officinale</i>	41
Tableau 6 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits des rhizomes de <i>Z. Officinale</i>	42
Tableau 7 : pourcentage d'inhibition de DPPH de l'EZAJ et l'EZSJ.....	46
Tableau 8 : Valeurs des IC 50 de l'acide ascorbique et les différents extraits méthanolique des rhizomes de <i>Z. Officinale</i>	46
Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.....	47

Résumés

Résumé

Le gingembre ou *Zingiber Officinale*, est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées et représente l'une des plantes médicinales les plus anciennes connues par l'être humain. Notre travail de recherche a été initialement consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de deux extraits des rhizomes de gingembre. Le premier extrait contient le jus (EZAJ) alors que le deuxième ne le contient pas (EZSJ).

Nous avons tout d'abord procédé au screening phytochimique, la quantification des teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes par dosage colorimétrique et l'activité antioxydante a été déterminée par le test de piégeage du radical libre DPPH. En outre, l'activité anti-inflammatoire a été effectuée in vitro en utilisant la méthode de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

Les résultats obtenus montrent un rendement plus élevé dans l'EZAJ. L'étude phytochimique a révélé la présence des principaux métabolites notamment : les flavonoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs dans l'EZAJ. Nous avons enregistré aussi la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des quinones libres et des terpénoïdes dans l'EZSJ. Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ ont révélé la richesse de l'EZAJ en polyphénols (71,96 µg EAG/mg d'extrait) et en flavonoïdes (3,09 µg EQ/mg d'extrait). L'EZSJ contient une quantité plus faible en polyphénols (26,84µg EAG/mg d'extrait) et en flavonoïdes (2,45 µg EQ/mg d'extrait).

La meilleure activité antioxydante a été obtenue par l'EZAJ, en piégeant le radical DPPH[•], avec une valeur d'IC₅₀ de 0.071 ±0.02 mg/ml. Aussi, les résultats montrent une activité anti-inflammatoire importante des deux extraits.

Ces résultats suggèrent que le gingembre pourrait servir comme une source alternative d'agents antioxydants et anti-inflammatoires pour la protection des êtres humains contre les dommages oxydatifs et inflammatoires.

Mots clés : *Zingiber Officinale*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Abstarct

Ginger or *Zingiber Officinale* is a plant that belongs to the Zingiberaceae family and is one of the oldest medicinal plants known to humans. Our research was initially devoted to the phytochemical study and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of two ginger rhizome extracts. The first extract contains the juice (EZAJ) while the second does not (EZSJ).

We first proceed to a phytochemical screening, quantification of total polyphenol and flavonoid contents by colorimetric assay and anti-oxidant activity was determined by the DPPH free radical scavenging assay. In addition, the anti-inflammatory activity was realized *in vitro* using the method of denaturation of albumin inhibition.

The results obtained show a higher yield in the EZAJ. The phytochemical study revealed the presence of the main metabolites including: flavonoids, free quinones and reducing compounds in EZAJ. We also recorded the presence of polyphenols, flavonoids, free quinones and terpenoids in EZSJ. Quantitative determinations of total polyphenols by Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the $AlCl_3$ method revealed the richness of EZAJ in polyphenols (71.96 μ g EAG/mg of extract) and flavonoids (3, 09 μ g EQ/mg of extract). EZSJ contains a lower amount of polyphenols (26.84 μ g EAG/mg of extract) and flavonoids (2.45 μ g EQ/mg of extract).

The best antioxidant activity was obtained by EZAJ, trapping the DPPH \cdot radical, with an IC50 value of 0.071 \pm 0.02 mg/ml. Also, the results show a significant anti-inflammatory activity of the two extracts.

These results suggest that ginger may serve as an alternative source of antioxidant and anti-inflammatory agents for protecting humans against oxidative and inflammatory damages.

Key words: *Zingiber Officinale*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

الملخص

الزنجبيل أو *Zingiber Officinale* ، هو نبات ينتمي إلى عائلة *Zingiberaceae* وهي واحدة من أقدم النباتات الطبية المعروفة للبشر. كان عملنا البحثي مكرسًا في البداية للدراسة الكيميائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للالتهاب لمستخلصين من جذور الزنجبيل. يحتوي المستخلص الأول على العصير (EZAJ) بينما لا يحتوي الثاني عليه (EZSJ) .

أولاً قمنا بالفحص الكيميائي النباتي، أين تم التحديد الكمي لمستويات البوليفينول والفلافونويد بواسطة فحص اللونية والنشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبار محاصرة DPPH للجذور الحرة. بالإضافة إلى ذلك ، وبالإضافة إلى ذلك، تم إجراء النشاط المضاد للالتهابات في المختبر باستخدام أسلوب تثبيط تمسخ الألبومين.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن أعلى عائد كان في EZAJ. وكشفت الدراسة الكيميائية النباتية عن وجود المستقلبات الرئيسية بما في ذلك: الفلافونويد والكينونات الحرة و المركبات المرجعة في EZAJ. سجلنا أيضا وجود البوليفينول ، الفلافونويد ، الكينونات الحرة والتيريبيويدات في EZSJ. كشفت الفحوصات الكمية لإجمالي البوليفينول التي تم تحقيقها بطريقة Folin-Ciocalteu وفلافونيدات بطريقة $AlCl_3$ عن كمية معتبرة البوليفينول EAG (EZAJ 71.96 ميكروغرام / استخراج ملغ) وفلافونيدات (3.09 ميكروغرام من مكافئ مكافئ / ملغ من استخراج). يحتوي EZSJ على كمية أقل من مادة البوليفينول (26.84 ميكروغرام من EAG / mg من المستخلص) والفلافونويد (2.45 ميكروغرام من مكافئ EQ / mg).

تم الحصول على أفضل نشاط مضاد للأكسدة من قبل EZAJ ، بمحاصرة DPPH ، مع قيمة IC_{50} من 0.071 ± 0.02 ملغ / مل. أيضا ، أظهرت النتائج وجود نشاط مضاد للالتهابات كبير في كلا المستخلصين.

هذه النتائج تشير إلى أن الزنجبيل قد يكون بمثابة مصدر بديل للعناصر المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات لحماية البشر ضد الأضرار التأكسدية والالتهابات.

الكلمات المفتاحية: الزنجبيل ، البوليفينول ، الفلافونويدات ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للالتهاب.

Introduction

Introduction

De nos jours, la plupart des recherches se concentrent sur les plantes médicinales en raison de leurs activités pharmacologiques très importantes et leur faible toxicité. Parmi ces plantes médicinales nous avons choisi « *Zingiber officinale* ».

Zingiber officinale Roscoe (Gingembre) appartient à la famille des Zingiberaceae. Le gingembre a été utilisé comme épice pour plus de 2000 ans, le rhizome de gingembre est connu pour sa contribution à la nutrition (Awe *et al.*, 2013) et aussi une plante médicinale importante et couramment utilisée dans les aliments et les compléments alimentaires. Cette plante a été considérée comme un ingrédient important pour le traitement de diverses maladies et troubles (Wang et Wang, 2005 ; Tapsell *et al.*, 2006 ; Abdelmotalab Omer *et al.*, 2015 ; Rubila, 2014). De nombreuses recherches ont démontré la puissance biologique des activités de *Z. Officinale* incluant l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne et les effets anti-thrombotiques, antioxydante et le traitement de les maladies d'Alzheimer, hépatoprotecteur, analgésique, antipyrétique, activités antispasmodiques, antitumorales (Khaki *et al.*, 2009 ; Ghasemzadeh et Hawa, 2011 ; Tohm *et al.*, 2017).

La sélection de cette plante s'est fondée sur les critères suivants :

- Parce que le gingembre est mentionné dans le coran.
- Il est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.
- Il est parmi les plus populaires plantes aromatiques et médicinales utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire, celui de la médecine traditionnelle, les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

A la lumière de ces données, notre travail a pour objectif de réaliser une étude phytochimique (screening phytochimique et dosages des polyphénols et des flavonoïdes) et d'effectuer une recherche sur l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* du gingembre.

Notre travail sera donc réparti en deux parties :

- Une recherche bibliographique ou nous apportons dans le premier chapitre un abrégé de l'histoire, de l'utilisation et la description botanique et systématique de la plante étudiée et ses propriétés. Le deuxième chapitre élucidera la classification, la composition et l'intérêt thérapeutique de quelques groupes importants des

métabolites secondaires. Et le dernier chapitre présente un résumé des activités biologiques étudiées.

- Une partie expérimentale subdivisée en deux chapitres, le premier présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail et le deuxième chapitre comportera les résultats obtenus dans cette étude.

Partie I

Etude

Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur la

plante

1. Historique

La littérature la plus ancienne souligne l'importance économique et médicinale du gingembre dans toutes les grandes civilisations du Moyen-Orient, l'Asie et l'Europe remonte à 5000 avant JC à 2000 avant JC. Le gingembre est connu des Chinois depuis 400 avant J.-C. et il est cultivé en Inde depuis des temps immémoriaux. Il a également été utilisé par les Romains et les Grecs comme épice qui le considérait comme un produit arabe. Ibne Baitar l'a décrit comme «plante célèbre ayant une odeur très attrayante», il est décrit dans le Coran et poète fait de la poésie; Il est utilisé dans la médecine et les remèdes alimentaires depuis très longtemps. En Inde, il est cultivé depuis l'ère préhistorique. Ses propriétés sont décrites dans l'ancien texte ayurvédique Charaka (Tauheed, 2017). Une autre source indique que, dès 1400 avant J.C., les Phéniciens en commerce en Grèce. C'était une épice très recherchée en Europe pendant le Moyen Âge (Pierre *et al.*, 2012).

2. Description botanique

Le gingembre est une plante tropicale herbacée vivace poussant dans les régions ensoleillées et humides, se dressant sur une tige de 1,50 m en moyenne, mais pouvant atteindre 3 m de haut (Gigon, 2012). Cette plante porte deux sortes de tiges aériennes dressées : les unes stériles avec des feuilles linéaires lancéolées, engainantes, et les autres fertiles portant des sortes de bractées engainantes sont terminées par un épi ovoïde avec des fleurs jaune verdâtre. Inflorescence en épi serré de fleurs irrégulières (Bayala, 2014). Les rhizomes sont aromatiques, lobés épais, jaunâtres pâles, (Jyotsna *et al.*, 2017). Le rhizome est la seule partie utilisée (Perotto, 2013) (Figure 01).

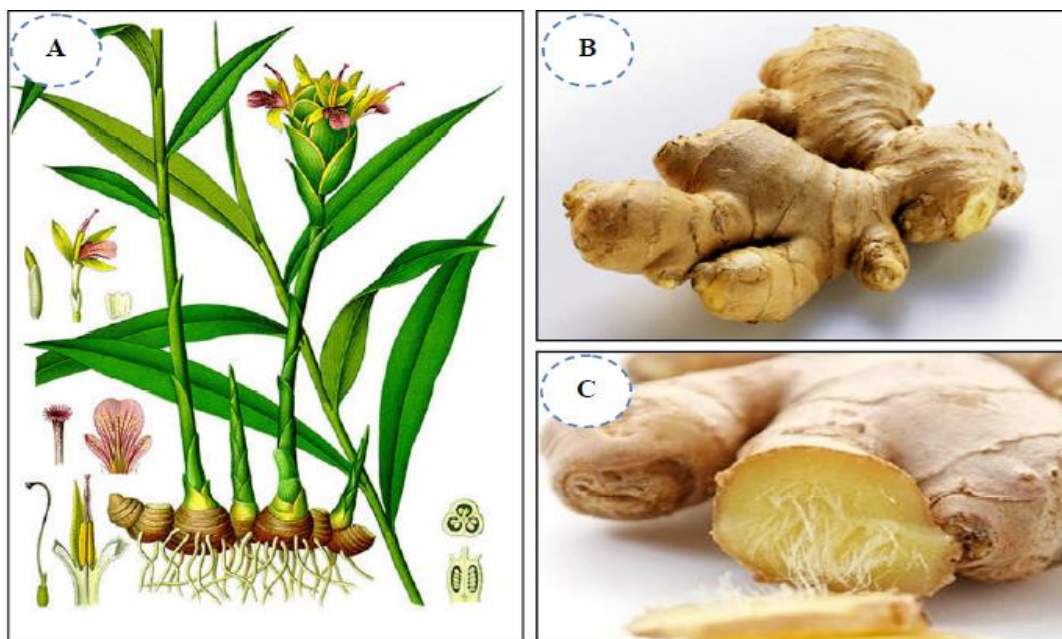


Figure 01: *Zingiber officinale* Roscoe (Gigon, 2012).

A) La plante entière ; B) et C) Le rhizome

3. Classification

Tableau 1 : Classification botanique du gingembre (Faivre *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012) :

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta (ou Angiospermes)</i>
Classe	<i>Liliopsida(ou Monocotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Zingiberidae</i>
Ordre	<i>Scitaminales ou Zingibérales</i>
Famille	<i>Zingiberaceae</i>
Sous-famille	<i>Zingiberoideae</i>
Espèce	<i>Zingiber Officinale</i> Roscoe

4. Principaux constituants

Dans le rhizome du gingembre frais, les gingérols ont été identifiés comme les principaux composants actifs (figure 02 ; tableau 2). Les gingérols sont un groupe de composés polyphénoliques structurellement apparentés isolés du gingembre et connus pour être les constituants actifs. La perception sensorielle du gingembre provient de deux groupes distincts de produits chimiques, à savoir des huiles volatiles et des composés piquants non volatils (Subash *et al.*, 2014 ; Gail *et al.*, 2003). Les composants volatils de l'huile sont principalement constitués d'hydrocarbures sesquiterpéniques, principalement du zingibérène (35 %), du curcumène (18 %) et farnésène (10 %), avec des quantités moindres de bisabolène et de β -sesquiphellandrène. Une plus petite quantité d'au moins 40 différents hydrocarbures monoterpénoïdes sont présents avec le 1, 8-cinéole, néral, le bornéol, le linalol et le géraniol étant les plus abondantes et beaucoup de ces composants volatils de l'huile contribuent à l'arôme distinct et le goût du gingembre. Le gingembre contient des constituants biologiquement actifs, y compris les principes piquants non volatils, tels que les gingérols, les paradigmes, les shogaols et le zingérone qui produisent une sensation de chaleur. Le gingembre contient le zingibérène et le 6- gingérol qui sont deux constituants importants des médicaments stomachiques. Les gingérols ont été identifiés comme les principaux composants actifs dans le rhizome frais et sont une série d'homologues chimiques différenciées par la longueur de leurs chaînes alkyles non ramifiées. En outre, les shogaols, la forme déshydratée des gingérols, sont les principaux constituants piquants dans le gingembre séché. Le paradol est similaire au gingérol et se forme lors de l'hydrogénation du shogoal. En plus des oléorésines extractibles, le gingembre contient beaucoup de graisses, de vitamines, de glucides, de cires et de minéraux représentés dans le tableau 02. Les rhizomes de gingembre contiennent également le zingibain qui est une enzyme protéolytique puissante (Ranjani, 2013).

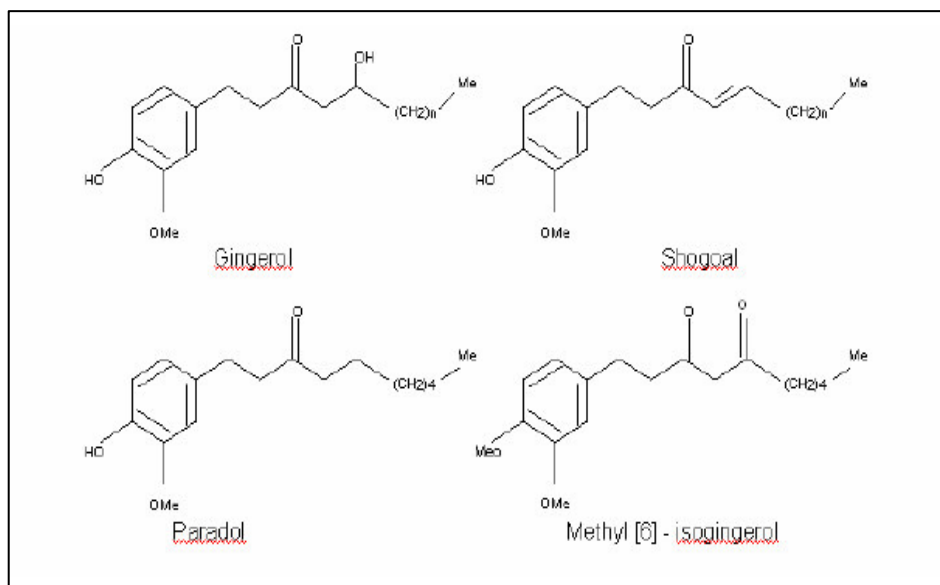


Figure 02 : Les principaux composants actifs du gingembre : gingérol, shogaol, paradol et isogingerol (Santosh *et al.*, 2014).

Tableau 2 : Profil nutritionnel du gingembre (100 g) (Chouleur *et al.*, 2009 ; Singh, 2017)

Types de nutriments	Exemples de Nutriments	Montant
Energie	----	80Cal
Protéine	----	/333kJ
Eau	----	1,8 g
Phyto-stérols	----	78,9 g
Les glucides	Glucides totaux	15 mg
	Fibre alimentaire	18 g
	Sucre	2 g
Graisses et acides gras	Graisse totale	1,7 g
	Gras saturé	750 mg
	Graisse mono insaturée	203 mg
	Graisse polyinsaturée	154 mg
	Les acides gras omega-3	154 mg
	Acides gras oméga-6	34 mg
	Vitamines	Vitamine C
Vitamine C 5mg	Vitamine E	5 mg

Thiamine 0.023g	Vitamine K	0,26 mg
Riboflavine 0.034mg	Thiamine	0,01 mg
Niacine 0.750mg	Riboflavine	0,25 mg
Vit B5 0.203mg	Niacine	0,34 mg
Vit B6 0.160mg	Vitamine B6	0,750 mg
Folate 11	Acide folique	0,160 mg
Choline 28.8mg	Acide pantothénique	0,11 mg
Vit E 0.26mg	Choline	0,203 mg
Vit K 0.1mg	Calcium	28,8 mg
	Le fer	16 mg
	Magnésium	0,600 mg
	Phosphore	43 mg
	Potassium	34 mg
	Sodium	415 mg
	Zinc	13 mg
	Cuivre	0,340 mg
	Manganèse	0,226 mg
	Sélénium	0,229 mg
Minéraux	Tryptophane	0,7 mg
	Thréonine	12mg
	Isoleucine	36mg
	Leucine	51mg
	Lysine	74mg
	Méthionine	57mg
	Cystine	13mg
	Phénylalanine	8mg
	Tyrosine	45mg
	Valine	20mg
Acides, aminés	Arginine	73mg
	Histidine	43mg
	Alanine	30mg
	Acide aspartique	31mg
	Acide glutamique	208mg

Glycine	162mg
Proline	43mg
serine	41mg

5. Huile essentielle du gingembre

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Z. officinale* effectuée par Nogueira de Melo *et al.*, (2011) a permis d'identifier l'arcurcumène (59 %), le β -myrcène (14 %), le 1,8-cinéole (8 %), le citral (7,5 %) et le zingibérène (7,5 %) comme étant les principaux composés. D'autres études ont détectées dans cette huile essentielle l' α -zingibérène (31 %), l'arcurcumène (15,4 %) et le sesquiphellandrène (14,02 %) comme étant les principaux composés. L' α -zingibérène (23,9 %) et le citral (21,7 %) ont également été identifiés comme étant les composés majoritaires de l'huile essentielle de cette plante (Bayala, 2014). La figure 03 ci-dessous présente la structure quelques composants de l'huile essentielle du gingembre.

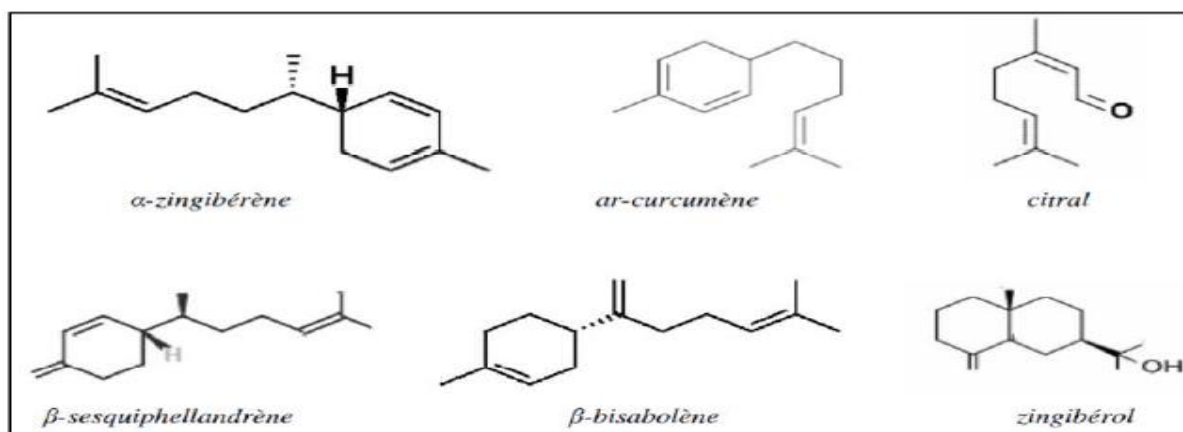


Figure 03 : Structures de quelques composants de l'huile essentielle du gingembre (Benzeggouta, 2015).

6. Propriétés biologiques

6.1. Action antioxydante

Plusieurs études ont étudié les effets antioxydants du gingembre. Le 6-gingérol semble être le constituant antioxydant présent dans le gingembre. L'huile de gingembre a des effets protecteurs dominants sur les dommages de l'ADN induite par le H_2O_2 . L'huile de gingembre pourrait aussi agir en tant que piègeur des espèces réactives de l'oxygène et

pourrait être utilisé donc comme antioxydant (Rajesh *et al.*, 2012). Le gingembre inhibe la peroxydation des lipides, ainsi que la chaîne enzymatique liée au stress oxydant (Chouleur *et al.*, 2009).

6.2. Action anti-inflammatoire

Le gingembre contient des composés anti-inflammatoires puissants appelés gingérols. On pense que ces substances expliquent pourquoi tant de personnes souffrant d'arthrose ou de polyarthrite rhumatoïde connaissent des réductions de leur niveau de douleur et des améliorations de leur mobilité lorsqu'elles consomment régulièrement du gingembre. L'un des mécanismes par lesquels le gingembre exerce ses effets améliorateurs pourrait être lié à l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et des leucotriènes (Gupta et Sharma, 2014). Le gingembre a été utilisé pour moduler certaines voies biochimiques activées dans l'inflammation chronique et inhiber l'induction de plusieurs gènes impliqués dans la réponse inflammatoire, et certains d'entre eux les gènes qui codent pour les cytokines, les chimiokines et l'enzyme cyclo-oxygénase-2 (COX-2) (Ali *et al.*, 2007).

6.3. Action Antimicrobienne et antivirale

Les extraits du gingembre ont des effets antibactériens à la fois contre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatives telles que : Clostridium, Listeria, Enterococcus et Staphylococcus (Kathi, 1999), et aussi vis-à-vis : Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium et Escherichia coli. Le gingembre possède un effet antifongique vis-à-vis : Candida albicans et Rhizopus sp. (Ficker *et al.*, 2003), un effet inhibiteur contre le HIV (Mukherjee *et al.*, 2014).

6.4. Usage de gingembre

- Dans la cuisine : Il est utilisé dans la confection de pain d'épices, de biscuits, de desserts, dans les viandes, les poissons, le poulet, dans les soupes et pour aromatiser le riz (Charles, 2013).
- Dans la thérapeutique: Antiémétiques, Anti-cancer, anticoagulants, Antitussifs, antigénotoxique, antiarthritique, anti nociceptifs. Aussi le gingembre a des effets gastro-intestinaux cardiovasculaires soulageants. Ainsi il peut aider à perdre du poids (Rajesh *et*

al., 2012). Chouleur *et al.*, (2009) ont démontré l'effet bénéfique du gingembre contre la maladie d'Alzheimer.

7. Toxicité de gingembre

- Plusieurs auteurs recommandent aux personnes prenant des anti-coagulants (tel que l'héparine, le coumadin ou l'aspirine) ou subissant prochainement une chirurgie, d'éviter de consommer de grandes quantités de gingembre afin de diminuer les risques de saignements excessifs, en raison de sa capacité à inhiber la thromboxane synthase.
- Le gingembre peut éventuellement conduire à des avortements spontanés, des mutations du fœtus, ou un risque accru de saignements (Chouleur *et al.*, 2009).

Chapitre 2

Les métabolites secondaires

1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002 ; Marouf et Reynaud, 2007).

2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes :

- Phénols et polyphénols ;
- Terpénoïdes et stéroïdes ;
- Alcaloïdes.

2.1. Les composés polyphénoliques

Les polyphénoliques sont présents dans toutes les parties supérieures des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Les composés polyphénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyl ester, glycosides...) (Girotti-Chanu, 2006).

2.1.1. Classification des composés polyphénoliques

La classification de ces substances a été proposée par Harborne (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, six principales classes sont largement répandues (Macheix *et al.*, 2006).

2.1.1.1. Les acides phénoliques

Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols (Sharma *et al.*, 2015). Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique

et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Belyagoubi, 2011 ; ; watson *et al.*, 2013).

➤ Propriétés biologiques

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes. (Cazes, 2005), anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Zakkad, 2017).

2.1.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Marfak, 2003). Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé (Tsimogiannins *et al.*, 2006). Ces molécules sont considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999). Ce sont des composés possédant un squelette de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3 -C6), constitués de deux noyaux aromatiques(ou anneaux) que désignent les lettres A et B et d'un hétérocycle central d'oxygénés (figure 04) (Dacosta, 2003 ; De Souza *et al.*, 2004). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder *et al.*, 2003).

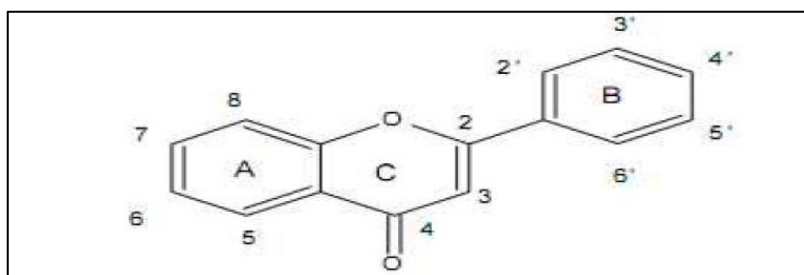


Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes (Girotti-Chanu, 2006).

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes (figure 05) dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes (Zakkad, 2017).

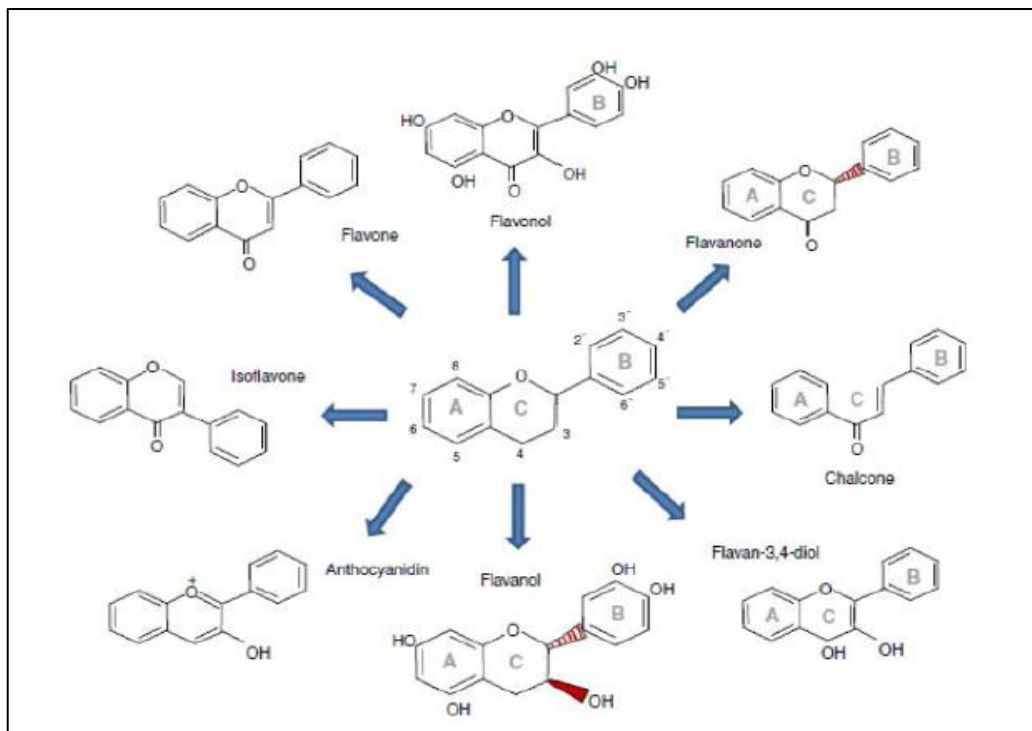


Figure 05 : Structures des différentes classes de flavonoïdes (Fraga & Oteiza, 2011).

➤ Propriétés biologiques

- La principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété «vitaminique P», ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Les flavones et flavonols sont deux classes de flavonoïdes protecteur de cellules végétales contre les effets nocifs des radiations ultraviolettes excessives, et contre les rayons Y et l'ozone.
- Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres impliqués dans la peroxydation lipidique.
- Ce sont des protecteurs vasculaires améliorant la résistance et la perméabilité des vaisseaux aussi bien artériels que veineux. Ils augmentent aussi la résistance des vaisseaux en protégeant le tissu conjonctif périvasculaire des dégradations enzymatiques (Harbone et Williams, 2000).

2.1.1.3. Les coumarines

Les coumarines sont des composés obtenus par lactonisation de l'acide orthocoumarique. Ces coumarines, une fois hydroxylés sur le noyau aromatique, sont des composés phénoliques à structures variables. Elles sont généralement substituées en C7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées (Jutiviboonsuk, 2005 ; Zakkad, 2017). Ces composés sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base: le benzo-2-pyrone. A présent plus de 1000 composés coumariques sont isolés dont plus de 800 sont isolés à partir des plantes et des micro-organismes (Sakagami *et al.*, 2005). Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique, ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Zakkad, 2017).

➤ Propriétés biologiques

Les coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anti-coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides. La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti-tumoraux, anticancéreux, antimicrobiens et anti- inflammatoires (Dridi, 2015).

2.1.1.4. Les tanins

On appelle communément « Tanins » des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther. Les tanins (ou tannins) représentent une classe très importante de polyphénols utilisés pour tanner les peaux. Ils ont la propriété de se combiner aux protéines, ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités. Les tanins sont localisés dans les vacuoles. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Karamać, 2009 ; Zakkad, 2017). On retrouve :

- Les tanins hydrolysables : sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006) chez les angiospermes dicotylédones (Richard, 2012).
- Les tanins condensés (proanthocyanidols) ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols (figure 06). Les polymères donnent une structure hérissée d'OH phénoliques capable de former des liaisons stables avec les protéines (Montenegro de Matta *et al.*, 1976, Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

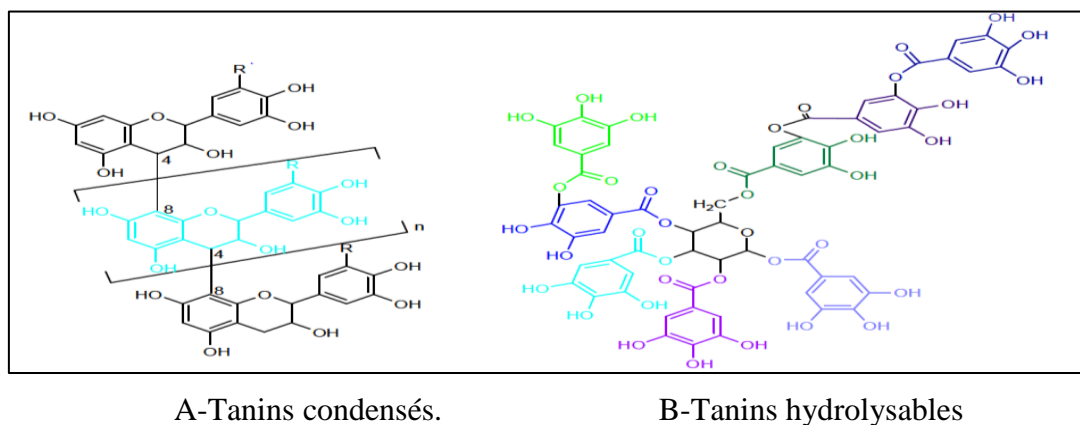


Figure 06 : Structures générales des deux types de tanins végétaux (Richard, 2012).

➤ Propriétés biologiques

- La plupart des propriétés biologiques des tanins sont dues à leur pouvoir de se combiner avec les macromolécules en particulier les protéines.
- Les tanins exercent un effet antidiurétique et antiseptique.
- Ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. Ils ont la propriété de coaguler les protéines de salive, ce qui rend les tissus riches en tanins peu consommables par les herbivores.
- De même, la teneur élevée en tanins rencontrée chez les plantes parasitées joue un rôle de défiance contre les bactéries et les champignons en précipitant les enzymes extracellulaires sécrétées par les microorganismes (Guignard, 2000).

2.1.1.5. Les quinones

Les quinones sont des composés de benzène dans lesquels deux atomes d'hydrogène du noyau sont remplacé par deux atomes d'oxygène. Le mot quinone représente un grand ensemble de composés possédant le même motif de base un cyclohexadiène comportant deux doubles liaisons exo-cyclique (figure 07).

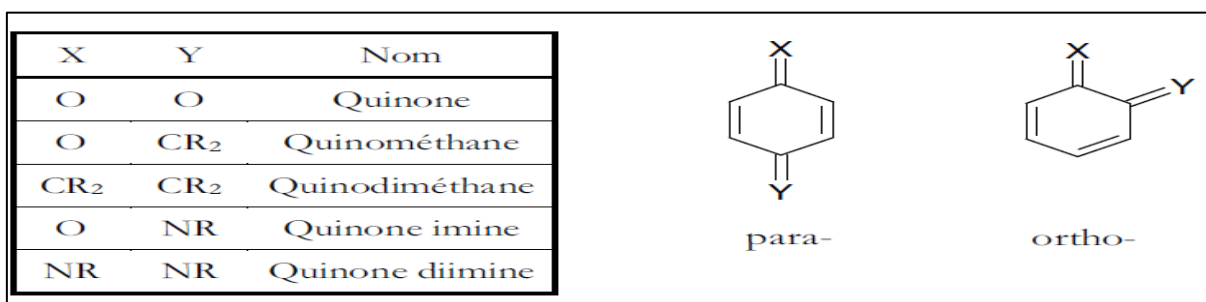


Figure 07 : Les différents types de quinones (R: groupe d'atomes quelconque) (Stéphane, 2001).

On peut distinguer plusieurs type de quinones selon la nature des substituants X et Y, chacun de ces groupe étant constitués de sous-groupe : les ortho-(o-) et les para (p-). On remarquera que le mot quinone est employé pour désigner à la fois l'ensemble de ces composés et ceux où les double liaisons exocycliques sont des carbonyles (Stéphane, 2001).

2.1.1.6. Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines. Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*coumarique, coniférique et sinapique (Jutiviboonsuk, 2005) (figure 08).

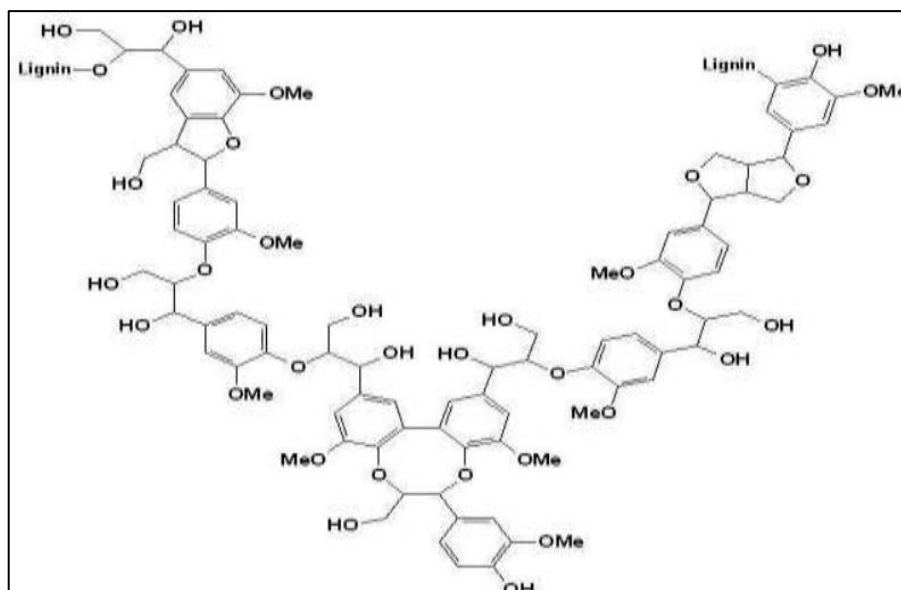


Figure 08 : Structure chimique de lignine (Scalbert et williamson, 2000).

2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers, d'origine naturelle, avec une structure complexe et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (Dellile, 2007; Bruneton, 2009). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (Judd *et al.*, 2002).

➤ Propriétés biologiques

- Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :
- Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine);
- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anticholinergiques et ganglioplégiques.
- On note aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques (Bruneton, 1999).

2.3. Les terpénoïdes et les stéroïdes

L'interface entre le métabolisme primaire et secondaire est moins facile à définir dans le cas des métabolites terpéniques (dérivés isoprénoïdes), parce que les unités terpéniques sont également présents dans de nombreux composés associés au métabolisme primaire, comme les hormones et les vitamines. Les précurseurs de tous les isoprénoïdes, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), sont synthétisés dans les plantes supérieures (Modolo *et al.*, 2009).

➤ Propriétés biologiques

-Un certain nombre de stéroïdes végétaux possèdent une activité pharmacologique intéressante. Il s'agit notamment des glycosides digitaliques (cardénolides) de la digitale *Digitalis lanata*. Ceux-ci sont utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.

- L'utilité des terpènes a été démontrée pour la chimiothérapie de plusieurs maladies, comme le taxol et l'artémisinine (Jennewein et Croteau, 2001 ; Rodriguez-Concepcion, 2004) et aussi pour des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires, antivirales, antioxydantes, antiallergènes, antispasmodiques, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (Paduch *et al.*, 2007).

2.4. Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Ainsi on distingue fondamentalement, les saponines stéroïdiques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux, biosynthétiquement de l'oxydosqualène (Vincken *et al.*, 2007).

➤ Propriétés biologiques

Les saponines ont des activités : antiallergique, antivirale, hypoglycémiantes, antifongique et anti-tumorale. Elles ont aussi une action sur le système cardiovasculaire, le système nerveux centrale et le système endocrinien (Harborn, 1971). Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides et molluscicides (Vincken *et al.*, 2007).

Le tableau 3 résume les différentes propriétés biologiques des métabolites secondaires étudiés.

Tableau 3 : Activités biologiques des composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006).

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydante
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydante
Anthocyanes	Protectrices capillaroveineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiqes	Antioxydantes

Chapitre 3

Activité antioxydante et anti-inflammatoire

I. Activité antioxydante

I.1. Généralités

L'oxydation de divers substrats endogènes : les phospholipides des membranes cellulaires, les protéines et l'ADN, conduit à la formation des radicaux libres ou des espèces réactives oxygénées (ERO). La formation des ERO est un processus tout à fait naturel et joue un rôle essentiel dans l'organisme : efficacité de l'apoptose, prolifération cellulaire normale, régulation de la pression sanguine, état redox normal pour l'expression des gènes, etc... (Rousseau, 2004).

I.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko *et al.*, 2007). Actuellement, on emploie le terme « espèces réactives de l'oxygène » pour désigner un ensemble plus large de molécules :

- Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié: l'anion superoxyde, l'O₂^{•-}, les radicaux hydroxyles HO•, peroxyde ROO•, alkoxyde RO• (Favier, 2003).
- Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), L'oxygène singulet l'O• et le nitroperoxyde •ONOOH, mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (Favier, 2003).

I.3. Les antioxydants

I.3.1. Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (Tang et Helliwell, 2010). Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en

bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (Behera *et al.*, 2006).

I.3.2. Les systèmes antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes.

I.3.3. Antioxydants endogènes enzymatiques

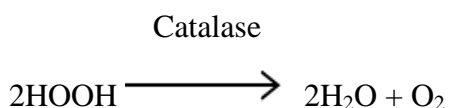
a. Superoxydes dismutases

Les superoxydes dismutases (SOD) se présentent sous trois formes (Negre-Salvayre *et Salvayre*, 2005), qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire :

- SOD cytoplasmique dimérique à cuivre et zinc (Cu, Zn-SOD) ;
- SOD extracellulaire tétramérique à cuivre et zinc (Cu, Zn-SOD) ;
- SOD mitochondriale tétramérique à manganèse (Mn-SOD) (Zelko *et al.*, 2002).

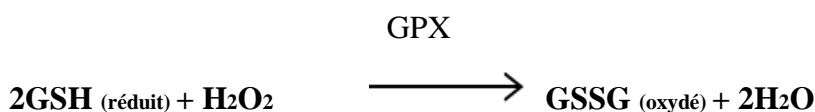
b. Catalase

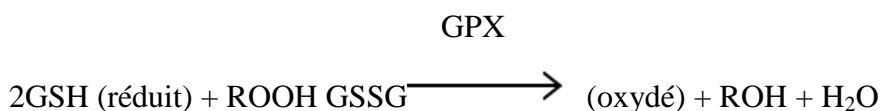
Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. La catalase est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Delattre *et al.*, 2005).



c. Glutathions peroxydases

C'est la première ligne de défense enzymatique pour lutter contre les effets néfastes des ERO (Pincemail *et al.*, 2009). Cette enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Valko *et al.*, 2006).





d. Les protéines antioxydantes

La transferrine, la ferritine et la céruléoplasmine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions (Curtay et Robin, 2000; Pincemail *et al.*, 2002). Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle redox du métal et construisent des complexes métalliques insolubles (Cillard et Cillard, 2006).

I.3.4. Antioxydants d'origine végétale non enzymatiques

a. Vitamine E

La vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires en captant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahamet, 2003).

b. Vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O_2^- , du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , des radicaux hydroxyles $\text{HO}\cdot$, et de l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, avant qu'ils initient la peroxydation lipidique. Le produit formé étant le radical ascorbyle. La vitamine C protège ainsi les biomembranes et les lipoprotéines. (Bouldjadj, 2009).

c. Les antioxydants phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui ont des propriétés antioxydantes (Li *et al.*, 2014). Ils qui sont une réserve pour lutter contre les radicaux libres et stopper la réaction en chaîne (Rolland, 2004).

- ❖ **Les flavonoïdes** sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandhar *et al.*, 2011).
- ❖ **les coumarines** sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Mogod, 2005).
- ❖ **Lignanes** tels que le sésamol ont démontré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de l'huile de sésame (*Sesamum indicum* DC., Pedaliaceae Pedaliaceae) (Bathily, 2002).
- ❖ **Les tanins** possèdent des propriétés antioxydantes significatives et agissent comme capteurs et donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Ainsi il a été démontré leurs actions inhibitrices de l'auto-oxydation de l'acide ascorbique, du linoléate et de la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes (Mohammedi, 2013)
- ❖ **Les xanthonés** possèdent des propriétés inhibitrices envers la monoaminoxydase. Ils inhibent la peroxydation des lipides en plus du captage des radicaux libres (contre les anions superoxydes) (Mohammedi, 2013)

I.3.5. Les oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydantes (Garait, 2006).

- Le sélénium (Se) joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénodépendantes, et à l'activité biologique anti radicalaire des scléroprotéines (Lhuillier, 2007).

- Le zinc (Zn) et le Cu jouent un rôle dans le fonctionnement de SOD. Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires (Bouldjadj, 2009).

II. Activité anti-inflammatoire

II.1. Généralités sur l'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire, vis à éliminer ou isoler l'agresseur et maintenir l'intégrité des tissus infectés. L'inflammation est un état morbide caractérisé par les signes cardinaux suivants : chaleur, douleur, rougeur et tuméfaction de la partie malade. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Nathan, 2002 ; Barton, 2008 ; Sarkhel, 2015).

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine des éléments physiques : chaleur, froid, rayonnements ionisants... ou des éléments solides exogènes ou endogènes : pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques, composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...). Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. La réaction inflammatoire peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ. Elle est la réponse typique du système immunitaire inné. Pour exemple, on observe des états infectieux sévères lors de pancréatites aiguës, de brûlures... La réaction inflammatoire peut aussi être chronique et ainsi durer des semaines, voire des années (Zerbato, 2010). Les étapes de la réaction inflammatoire représentée dans la figure 09.

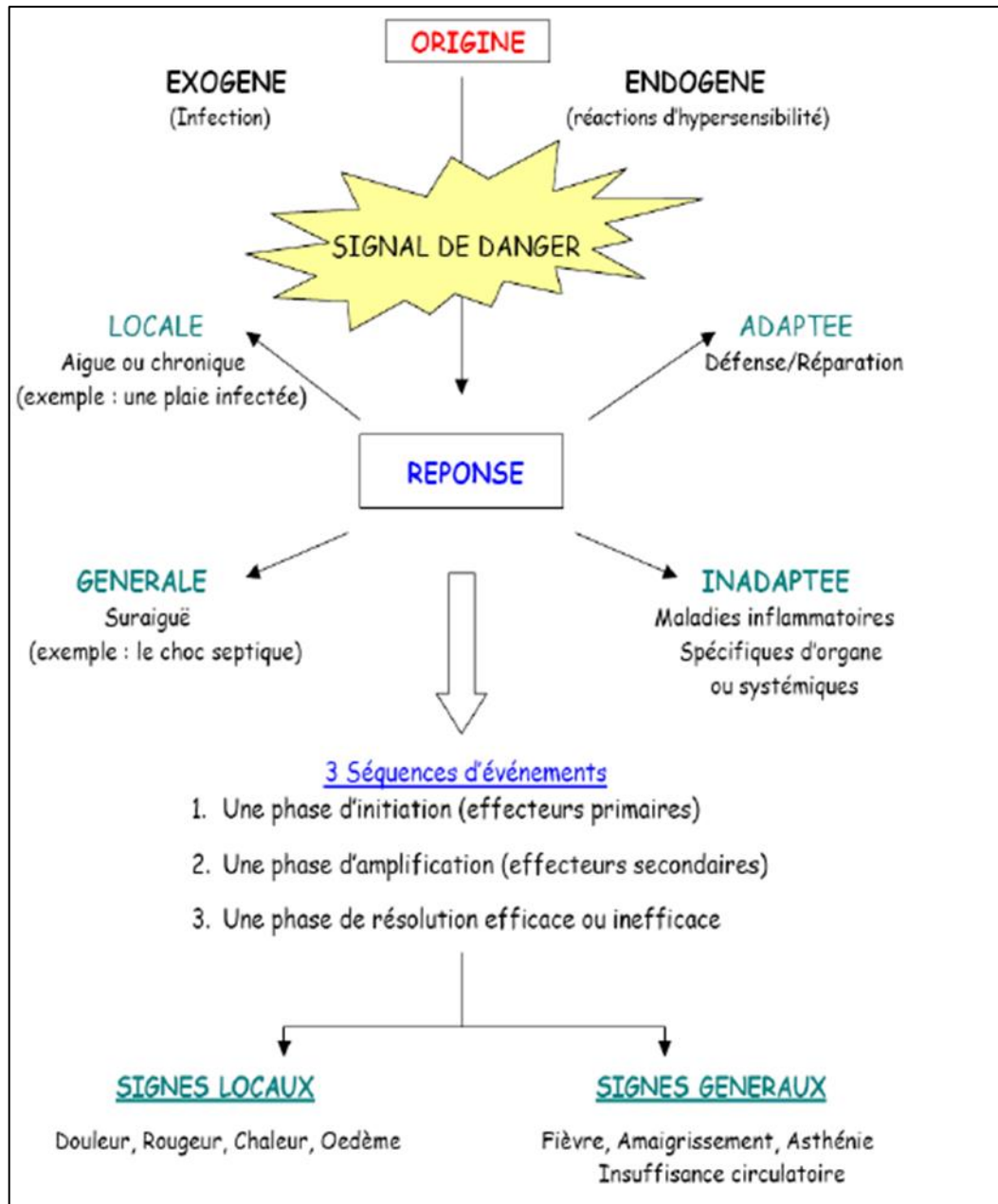


Figure 09 : La réaction inflammatoire schématisée (Prin *et al.*, 2009).

II.2. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

A. Phase vasculaire (initiation)

La phase est immédiate, de l'ordre de quelques minutes et caractérisée par une vasodilatation artérielle entraînant un érythème et un dégagement de chaleur locale. Cette phase se produit une altération des micro-capillaires par relâchement des cytokines et des substances vasoactives (histamine, bradykinine, sérotonine, prostaglandine et dérivés du complément) et l'exsudation des cellules et du plasma vers les tissus (Weill *et al.*, 2003).

B. Phase cellulaire (amplification)

La réponse cellulaire fait suite à la phase vasculaire. Elle se déroule en trois étapes essentielles, la première met en jeu les cellules de l'immunité innée (Les polynucléaires neutrophiles et monocyte/macrophage), la seconde comprend une réponse non adaptative précoce (lymphocytes porteurs des récepteurs pour l'antigène) et la dernière étape, le développement d'une réponse immunitaire adaptative (activation des lymphocytes T (LT) et B (LB) spécifique) (Weill *et al.*, 2003).

C. Phase de réparation (effectrice)

C'est la phase de résolution permettant la restauration du tissu lésé. En effet, les conditions les plus favorables, les agents agresseurs et les débris cellulaires et tissulaires du foyer inflammatoire sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles et les macrophages qui vont sécréter des médiateurs induisant ainsi la réparation tissulaire, les cellules fibroblastes et endothéliales forment alors un tissu conjonctivo-vasculaire aboutissant à la cicatrisation (Weill *et al.*, 2003) (figure 10).

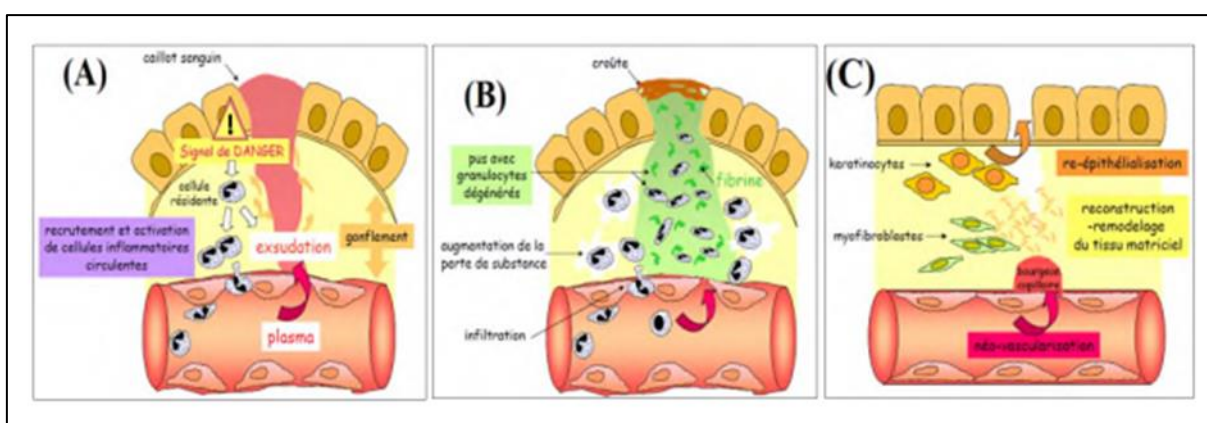


Figure 10: La réponse inflammatoire aiguë : (A) initiation, (B) amplification, (C) réparation (Weill *et al.*, 2003).

II.3. L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles *et al.*, 2010). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2010).

L'inflammation chronique est divisée en trois types :

- L'inflammation chronique non spécifique : Elle fait suite à une inflammation aiguë non guérie.
- L'inflammation chronique spécifique (primaire) : Elle survient d'emblée en réponse à certains types d'agressions.
- L'inflammation granulomateuse : C'est un sous-type d'inflammation chronique spécifique caractérisé par la présence de granulomes (Stevens *et al.*, 2004).

II.4. Anti-inflammatoires

II.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

II.4.1.1. Définition

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments aux propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Plusieurs classifications sont proposées, fondées soit sur la structure des AINS, la puissance, les modalités d'action et/ou la

sélectivité anti-COX (Cuvillon et Viel, 2002). En effet, les AINS agissent tous en inhibant les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2), diminuant ainsi la synthèse des prostaglandines E2 et du thromboxane A2 (Risser *et al.*, 2009).

II.4.1.2. Mécanisme d'action des AINS

La réaction inflammatoire intervient dans les suites d'une stimulation extérieure de l'organisme comme un traumatisme ou une infection. Les phospholipases A2 sont alors activées, transformant les phospholipides membranaires en acide arachidonique. Celui-ci est ensuite métabolisé en prostaglandines (PG) par des enzymes appelées cyclo-oxygénases (COX) dont il existe deux types. Les COX 1 sont constitutives et jouent un rôle physiologique en formant d'une part des PG protectrices des muqueuses gastriques et rénales, ainsi que des thromboxanes A2 (TXA 2), qui favorisent l'agrégation plaquettaire et la vasoconstriction. Les COX 2, elles, sont inductibles et donc activées en réponse à une réaction inflammatoire. Elles interviennent dans la formation de prostaglandines pathologiques, mais aussi des prostacyclines, qui sont des PG antiagrégantes et vasodilatatrices. Elles seraient aussi impliquées dans certains processus physiologiques comme la cicatrisation ou la fonction rénale. Le principe des AINS consiste à inhiber la synthèse des PG en agissant sur les COX et empêchant ainsi l'inflammation (Neantl. 2017).

II.4.1.3. Classification des AINS

Les AINS peuvent être classés en plusieurs groupes selon leur sélectivité ou non pour les COX (Raphaël, 2017) :

- Les anti-COX non sélectifs (la plupart des AINS et l'aspirine à dose anti-inflammatoire) ;
- Les anti-COX 1 préférentiels (indométacine, piroxicam et l'aspirine à faible dose) ;
- Les anti-COX 2 préférentiels (essentiellement méloxicam) qui perdent leur sélectivité s'ils sont utilisés au-delà de doses thérapeutiques ;
- Les anti-COX 2 sélectifs appelés « coxibs » (célécoxib, parécoxib, étoricoxib).

II.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), constituent une vaste famille de médicaments dérivés de cortisol, principale glucocorticoïdes surrénaliens. Les glucocorticoïdes sont des

substances dérivées de cholestérols, sous l'action de l'hormone adrenocorticotropine (ACTH) de l'hypophyse. Les AIS sont responsables de nombreux effets biologiques, notamment sur l'inflammation, soit en réprimant l'expression de gène pro-inflammatoire, l'induction de l'expression de gène anti-inflammatoire, ou inhibent la production des prostaglandines (Weill *et al.*, 2003).

Partie I

Etude

Expérimentale

Matériel

Et Méthodes

I. Matériel

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire "n°05 biochimie" département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abbes Laghrour –Khenchela-. Ce travail a été fait en deux parties:

- ✓ **Partie phytochimique** : elle a comporté :
 - La préparation des différents extraits de rhizome de *Zingiber officinale* ;
 - Les tests phytochimiques sur les différentes préparations ;
 - Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.
- ✓ **Partie biologique** : réalisée pour :
 - L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par la méthode piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl (DPPH) ;
 - L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits obtenus *in vitro*.

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Récolte et préparation

Les rhizomes secs entiers de la plante *Zingiber officinale* ont été fournis par un herboriste situé au centre de Khenchela (importé de la Chine) au mois de mars 2018.

Les rhizomes récoltés ont été lavés puis râpés sur une grille à râper ordinaire. La quantité obtenue du gingembre est divisée en deux parties, une est séchée avec son jus et l'autre sans le jus. Le gingembre est séché à l'air libre, à l'abri de la lumière et à une température ambiante, pour préserver le maximum de l'intégrité des molécules. Le gingembre est broyé jusqu'à l'obtention d'une poudre.

I.2. Matériel du laboratoire

I.2.1. Réactifs utilisés

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, ces produits sont mentionnés dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Réactifs Chimiques utilisés.

<i>Produits</i>	
<i>Extraction et leur Fractionnement</i>	-méthanol
<i>Activité antioxydant</i>	- DPPH, -acide ascorbique
<i>Activité anti-inflammatoire</i>	- Sérum bovine albumine (BSA) 0.5% -Declofinac
<i>Dosage</i>	-réactif Folin-Cioclatau -solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 : 7,5 %) -méthanol - AlCl_3 à 2%
<i>Criblage</i>	- Acide sulfurique - NH_4OH -Hcl 1% -Solution FeCl_3 -Réactif de Mayer et Wagner - chloroforme -acide sulfurique - Anhydride acétique -Fehling (liqueur de fehling A et B), -Solution de NaOH

I.2.2. Appareillage

- Spectrophotomètre UV -vis adoube faisceau
- Balance
- Agitateur magnétique -Vortex (VELP)
- Etuve universelle de 5 à 220°C
- Papiers filtre
- micropipette

II. Méthodes

II.1. Préparation des extraits

Différentes méthodes d'extractions peuvent être adaptées à l'extraction des composés naturels. Parmi celles-ci nous avons choisi la macération, une technique simple et facile à mettre en œuvre. Une quantité de 60 g de la poudre du rhizome de gingembre, broyée le

jour même, a été mise en contact avec 300 ml du méthanol/eau à 80/20 (v/v). Les deux préparations ont été agitées à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h. Après filtration par un papier filtre, les deux extraits ont été évaporés. L'extrait méthanol/eau a été ensuite mis dans l'étuve à 40 °C.

II.2. Etude phytochimique

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = m_0/m_1 \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale.

II.2.1. Tests phytochimiques

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les extraits préparés par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra- violette. Ces tests (répétés trois fois) ont été réalisés selon les techniques décrites par : Harborne, (1998) et Bruneton, (1999).

- **Tanins**

Dans un tube à essai, nous avons introduit 2 mL de l'extrait à analyser avec 0,5 mL d'une solution aqueuse de chlorure de fer (FeCl_3) à 1 %. La présence des tanins est dévoilée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

- **Flavonoïdes : Test de Shinoda**

Macérer 10 g de la poudre sèche dans 150 ml d'HCl dilué à 1 % pendant 24 h. Filtrer et procéder au test suivant : prendre 10 ml du filtrat, le rendu basique par l'ajout du NH_4OH . Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure du tube à essai.

➤ **Coumarines : Fluorescence UV**

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 mL d'extrait avec 0,5 mL de l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 10 %. Un deuxième tube non traité par NH₄OH a été préparé pour servir comme témoin. Après dépôt d'une goutte sur un papier filtre, l'apparition d'une fluorescence intense, sous la lumière ultra-violette (366 nm) indique la présence des coumarines.

➤ **Quinones libres**

Dans un tube à essai, nous avons ajouté 5 mL de l'extrait à 0,5 mL de soude (NaOH) à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libres.

➤ **Anthraquinones**

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 mL de l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH à 10 %) avec 5 mL d'extrait. Après agitation, la présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette.

➤ **Alcaloïdes**

La mise en évidence des alcaloïdes a été effectuée par une réaction de précipitation en présence des réactifs des alcaloïdes (Mayer et Wagner). À 1 mL d'extrait, nous avons ajouté quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl à 1 %), puis la solution est divisée en deux volumes égaux. Nous avons introduit 0.5 mL de réactif de Mayer dans le premier tube, et 0.5 mL de réactif de Wagner dans le deuxième tube. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement dans les deux tubes révèle la présence des alcaloïdes.

➤ **Stérols et triterpènes : Test de Liebermann-Burchard**

À 5 ml d'extrait, nous avons ajouté 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL d'acide sulfurique. Après incubation de 15 min, l'apparition d'une couleur mauve, verte ou violette indique un test positif.

➤ **Terpénoïdes : Test de Salkowski**

Dans un tube à essai nous avons introduit 5 mL d'extrait, 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

➤ **Saponosides: Test de mousse**

Dans un tube à essai, 10 mL d'extrait ont été agité énergétiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides.

➤ **Composés réducteurs**

Un volume de 1 mL d'extrait a été mélangé avec 2 mL de la solution de Fehling (1 mL de la liqueur de fehling A et 1 mL de la liqueur de fehling B), puis incubé au bain marie bouillant pendant 8 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité rouge-brique.

II.2.2. Analyses quantitatives des extraits

II.2.2.1. Dosage des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc.). Pour ces raisons, des dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes ont été réalisés. L'extrait méthanol/eau a été solubilisé dans le méthanol et eau distillé à une concentration de 1 mg/ml.

a. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

La méthode utilisée est celle utilisant le réactif de Folin Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène -tungstène de couleur bleu. La coloration produite absorbe à un maximum compris entre 725 et 760 nm, et est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et charpentier, 2006 ; Vermerris et Nicholson, 2006).

- **Mode opératoire**

Ce dosage a été réalisé selon la méthode décrite par Wong *et al.* (2006) (figure 11) :

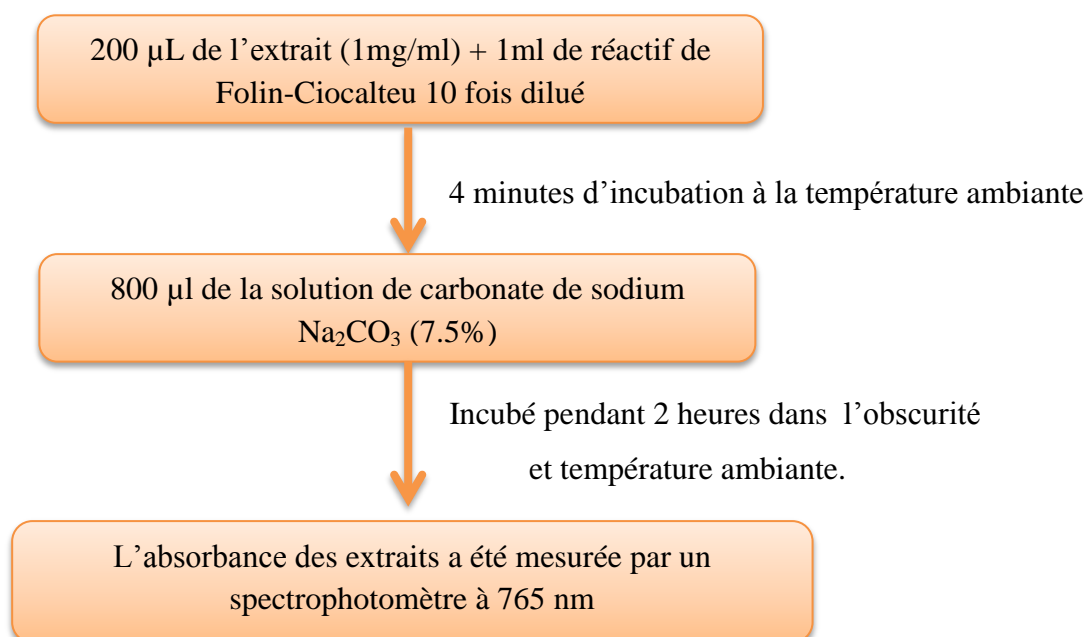


Figure 11 : Mode opératoire de dosage des polyphénols.

- **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard étalon l'acide gallique et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG /mg}$)

b. Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes de l'extrait méthanolique est effectuée par la méthode colorimétrique de Djeridane *et al.*, (2006).

- **Principe**

La méthode colorimétrique de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl₃), qui donne à la solution une coloration jaunâtre dans l'absorption maximal et la longueur d'onde à 448 nm, contre un témoin préparé dans les mêmes conditions et ne contenant pas

l'extrait des zingiber officinale. Le protocole de dosage est présenté dans la figure suivante.

- **Mode opératoire**

Le protocole de dosage est présenté dans la figure 12 ci-dessous :

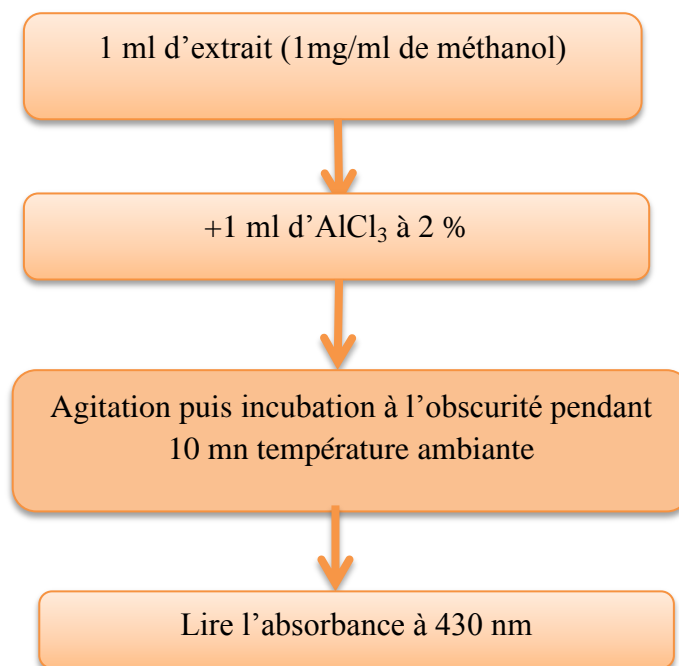


Figure 12 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes.

- **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

- **Test de piégeage du radical libre DPPH**

a. Principe

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008) (figure 13).

b. Mode opératoire

Le DPPH· (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH· est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH·, qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de l'échantillon (Figure 8).

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, il se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, l'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benariba *et al.*, (2013) avec quelques modifications. 100 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été mélangés avec 900 µl d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes à température ambiante, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Le contrôle négatif est composé de 100 µl de méthanol et de 900 µl de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le ascorbique dans les mêmes conditions

c. Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

$$I \% = ((Abs_{Blanc} - Abs_{Test}) / Abs_{Blanc}) \times 100$$

Abs_{Blanc}: absorbance du control négatif lue à 517 nm

Abs_{Test}: absorbance de l'échantillon lue à 517 nm

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg/ml et comparée avec celle de l'acide ascorbique.

Pourcentage d'inhibition = $100 - (\text{Abs de la solution Test} - \text{Abs de la solution contrôle}) / \text{Abs de la solution contrôle test} * 100$

Le contrôle représente 100 % de protéine dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le Diclofenac de sodium (250 µg/ml).

Résultats

Et Discussion

I. Etude phytochimique

I.1. Rendements des extraits

La préparation des extraits des rhizomes de la plante *Zingiber officinale* par la méthode de macération a été réalisée en utilisant le mélange méthanol/eau à 80/20 (v/v). Les différents rendements obtenus sont représentés dans la figure 14.

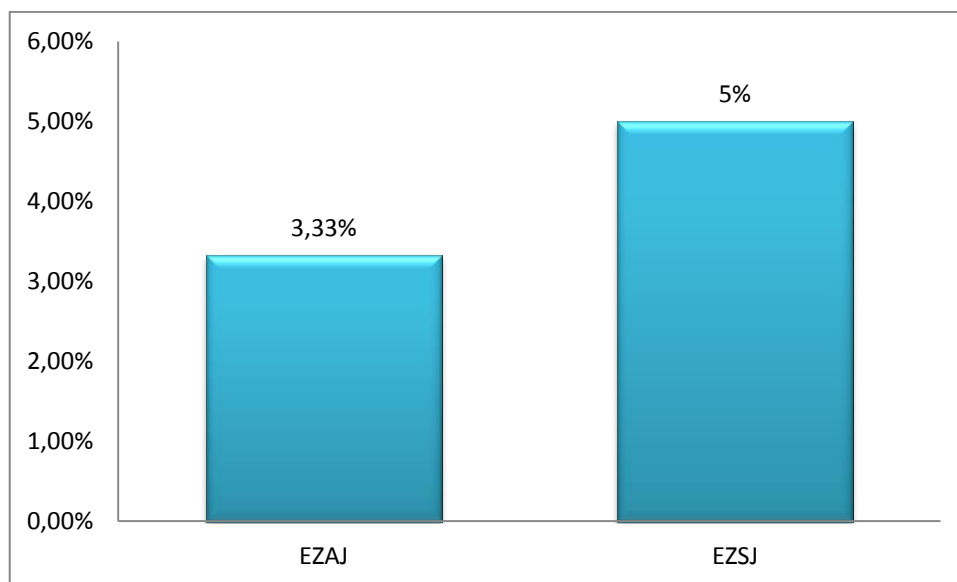


Figure 14 : Rendements des extraits des rhizomes de *Zingiber Officinale*.

Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction le plus élevé est celui de l'extrait de gingembre sans jus (5 %), suivi par l'extrait avec jus (3.33 %).

I.2. Tests phytochimiques

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de plante sélectionnée pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelques constituants chimiques. Les résultats de l'analyse phytochimique des deux extraits étudiés sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques des extraits des rhizomes de *Zingiber Officinale*.

Métabolites secondaires	Extraits	
	Zingiber avec jus	Zingiber sans jus
Flavonoïdes	++	++
Tanins	-	-
Coumarines	-	-
Quinones liber	+	+
Anthraquinones	-	-
Réactif de Mayer	-	-
Alcaloïdes Réactif de Wagner	-	-
Stérols et triterpènes	-	-
Terpénoïdes	-	+
Saponosides	-	-
Composés réducteurs	+++	-

(++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif

D’après les résultats d’analyse phytochimique des extraits préparé des rhizomes de *Z. officinale* présenté dans le tableau 5, nous avons enregistré la présence des flavonoïdes, et des quinones libres dans les deux extraits préparés et la présence des terpénoïdes dans l’extrait de zingiber sans jus et composés réducteurs dans l’extrait de *Z. officinale* avec jus. Par contre nous n’avons pas révélé la présence des tanins, des coumarines, des anthraquinones, des alcaloïdes, des stérols, des triterpènes et des saponosides dans les deux extraits de *Z. officinale*.

I.3. Analyses quantitatives des extraits : Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits des rhizomes de *Z. officinale*.

Extraits	Composés phénoliques	
	Polyphénols totaux (μg EAG/mg d'extrait)	Flavonoïdes totaux (μg EQ/mg d'extrait)
EZAJ	71,96	3,09
EZSJ	26,84	2,45

D'après les résultats présentés dans le tableau 06, les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que l'extrait EZAJ est riche en composés phénoliques avec un taux de 71.96 μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, suivie par l'extrait EZSJ d'ordre 26.84 μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

Le dosage de flavonoïdes totaux montre que la teneur la plus élevée est celle de l'EZAJ, il renferme 3.09 μg équivalent quercitrine/mg d'extrait, suivie par l'EZSJ de teneur d'ordre 2.45 équivalent quercitrine /mg d'extrait.

Nous remarquons aussi que le taux des flavonoïdes totaux dans l'EZSJ est plus faible que celui dans l'EZAJ.

D'après les résultats d'analyse phytochimique des extraits préparés de *Z. officinale* nous avons enregistré la présence des terpénoïdes, des flavonoïdes et des quinones libres et des sucres réducteurs. Par contre nous avons marqué l'absence des coumarines, des anthraquinones, des tanins et des alcaloïdes. Les travaux de Riaz *et al.*, (2015) et Bhargava *et al.*, (2012) ont révélé la présence des saponosides, flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins et des terpénoïdes dans leurs extraits de chloroformique de gingembre et l'extrait méthanolique. Contrairement à Girhepunje *et al.*,(2016), leurs résultats ont montré la présence des déterpènes dans leurs extraits chloroformique du gingembre.

Osabor *et al.*, (2015) ont enregistré la présence des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des polyphénols et des sucres réducteurs dans l'extrait aqueux par contre dans l'extrait d'éther de pétrole ils ont révélé l'absence des alcaloïdes.

Pour le dosage quantitatif des composés phénoliques, nous avons noté des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes pour l'extrait de *Z. officinale* d'ordre de 71.96 (μg

EAG/mg) et une teneur d'ordre 3.09 ($\mu\text{g EQ/mg}$) respectivement. Ces résultats sont supérieurs à celle de l'extrait de *Z. officinale* sans jus où les teneurs polyphénols et en flavonoïdes sont de l'ordre de 26.84 $\mu\text{g EAG/mg}$; 2.45 $\mu\text{g EQ/mg}$, respectivement.

Mošovská *et al.*, (2015) en Slovaquie ont noté que les teneurs en polyphénols et les teneurs en flavonoïdes dans leurs extraits de gingembre sont de l'ordre de 181.41 \pm 0.07 (mg GAE/g ginger extrait) et 14.15 \pm 0.12 (mg quercetin/g ginger extrait) respectivement, ces résultats sont supérieurs à ceux que nous avons trouvés.

Ghasemzadeh *et al.*, (2010), ont étudié deux variétés de *Zingiber officinale* Roscoe (Halia Bentong et Halia Bara), ont enregistré que les teneurs polyphénols et les teneurs flavonoïde de rhizomes de *Zingiber officinale* de la variété de Halia Bentong 10.22 \pm 0.87 mg Acide gallique/g et 3.66 \pm 0.45 mg quercetin/g respectivement et la variété de Halia Bara teneurs polyphénols d'ordre 13.5 \pm 2.26 mg Acide gallique/g et les teneurs flavonoïde d'ordre 4.21 \pm 0.98 mg quercetin/g. Aussi Ghasemzadeh *et al.*, (2010) ont montré que il y a une différence des teneurs en polyphénols et en flavonoïde dans différentes parties de la plante *Zingiber officinale*.

Tohma *et al.*, (2016), ont montré que la teneur totale en phénols et en flavonoïdes de différents extraits de gingembre : extrait liquide aqueux lyophilisé et extrait d'éthanol de gingembre est différente selon les méthodes d'extraction. Le teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait liquide aqueux lyophilisé était 52.8 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits, 3.9 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement, alors que le teneur des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait d'éthanol de était d'ordre de 137.5 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits, 25.1 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

Il est difficile de comparer ces résultats avec les nôtres de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, et différentes espèces réduisent la fiabilité de la comparaison entre les études à cause des plusieurs facteurs :

- Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2006).

- La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures : la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité, qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh *et al.*, 2008).

-La teneur de phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et entre les espèces du même genre. Cela dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsdek, 2007).

- La composition, ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait, peuvent être influencée par plusieurs facteurs tel que le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et extraire les composés de polarité similaire au solvant (Green, 2004 ; Ncube *et al.*, 2008).

II. Evaluation de l'activité antioxydante

• Test de piégeage du radical libre DPPH

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de la plante a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, dans le but de déterminer les concentrations d'inhibition du radical DPPH.

Les résultats obtenus, montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de chaque extrait et de l'acide ascorbique (contrôle positif) (figure 15 et 16).

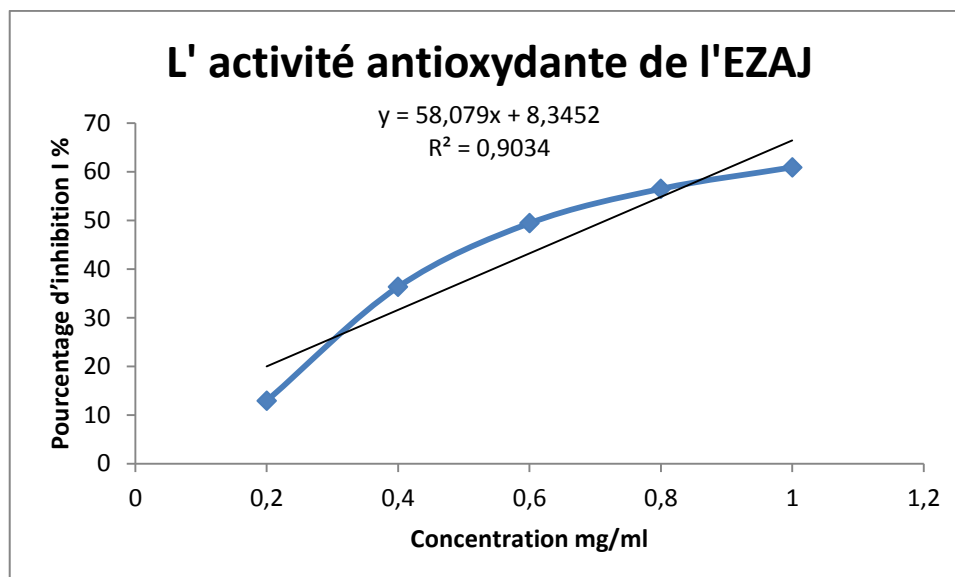


Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'extrait de *zingiber officinale* avec jus.

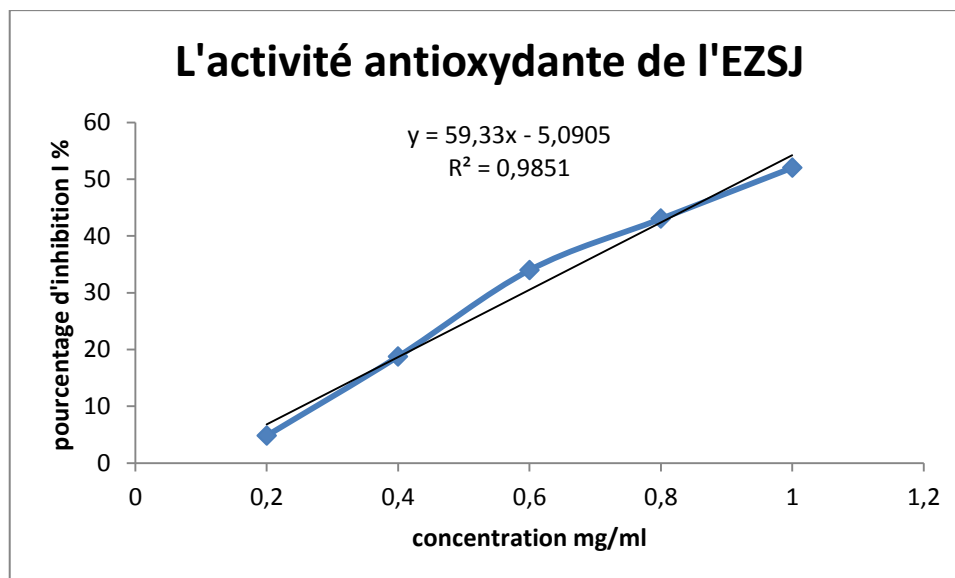


Figure 16 : Pourcentages d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'extrait de *zingiber officinale* sans jus.

D’après les résultats obtenus dans les figures ci-dessus, nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d’inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés.

Tableau 7 : Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH dans les deux extraits de *Zingiber Officinale*.

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d’inhibition	
	EZAJ	EZSJ
1	60.89±0.03	52.00±0.03
0.8	56.47±0.001	43.01± 0.002
0.6	49.39±0.006	33.96±0.03
0.4	36.70±0.0007	18.74±0.03
0.2	12.89±0.004	4.8±0.006

A partir des équations de régressions logarithmiques des graphes représentés dans les figures 12 et 13, nous avons calculé les IC50, qui représentent les concentrations

nécessaires pour réduire 50 % du radical libre DPPH (mg/ml), de l'acide ascorbique et les différents extraits étudiés. Les valeurs d'IC50 sont représentées dans le tableau 08.

Tableau 8 : Valeurs des IC 50 de l'acide ascorbique et les différents extraits méthanolique des rhizomes de *Zingiber officinale*.

	Extraits		Acide ascorbique
	EZAJ	EZSJ	
IC50 exprimée en mg/mL	0,71±0.02	0,92±0.03	0,14±0.01

Nos résultats indiquent que l'extrait de EZAJ présente une activité remarquable vis-à-vis le piégeage du DPPH avec un IC50 de 0,71±0.02 mg/ml. Cette valeur est inférieure à celles de l'EZSJ qui ont montré une activité antioxydante avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 0,92±0.03 mg/ml et supérieure par rapport à celle obtenue avec le standard qui est de l'ordre de 0,14±0.01 mg/ml.

On remarque aussi que l'IC50 obtenue pour l'acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence, est bien plus inférieure à ceux des extraits, est donc, on peut dire qu'il possède une activité antiradicalaire très élevée par rapport aux extraits méthanoliques.

L'évaluation de l'activité antioxydante des rhizomes de *Z. officinale* est réalisée par la technique du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique de *Z. officinale* avec jus présent la meilleure activité antioxydante avec une IC50 de 0,71±0.02 mg/ml mais cette activité reste faible par rapport à celle de l'acide ascorbique IC 50 d'ordre de 0,14±0.01 mg/ml.

En comparant nos résultat avec d'autre étude de Rubila *et al.*, (2014) effectuée sur l'extrait méthanolique de gingembre, ils ont trouvé un IC50 d'ordre 64.4µg/ml. D'autre part, Mohd *et al.*, (2011) l'IC50 de l'extrait de zingiber officinale il montré résultat de 24,97µg/ml, Ces résultats suggèrent que *Zingiber officinale* pourrait servir comme source alternative antiradicalaires pour la protection des êtres humains contre dommages oxydatifs induits par les radicaux libres.

III. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Le tableau 09 montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des deux extraits méthanolique de *zingiber officinale* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA).

Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA

Echantillon	Concentration	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines
EZAJ	0.1 mg/ml	99.09
	0.2 mg/ml	98.97
EZSJ	0.1 mg/ml	98.99
	0.2 mg/ml	98.85
Diclofenac sodium	250 µg/ml	98.90

Nous remarquons d'après les résultats présentés dans le tableau 09 que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'extrait EZAJ a la concentration de 0,1 mg/ml et 0,2 mg/ml et de 99,09 % et 98,97 %, ils ont été donné des résultats voisins a l'inhibition de la dénaturation de BSA de l'extrait EZSJ qui étaient d'ordre de 98,60 % et 98.85 % respectivement. Lorsque nous comparons ces résultats à ceux obtenus pour le diclofenac sodium à 250 µg /ml, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exercé un pourcentage d'inhibition de 98.90, nous pouvons déduire que les deux extraits de gingembre présente une inhibition de la dénaturation de l'albumine très élevée et donc une activité anti-inflammatoire très intéressante.

Ezzat *et al.*, (2012) ont montré que les extraits à (125-500 µg / ml) ont une activité anti-inflammatoire élevée en inhibant la dénaturation de l'albumine induite par la chaleur. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé (66 %) a été démontré par l'extrait à 50 % d'éthanol suivi de 70 et 90 % d'éthanol (65 et 63 % respectivement) et une activité modérée a été observée pour l'extrait éthanolique à 80 % et 58 % respectivement).

Nous pouvons conclure que l'EZAJ et l'EZSJ possède un effet anti-inflammatoire très élevé marqué *in vitro* contre la dénaturation des protéines, et que d'autres études définitives sont nécessaires pour déterminer les mécanismes anti-inflammatoires.

Conclusion

Conclusion et perspectives

À travers notre étude, nous avons tenté d'apporter une modeste contribution en étudiant l'effet du séchage sur la qualité du gingembre et l'importance de la présence de jus de gingembre.

Dans une première étape, nous avons procédé à l'extraction méthanolique à partir des rhizomes de *Zingiber officinale* puis à faire les tests phytochimiques et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes. Ensuite, nous avons terminé par l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*.

Un certain nombre de résultats ont été obtenus :

- ✓ L'extrait méthanolique de gingembre sec sans avec jus ayant un meilleur rendement par rapport à l'extrait de gingembre sans jus.
- ✓ Dans le test phytochimique nous avons enregistré la présence des flavonoïdes, des quinones et des sucres réducteurs dans l'EZAJ par contre dans l'EZSJ nous avons enregistré la présence des flavonoïdes, des quinones et des terpénoïdes.
- ✓ Le dosage des polyphénols et flavonoïdes des deux extraits de *Zingiber Officinale* a montré des résultats variés de la teneur en polyphénols des deux extraits l'EZAJ et EZSJ d'ordre de 71,96 ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) et 26,84 ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) respectivement. La teneur en flavonoïdes était de l'ordre de 3,09 ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) et 2,45 ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) des deux extraits l'EZAJ et EZSJ respectivement.
- ✓ La richesse de EZAJ en polyphénols et flavonoïdes a démontré que le l'EZAJ a une meilleure activité antioxydante d'IC 50 d'ordre 0,71 mg/ml par rapport a l'EZSJ a IC50 d'ordre 0,92 mg/ml.
- ✓ Les résultats de l'activité anti-inflammatoire évaluée par l'inhibition de la dénaturation des protéines ont révélé des résultats voisins de l'inhibition de la dénaturation de BSA entre les deux extraits de *Zingiber Officinale* avec une différence de 0,1.

Pour compléter mon travail il sera intéressant :

- De signaler l'importance du jus de *Zingiber officinale* ; Il est important de réaliser d'autres études sur le gingembre frais et le jus de *zingiber officinale*.
- D'élargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antitumorale, anticancéreuse et anti-analgésique.
- De réaliser une étude *in vivo*, pour obtenir une vue globale sur l'activité anti-inflammatoire de l'extrait testé vu son grand pourcentage d'inhibition de la dénaturation de protéines.

Références

Bibliographiques

A

Abdelmotalab Omer SS, Elsiddig IME, Beshir Medani Ahmed A, SMH Ayoub, 2015, Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Lipid Profile Effects of Citrus reticulata Fruit Peel, Zingiber officinale Rhizome and Sesamum indicum Seed Extracts, International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences, 9(12) : 801-808.

Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A, 2007, Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : role dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme, 74, 636 – 643.

Ahamet S, 2003, Etude phytochimique et des activités biologiques de Balanites aegyptiaca L. (Balanitaceae). Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako, Mali.

Ali. B. H., Blunden. G, Tanira. M.O., Nemmar. A.,2007, Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): A review of recent research; 46 (2008) : 409–420.

Awe FB, Fagbemi TN, Ifesan BOT, Badejo AA, 2013, Antioxidant properties of cold and hot water extracts of cocoa, Hibiscus flower extract, and ginger beverage blends. Food Res Int; 52(2): 490–5.

B

Barton GM, 2008, A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. J Clin Invest, 118, 413-420.

Bathily D, 2002, Etude de deux plantes à activité antioxydante au Mali : Lannea velutina A. Rich. (Anacardiaceae), Psorospermum guineense Hochr (Hypericaceae). Thèse de doctorat en pharmacie, Université FMPOS, Bamako, Mali.

Bayala B, 2014, Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse de doctorat en Physiologie et génétique moléculaire, université Blaise-Pascal, France. p 21.

Behera J. N., Rao J., 2006, A Ni²⁺ (S = 1) Kagome Compound Templated by 1,8-Diazacubane *American of Chemistry Society* 128 (29); 9334 -9335.

Belyagoubi. N, Benhammou. N, 2011, Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen, Algérie. 12 p.

Benariba N., Djaziri R.W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W.J., Sener A., 2013, Phytochemical screening and free radical scavenging activity of Citrullus colocynthis seeds extracts. Asian Pac J Trop Biomed; 3(1):35–40.

Benzeggouta N, 2015, Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées. Thèse doc en Sciences Exactes. Université Mentouri-Constantine (Algérie): 39 p.

Bhargava S, Dhabhai K, Batra A, Sharma A, Malhotra B, 2012, Zingiber Officinale :Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research; 4(1) : 360-364.

Boizot N, Charpentier J-P, 2006, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des Techniques de l'Inra.pp79-82.

Bouldjadj R, 2009, étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia herba alba Asso. Université de Constantine, Algérie.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igc R, 2008, Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Food Chemistry ; 111(4) : 925-929.

Bruneton J, 1993, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Technique & Documentation, Lavoisier 2ème Édition, Paris.

Bruneton J, 1999, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3ème éd) Tec&Doc, Paris.

Bruneton J, 2009, Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Technique & Documentation, Lavoisier 4ème Édition, Paris.

C

Cazes J, 2005, Encyclopedia of chromatograph. Second Edition.Edition Taylor & Francis, p 1250.

Chandra S, Chatterjee P, Dey P, Bhattacharya S, 2012, Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Volume; 2 : S178-S180.

Charles N S., Peter. A. W., Derek. W. G., 2010, Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.

Charles. DJ, 2013, Antioxydant properties of spices, herbs and other sources in ginger. Food Science & Nutrition ; 235-245.

Chouleur .F., Gilsan. C., Salell. M., (2007-2009), Le gingembre des bienfaits prouvés DUT Génie Biologique Option Diététique Projet tuteuré Promotion.

Cillard J, Cillard P, 2006, Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *OCL*; 3(1): 24-29.

Curtay JP, Robin JM, 2000, Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*.

Cuvillon. P, Viel. E, 2002. Anti-inflammatoires non stéroïdiens anti-COX-2. Une nouvelle approche thérapeutique de la douleur aiguë ? *Le Courrier de l'algologie*; (1) : 19-23.

D

Dacosta Y, 2003, Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.

De Souza RF, De Giovani WF, 2004, Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions, *Redox Report* ; 9: 97-104.

Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont D, Rousselot T, 2005, Radicaux libres et stress oxydant. *Disease*. Edition Academic Press is an Imprint of Elsevier ;p 643.

Delille L, 2007, Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger,122.

Djeridane, A;Yous, M;Nadjemi, B; Boutassouna, D; Stocker, P; Vidal, N., 2006, Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food Chem*; 97 (4): 654-660.

Dridi F, 2015, Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse Doc en Sciences et génie des matériaux, Université M'hamed Bougara De Boumerdès, Algérie. p 7.

E

Edenharder, R., Grünhage, D., 2003, Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102; 540(1):1-18
Edition Wiley Backwell, p 162.

Ezzat. S. M., Ezzat. M.I., Okba, M. M., Menze. E. T, Ashraf B. Abdel-Naim, 2017; The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro antiinflammatory activity, *Journal of Ethnopharmacology* ; 214 (2018) : 113–123.

F

Faivre. C.I., Lejeune. R., Staub. H. Goetz. P, 2006, *Zingiber officinale* Roscoe Phytothérapie, Monographie médicalisé ; 2 : 99-102.

Falleh H, Ksouri. R., Chaieb. K., Bouraoui. N. K., Trabelsi. N, Boulaaba. M., Abdelly. C., 2008, Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies* ; 331 : 372 – 379.

Favier A, 2003, Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.

Ficker C.E., Arnason J.T., Vindas P.S., Alvarez L.P., Akpagana K., Gbéassor M., De Souza C. et Smith M.L., 2003, Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. *Mycoses*. 46(1-2) : 29-37.

Fraga, C. G., 2007, Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB Life*; **59** (4-5) : 308 – 315.

Fraga, C. J., & Oteiza, P. I., 2011, Dietary flavonoides : Role of (-) – epicatechin and related procyanidins in cell signaling. Free Radical Biology & Medicine ; 51 : 813 – 823.

G

Gail B. Mahady. Susan L. Pendland. Gina. S. Y. Zhi-Zhen Lu. Adina S, 2003, Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the Gingerols Inhibit the Growth of Cag A+ Strains of *Helicobacter pylori*; 23(0): 3699–3702.

Garait B, 2006, Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse de doctorat. Université- Joseph Fourier-Grenoble 1.

Ghasemzadeh A, Hawa ZEJ, 2011, Antioxidant potential and anticancer activity of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) grown under different CO₂ concentration. *Journal of Medicinal Plants Research* ; 5(14) : 3247-3255,

Gigon F, 2012, Le gingembre, une épice contre la nausée, *Phytothérapie* ; 10 : 87-91.

Girhepunge NS, Tillo SK, 2016, Standardization of some bioactive in ginger extract. *journal of Harmonized Research in pharmacy*; 5(2) :86-94.

Girotti –Chanu C, 2006, Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine , flavone extraite de *mirotea de bilis*. Thèse de Doc. Institut national des sciences appliquées de Lyon, p136.

Green R.J, 2004, Antioxydant activity of peanut plant tissue,. Masters Thesis, Department Of Food Science, Faculty of North Carolina State University (USA).

Guignard J.L., 2000, Biochimie végétale. Eddition Masson, PARIS .255 p.

Gupta S, Sharma A, 2014. Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe: A review. *IOSR J Pharm Biol Sci*, 9: 124-129.

H

Harbone J., 1998, Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis 3eme Ed.: chapman and hill: 303.

Harborn,J.,B, 1971, In the biology and chemistry of the umbelliferae, Heyweed. V, H. Ed academic Press. London.

Harborne J., Williams C., 2000, Advances in flavonoid research since 1992, Phytochemistry. 55: 481-504.

Hennebelle T, 2006, Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). Thèse de Doc Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1, France.

J

Judd Walter S, Campbell Christopher S, Kellogg Elizabeth A, Stevens Peter, 2002, Botanique Systématique, une perspective phylogénétique, Edition De Boeck Université ,84-87 ,396-399.

Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapraphatsara N., Soejarto D D., Fong H H S., 2005, Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. Phytochemistry ; 66: 2745 - 2751.

Jyotsna D. Neelam A. Viveka N, 2017, A Review on *Zingiber officinale*. Pharmacognosy and Phytochemistry; 6(3):175.

K

Karamać, M., Pegg, R.B, 2009, Limitations of the tetramethylmurexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. J. of Agric. and Food Chem., 57(14): 6425-6431.

Kathi J. Kemper, MD, MPH, 1999, Ginger (*Zingiber officinale*) The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research: 1-18.

Khaki A, Fathiazad. F, . Nouri. M, A. Afshin., 2009, "The effects of ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat," Iranian Journal of Reproductive Medicine ; 7(1) : 7-12.

L

Lhuillier. A, 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook, *F ex Oliver . agauria polyphylla* baker(ERICACEAE). tambouris-
Etude phytochimique et activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante *Zingiber Officinale* 54

sa *trichophylla* baker (monimiaceae) et *embelia concinna* baker (myrsinaceae). Thèse Doc, Ecole doctorale de Toulouse.

Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M. and Li H.B., 2014, Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* ; 6 : 6020-6047.

Lutge U., Kluge M., Bauer G., 2002, Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris, 211p.

M

Macheix J.J., Fleuriet A et Sarni-Manchado P, 2006, Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition, *Technologie et document* ; Paris, 380-398.

Malhotra S, Singh AP, 2003, Medicinale properties of ginger (*zingiber officinale* rosc.). *Natural product radiance*; 2(6): 296-301.

Marfak A., 2003, Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or c mene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.

Marouf A, Reynaud J, 2007, La botanique de A à Z, Ed, Dunod, Paris, p177.

Modolo LV, Reichert AI, Dixon RA, 2009, Introduction to the Different Classes of Biosynthetic Enzymes. In : Osbourn AE et Lanzotti V, éditeurs. *Plant-derived Natural Products, Synthesis, Function, and Application*. London New York : Springer; p: 143 – 150.

Mogode D, 2005, « Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia* *Mol Physiol* ; 257: 163 - 173.

Mohammedi Z, 2013, Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Thèse Doc en Biologie, Univ. de Tlemcen.

Mohd. A, Ahsanullah K, Mohd .M, Ajaz .A, Sheeba. U, Mohd. A, 2011, Phytochemical Analysis and in vitro Antioxidant Activity of *Zingiber officinale*; 1:75-85.

Mošovská. A, Nováková.D, Kaliňák. M, 2015, Antioxidant activity of ginger extract and identification of its active components, *Acta Chimica Slovaca*; 8(2): 115—119.

Mukherjee S., Mandal N., Dey A. et Mondal B., 2014, An approach towards optimization of the extraction of polyphenolic antioxidants from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Journal of Food Science and Technology* 51, 3301–3308.

N

Nathan C., 2002, Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.

Ncube N.S., Afolayan A.J. et Okoh A.I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin : current methods and future trends.

African journal of biotechnology. 7 (12) : 1797 – 1806.

Ncube N.S., Afolayan A.J. et Okoh A.I., 2008, Assessment techniques of antimicrobial

Neantl. R, 2017, Effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens et automédication : quel est l'impact dans le temps d'un outil d'information écrite sur les connaissances des patients . Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.

Negre-Salvayre A & Salvayre R, 2005, Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*; 12(5) :433-38.

Nourshargh. S., Fritz. K., Elisabetta. Dj, 2006, The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 714-718.

O

Osabor V.N., Bassey F. I., Umoh U.U., 2015, Phytochemical Screening and Quantitative Evaluation of Nutritional Values of *Zingiber officinale* (Ginger), *American Chemical Science Journal*; 8(4): 1-6.

P

Paduch R., Kandefor-Szerszen K., Trytek M. et Fiedurek J., 2007, Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis.* 55(5) : 315-327.

Perotto C, 2013, L'utilisation des plantes et de leurs principes actifs dans le traitement de la douleur à travers le monde. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges, France.

Pierre G, Marie-Françoise P, Marie F, 2012, Le voyage discret des plantes *Abelmoschus moschatus* (Malvaceae) et *Zingiber zerumbet* (Zingiberaceae) en Amérique tropicale;

Pincemail. J, C. Le Goff, C. Charlier, P. Gillion, JP. Cheramy-Bien, E. Van Honacker, JP. Chapelle et JO. Defraigne, 2009, Evaluation biologique du stress oxydant, Application en routine clinique. *Nutrition & Endocrinologie* ; 16-31.

Pincemail.J., Le Goff.C., C. Charlie. C., Gillion. P., JP. Cheramy-BienJ.P., E. Van Honacker. E., Chapelle. J. P., JO. Defraign. J.O., 2009, Evaluation biologique du stress oxydant-Application en routine clinique, Special antioxydant, *Nutrition & Endocrinologie* ; 16-31 p

Pinecemail J., Karine, B., Karine, C. et Jean-Olivier D, 2002, Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. *Physiological Action of Antioxydant Defences. Nutri-tio Clinique et metabolism*; 16 (6): 233-239.

Podsędek A, 2007, Natural antioxydants and antioxydant capacity og Brassica vegetable A review, *LWT-Food Science and Technology*; 40 (1): 1-11.

Prin L, Hachulla E, Hennache B, Bonnotte B, Dubucquoi S, Abbal M, Faure G, Bou-letreau. P, 2009, Available from: http://w3med.univ-lille2.fr/inflammation/documents/Immuno_1.pdf.

Purshotam Kaushik, Pankaj Goyal, 2011, Evaluation of Various Crude Extracts of Zin-giber officinale Rhizome for Potential Antibacterial Activity: A Study in Vitro, *Advances in Microbiology* ;(1):7-12.

R

Rajesh. K, Mishra, Anil. K.R., Ashok. K, 2012, Pharmacological Activity of Zingiber officinal, *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND CHEMICAL SCI-ENCES*; 1 (3): 1423.

Ranjani R, 2013, Anticancer Properties of Zingiber officinale – Ginger: A Review. *Inter-national Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*; 3:11-20.

Riaz H, BegumA, Raza SA, Mohy-Ud-Din Khan Z, Yousaf H et Tariq A, 2015, Anti-microbial property and phytochemical study of ginger found in local area of Pun-jab,Pakistan *International Current Pharmaceutical Journal*. 4(7) : 405-409.

Richard, 2012, Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appli-quées à la dermatologie. Thèse de Doct, Univ CLAUDE-BERNARD - LYON I, 167p.

Risser, A., Donovan, D., Heintzman, J., Page, T, 2009, NSAID prescribing

Rolland Y, 2004, Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. *OCL*; 11(6) : 419 – 424.

Rousseau D, 2004, Psychological Contracts in the Workplace: Understanding the Ties that Motivate. *The Academy of Management Executive*. 18(1).120-127.

Rubila. S, T.V.R., 2014, Evaluation of Phytochemical Constituents in Various Heat Treatments of Zingiber officinale Roscoe and in vitro Antioxidant Assay Systems, *Interna-tional Research Journal of Biological Sciences* ; 3(11) : 54-58.

S

- Sakagami H, Hashimoto K, Suzuki F, Ogiwara T, Satoh K, Ito H, Hatano T, Takashi Y, Fujisawa S, 2005**, Molecular requirements of lignincarbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*, 66 (17): 2108-2120.
- Sandhar H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P., 2011**, A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia*. 1
- Santosh. K. S., Jay. R., Deepak. B., 2014**, A review on zingiber officinale: a natural gift. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*; 5 (3): 508 – 525.
- Sarkhel, S., 2015**, Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja*; (1): 25-41.
- Sarni-Manchado P., Cheynier V., 2006**. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavo sier.
- Scalbert A., Williamson G., 2000**, Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*; 130: 2073-2085.
- Sharma, S., Sheehy, T., Kolahdooz, F., & Barasi, M., 2015**, Nutrition at a Glance. Second
- Singh R P. Gangadharappa H. VMruthunjaya K, 2017**, Ginger: A Potential Nutraceutical, An Updated Review, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*; 9(9): 1227-1238.
- Stéphane .B. B, 2001**, Etude de la photoréactivité de la méthoxy-p-quinone et de phényl-p-benzoquinones en solution, these Doc en chimie organique, Univ de BORDAUX I, p9
- Stevens A., Lowe J., Barbara Y, 2004**, Anatomie pathologique générale et spéciale. Édition De Boeck .4^e Édition. Bruxelles, P 25.
- Subash. k. G.Anand S., 2014**, Medicinal properties of Zingiber officinale Roscoe - A Review. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*; 9:127.

T

- Tang S. Y., Halliwell B, 2010**, Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from cell culture and Caenorhabditis elegans studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.
- Tapsell LC, Hemphill I, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M, Roodenrys S, Keogh JB, Clifton PM, Williams PG, Fazio VA, Inge KE, 2006**, Health benefits of herbs and spices: the past the present, the future. *Med. J. Aust*; 185: S4–S24.

Tauheed. A, Hamiduddin, Akhtar Ali, Mohammad Zaigham, 2017, Zanjabeel (zingiber officinale rosc.): a household rhizome with immense therapeutic potential and its utilization in unani medicine, 8(8): 3218-3230.

Tohma. H, Gülçin. I, Bursal. E , Gören. A. C., G., Alwaseel S. H., Köksal1. E., 2017, Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (Zingiber officinale Rosc.) determined by HPLC-MS/MS.

Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V, 2006, The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*; 7: 140-146.

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*; 160:1-40.

Vermerris W. et Nicholson R, 2006, Phenolic Compound Biochemistry, Springer, Dordrecht.

Vincken, J.P., Heng, L., De Groot, A., Gruppen, H., 2007, Review Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, **68** : 275–297.

W

Wang, W.H., Wang, Z.M., 2005, Studies of commonly used traditional medicine-ginger. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 30, 1569–1573.

Waston. R. R., Preedy, V. R., Zibadi. S, 2013, Polyphenol in Human Health and preactions. *American family physician*, 80(12), 1371-8.

Weill, B., Batteux , F., Dhainaut, J., 2003, Immunopathologie et réactions inflammatoires .1^e Eds, De Beock université (paris), p12-24.

Williams LA, O'Connar A, Latore L, Dennis O, Ringer S, Whittaker JA, Conrad J, Vogler B, Rosner H, Kraus W, 2008, The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med* ; 57(4): 327-31.

Wong C.C; Li H.B ;Cheng K.W; Chen. F., 2006, A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food cChem.*; 97 (4) : 705-711.

Z

Zakkad F, 2017, Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia thèse de doc en Synthèse et développement des molécules bioactives , Univ BADJI MOKHTAR- ANNABA. P 10, 10, 46,

Zelko, IN., Marian, TJ., Folz, RJ, 2002, Superoxide dismutase multigene family : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free radical biology & medicin ; 33: 337-349.

Zerbato. M, 2010, Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie, thèse de doctorat, UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1: p 7-8.

Annexes

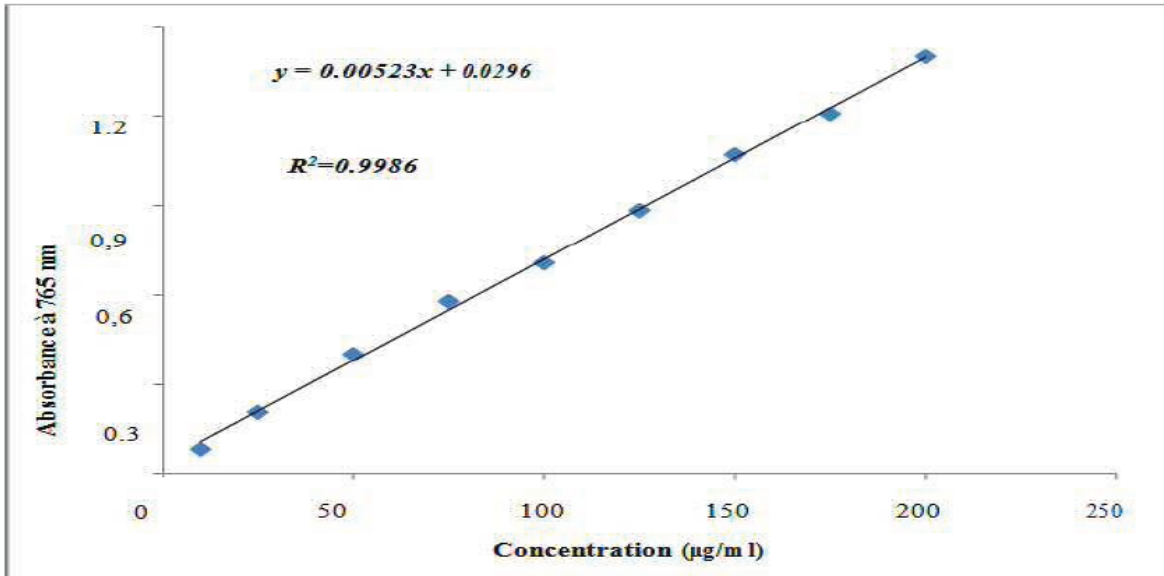


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

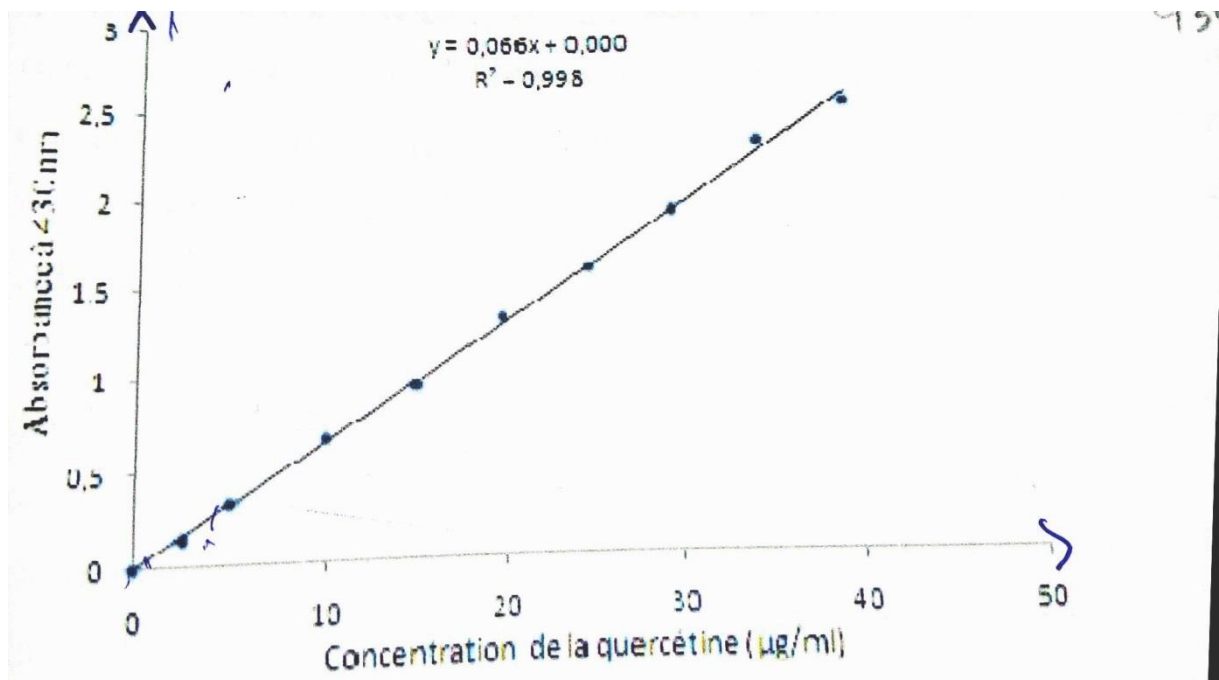


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

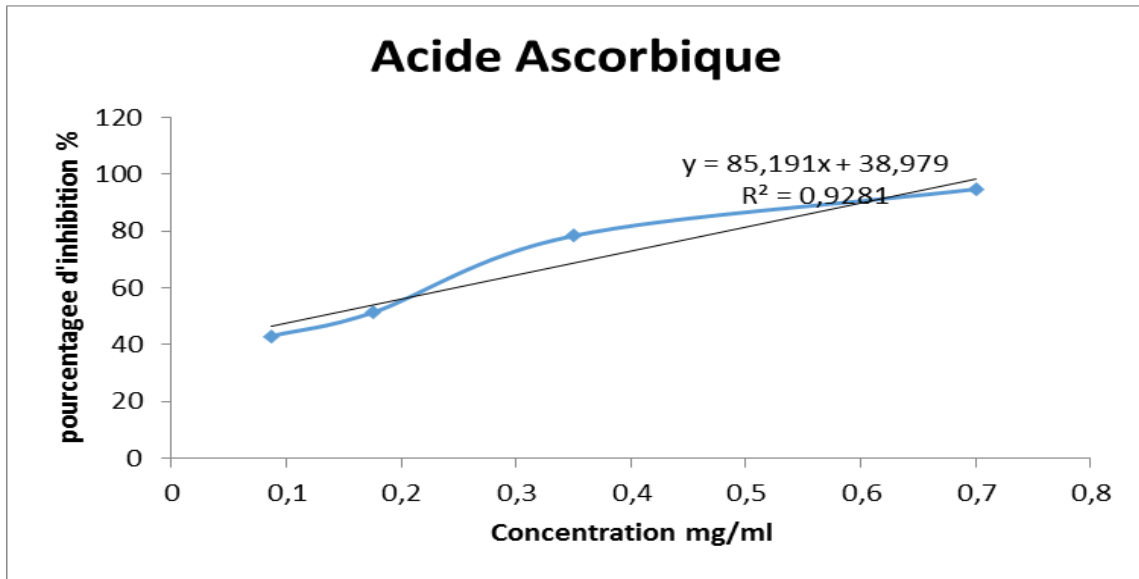


Figure 3 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'acide ascorbique

- **Préparation du Tampon phosphate salin (pH 6.3)**

<ul style="list-style-type: none"> - 2g Na Cl ; - 0.05 g kCl ; -0.06 KH₂PO₄ ; -0.036g Na₂ PO₄ ; 	}	<p>+ 200 ml eau distille</p> <p>pH = 6.3</p>
---	---	--

Présenté par :
BELHADJ Fatiha

Encadré par :
Dr. KRIM Meriem

Thème : Etude phytochimique et activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante *Zingiber Officinale*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé :

Le gingembre ou *Zingiber Officinale*, est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées et représente l'une des plantes médicinales les plus anciennes connues par l'être humain. Notre travail de recherche a été initialement consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de deux extraits des rhizomes de gingembre. Le premier extrait contient le jus (EZAJ) alors que le deuxième ne le contient pas (EZSJ).

Nous avons tout d'abord procédé au screening phytochimique, la quantification des teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes par dosage colorimétrique et l'activité antioxydante a été déterminée par le test de piégeage du radical libre DPPH. En outre, l'activité anti-inflammatoire a été effectuée in vitro en utilisant la méthode de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

Les résultats obtenus montrent un rendement plus élevé dans l'EZAJ. L'étude phytochimique a révélé la présence des principaux métabolites notamment : les flavonoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs dans l'EZAJ. Nous avons enregistré aussi la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des quinones libres et des terpénoïdes dans l'EZSJ. Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ ont révélé la richesse de l'EZAJ en polyphénols (71,96 ± 0.02 µg EAG/mg d'extrait) et en flavonoïdes (3,09 µg EQ/mg d'extrait). L'EZSJ contient une quantité plus faible en polyphénols (26,84 µg EAG/mg d'extrait) et en flavonoïdes (2,45 µg EQ/mg d'extrait).

La meilleure activité antioxydante a été obtenue par l'EZAJ, en piégeant le radical DPPH[•], avec une valeur d'IC₅₀ de 0.071 ± 0.02 mg/ml. Aussi, les résultats montrent une activité anti-inflammatoire importante des deux extraits.

Ces résultats suggèrent que le gingembre pourrait servir comme une source alternative d'agents antioxydants et anti-inflammatoires pour la protection des êtres humains contre les dommages oxydatifs et inflammatoires.

Mots- clé : polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Jury de soutenance :

Président : M. ZERAIB Azzeddine	(M.C.B)	U Abbes Laghrour – Khenchela-
Encadreur : Mme. KRIM Meriem	(M.C.B)	U Abbes Laghrour – Khenchela-
Examineur : M. RAHAL Khaled	(M.A.A)	U Abbes Laghrour – Khenchela-