

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude de la composition chimique et des effets biologiques
du gingembre (*Zingiber officinale*)**

Présenté par : KARAR Chaima

le 15/06/2023

SAHRAOUI Meyada

BENZRAFA Ibtissam

Jury d'évaluation :

Président : Mr. KITOUNI Rachid MCB- Université Frères Mentouri, Constantine I

Encadreur : M^{elle} GALI Lynda MRA- CRBt

Examineur : M^{elle} MAZOUZ Wissam MAA-Université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi

**Année universitaire
2022 – 2023**

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères je les adresse à vous mon Dieu, le plus puissant et Miséricordieux, pour m'avoir donné la puissance, le courage et la patience de mener à terme ce modeste travail.

*C'est avec une profonde gratitude nous tenons encore à remercier notre encadrante **M^{elle} GALI Lynda**, Maître de recherche classe 'A' au centre de recherche en biotechnologie (CRBt), Constantine, qui a tout d'abord acceptée la conduite et la direction de notre mémoire, par sa rigueur scientifique, par ses conseils et ses encouragements et pour la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de ce travail. Un grand merci, pour tout ce qu'elle nous a appris scientifiquement.*

*Nous tenons à remercier dans le même contexte **Mr. KITOUNI Rachid** maître des conférences classe 'B' à l'université de Constantine 1 d'avoir accepté présider le jury et **M^{elle} MAZZOUZ Wissam** maître assistant classe 'A' à l'université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi pour avoir accepté examiner ce modeste travail.*

*Nous sommes également reconnaissantes à tout le personnel du laboratoire de Biochimie, Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), Constantine, pour le climat familiale pour réaliser la partie pratique de ce travail. En particulier nous adressons nos remerciements à **BENSOUICI Chawki**, le chef du laboratoire Biochimie pour son accueil et sa bienveillance.*

*Nous remercions le Professeur **NECIB Youcef** le chef de Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire, pour les nombreux services qu'il nous a rendus durant la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude au Professeur **NOUADRI Tahar** maître de conférences à l'université Frères Mentouri Constantine, pour son soutien et ses conseils.*

*Nous tenons aussi à remercier **Dr. BENAAMOUN Leila** Maître de Conférences « B » au département de biochimie à l'université Frères Mentouri Constantine pour ses précieux conseils et suggestions.*

A tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour.

Enfin, nous remercions profondément notre précieuse famille universitaire et nos chères amies à la fois pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle.

Merci à vous tous.

Dédicaces

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé le chemin et m'a donné le courage et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

*La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie à mes chers parents **Amar** et **Fatima** pour leurs soutiens durant le long chemin de mes études, qui ont toujours été là pour moi, et qui ont beaucoup sacrifié pour que j'atteins ce niveau, qu'ils trouvent ici tous mes profonds remerciements, et j'espère qu'ils sont fiers de leur fille et que dieu vous bénisse pour moi.*

Ma mère Quant à elle j'en fais partie, mon rire a été le prix de ses larmes, et mes succès ont été le prix de ses efforts et de ses supplications

*À mes chères sœurs **Souaad** et **Lina***

*À Mes très chers frères **Hicham** et **Fares***

*À ma grand-mère **Halima** tu me manques, que dieu lui fasse miséricorde.*

*À tous les membres de ma grande famille **KARAR** et **LOUATI** et à tout personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études.*

*À mes cousins **Chiheb** et **Wassim**.*

*À mes chères amies **Amina** et leur enfants **Ahmed kais**, **Aya** et leurs enfants **Yahia**, **Noussayba**, **Soulaf**, **Alia**, **Khawla**, **Nesrine**, **Ibtihel**, **Nachoua**, **Sabrina**, **Rym**, **Choubeila** et mon binôme **Meyada** et **Ibtissem***

*Un grand merci à **LOUATI Belkaçem** pour leur soutien et leurs encouragements.*

À tous mes proches pour leur présence et leur soutien moral.

*À tous mes collègues de la promotion de **Master II Biochimie** de faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des **Frères Mentouri constantine 1** et je leur souhaite beaucoup de réussite.*

Chaima Kr

Dédicaces

*C'est avec l'aide et la grâce de dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je
Dédie...*

*A mes parents **abd Esslam Kamel et Salima** les plus chers au monde qui m'ont
toujours aidé dans ma vie, Encouragés et soutenue dans mes études.*

*A mes chères sœurs « **Maysoune , Loudjaine et Lamisse** et mon cher frère
unique **Amdjed**.*

*A ma chère et unique **grand-mère Khadija**.*

*A tous les membres de ma famille **Sahraoui** oncles, tantes et cousines
maternelle et Paternelle.*

*A mes collègues **Chaima Karar , Ibtissem Benezrafa , Hosna Benlemdek ,
Ferial Mouats , Sawssen Khachay, Malak Benfadel , Naima Zehtani ,Kawther
Mihoubi...*** et à tous mes amis que je connais.

*Et Je mentionne surtout ma chère collègue **Chaima karar** qui a travaillé si dur
avec nous.*

Meyada Joulan.

Dédicaces

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir accordée la force, la santé et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont encouragé et m'ont aidé moralement et matériellement :

*J'adresse une pensée spéciale à mes chers parents **Allaoua** et **Sonia** pour leurs soutiens dans mes choix et leur attention sans faille.*

*À mon grand-père **Fodil** et ma chère tante **Assia** et à le plus jeune de notre famille, **Hamza**.*

*À mes adorables binôme **Joulan** et **Chaima** qui ont partagé avec moi tous les Moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.*

*À mon chère amie **Nesrine** merci pour l'encouragement, les grands efforts, d'être compréhensive et très gentille.*

*Mes amies et toute ma famille maternelle et paternelle spécialement **Wahid**.*

A tous et toutes, ceux que j'aime.

Merci.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Abréviations

Introduction.....1

1ère partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Zingiber Officinale

I.1. Généralités sur la famille des zingibéracées	3
I.2. Genre Zingiber	3
I.3. <i>Zingiber Officinale</i> Roscoe.....	4
I.3.1. Description botanique et distribution	4
I.3.2. Classification.....	5
I.4. Étymologie et noms vernaculaires	5
I.3.3. Composition chimique.....	6
I.3.3.1. Composés phénoliques	6
I.3.3.2. Huile essentielle	7
I.3.4. Utilisations traditionnelles, effets biologiques, et toxicité.....	7

Chapitre II : Stress oxydatif et Antioxydants

II.1. Espèces réactives	11
II.1.1. Définition d'un radical libre	11
II.1.2. Stress oxydatif.....	12
II.1.3. Maladies associées au stress oxydatif	13
II.2. Antioxydants.....	14
II.2.1. Système antioxydant endogène.....	15
II.2.1.1. Système enzymatique	15
II.2.1.2. Système non-enzymatique	15
II.2.2. Antioxydants exogènes.....	16
II.2.2.1. Vitamines.....	16

II.2.2.2. Caroténoïdes	16
II.2.2.3. Polyphénols.....	17
II.2.2.3.1. Acides phénoliques	17
II.2.2.3.2. Flavonoïdes	18
II.2.2.3.3. Tannins	19

2ème partie : Partie expérimental

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	21
I.2. Matériel du laboratoire et produits chimiques	21
I.2.1. Matériel.....	21
I.2.2. Solvants et produits chimiques	22
I.3. Extraction.....	23
I.4. Etude de la composition chimique	24
I.4.1. Détermination des teneurs en polyphénols	24
I.4.1.1 Dosage des polyphénols totaux	24
I.4.1.2. Dosage des flavonoïdes	24
I.4.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)	25
I.5. Evaluation des activités biologiques	26
I.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante	26
I.5.1. Piégeage du radical DPPH.....	26
I.5.2. Activité antiradicalaire de l'ABTS.....	27
I.5.3. Pouvoir réducteur	28
I.5.4. Réduction du fer par la méthode de phénanthroline	29
I.5.5. Réduction des ions argent (Ag ⁺)	29
I.5.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire	30
I.5.3. Evaluation de l'activité antifongique.....	31
I.5.3.1. Préparation du milieu PDA (Potato dextrose agar) ou Gélose dextrosée à la pomme de terre.....	31
I.5.3.2. Réalisation du test antifongique	31

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Analyse phytochimique.....	33
II.1.1. Rendement d'extraction.....	33
II.1.2. Teneurs en composés phénoliques	33
II.1.3. Analyse CCM	34
II.2. Effets biologiques	37
II.2.1. Effet antioxydant.....	37
II.2.1.1. Effet antiradicalaire	37
II.2.1.2. Capacité réductrice	40
II.2.2. Activité anti-inflammatoire	45
II.2.3. Effet antifongique	47
Conclusion.....	50

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1 : Images de la partie aérienne (A) et du rhizome (B) du gingembre (<i>Zingiber officinale</i>)	04
Figure 2 : Structure des principaux composés phénoliques du gingembre.....	07
Figure 3 : Principales espèces réactives produites par les systèmes biologiques.....	12
Figure 4 : Conséquences des ERO sur les molécules biologiques	13
Figure 5 : Implication des ERO dans les différentes pathologies.....	14
Figure 6 : Structure chimique de l'acide hydroxy-benzoïque et de l'acide hydroxy-cinnamique..	18
Figure 7 : Principaux aglycones des flavonoïdes.....	19
Figure 8 : Aspect du gingembre après séchage.....	21
Figure 9 : Etapes de la préparation des extraits à partir de la poudre séchée du gingembre.....	23
Figure 10 : Courbes d'étalonnage utilisées pour la détermination des teneurs en polyphénols totaux (A) et des flavonoïdes (B).....	25
Figure 11 : Principe de la séparation sur chromatographie sur couche mince.....	26
Figure 12 : Mécanisme réactionnel intervenant lors de la réduction du radical DPPH.....	26
Figure 13 : Structure chimique de la forme oxydée et réduite du l'ABTS (ABTS ^{•+} / ABTS).....	28
Figure 14 : Schématisation du protocole de l'activité antifongique.....	32
Figure 15 : Rendements d'extraction des rhizomes de <i>Z. officinale</i>	33
Figure 16 : Teneur en polyphénols totaux (A) et en flavonoïdes (B) des différents extraits de <i>Z. officinale</i>	34
Figure 17 : Aspect des plaques CCM des différents systèmes de migration après révélation à 365 nm.....	36
Figure 18 : Courbes d'inhibition du radical DPPH (A) et les valeurs CI ₅₀ des différents extraits et standards (B).....	38
Figure 19 : Courbes d'inhibition du radical ABTS (A) et les valeurs CI ₅₀ des différents extraits et standards (B).....	39
Figure 20 : Courbes d'inhibition du radical ABTS (A) et les valeurs CI ₅₀ des différents extraits et standards (B).....	41
Figure 21 : Réduction du fer par la méthode de phénanthroline des extraits de <i>Z. officinale</i>	42
Figure 22 : Réduction des ions argent Ag ²⁺ par les extraits de <i>Z. officinale</i>	44
Figure 23 : Inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait aqueux du gingembre.....	46
Figure 24 : Activité antifongique des extraits de <i>Zingiber officinale</i> contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i>	48
Figure 25 : Photos de l'activité antifongique des différents extraits de <i>Zingiber officinale</i>	49

Liste des tableaux

Tableau 1 : Appellations locales du gingembre.....	06
Tableau 2 : Différentes activités biologiques de <i>Z. officinale</i>	10
Tableau 3 : Principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées.....	20
Tableau 4 : Solvants et les réactifs utilisés dans la partie expérimentale.....	22

Liste des Abréviations

A : Absorbance

ABTS : Acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique

BSA : Albumine de sérum bovin (ou Bovine sérum albumine)

CAT : Catalase

CCM : Chromatographie en couche mince

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

CRP : Protéine réactive C

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

EAG : Équivalent de l'acide gallique

EQ : Équivalent de la quercétine.

FC : Folin-Ciocalteu.

FOL : *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*

GPx : Glutathionne peroxydase

GR : Glutathionne réductase

GSH : Glutathion

HA : *Haloxylon articulatum*

HE : Huile essentielle

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

NO• : Oxyde d'azote

O₂^{•-} : Anion superoxide

OH• : Radical hydroxyle

PDA : Gélose dextrosée à la pomme de terre (Potato dextrose agar)

Prxs : Peroxiredoxins

EROs : Espèces réactives de l'oxygène

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloracétique

Tris : Trisaminométhane

Z. officinale : *Zingiber officinale*

α -TocH : α -tocophérol

g : Gramme

mg : Milligramme

μ l : Microlitre

μ g : Microgramme

ml : Millilitre

min : Minute

% : Pourcentage

Introduction générale

Les plantes ont constitué depuis longtemps la source principale des remèdes pour l'humanité. Ces plantes médicinales constituent une source riche en ingrédients qui exercent des effets physiologiques distincts sur le corps humain (**Kumar Gupta et Sharma, 2014**) et peuvent être utilisés dans le développement et la synthèse de médicaments (**Khan et al., 2019**).

Les Zingibéracées constituent une famille de plantes largement utilisées pour traiter une variété de maladies, notamment les troubles digestifs, les douleurs articulaires, les infections et les maladies respiratoires. De plus, plusieurs espèces de cette famille sont utilisées depuis des siècles dans la cuisine comme colorant et pour leurs propriétés culinaires (**Cheikh Ali, 2012**), mais aussi dans l'industrie cosmétique et en parfumerie pour leurs caractéristiques aromatiques.

Le gingembre (*Zingiber officinale*) une herbe annuelle représente l'une des plantes les plus connues et les plus utilisées de cette famille. Le gingembre est cité dans le coran comme étant la boisson du peuple de Paradis (**Gigon, 2012**) dû à ses multiples vertus. Cette plante est essentiellement utilisée comme épice dans de nombreuses boissons et d'aliments en raison de son goût piquant (**Ansari et al., 2021**). A côté de ses applications culinaires, le gingembre a été rapporté d'être efficace dans le traitement de plusieurs troubles comme les nausées, les vomissements (**Gröber et al., 2018**), réduire les douleurs articulaires et musculaires, et réguler la digestion (**Afshar et al., 2019; Cho et al., 2016**). En outre, il a également des effets bénéfiques sur la circulation sanguine, en aidant à réduire la pression artérielle et à améliorer la fonction cardiaque (**Eftekhari et al., 2019 ; Peirano et Gómez-Sánchez, 2015**). Les divers effets du gingembre sont essentiellement liés à sa composition en shogaols et gingérols lui conférant plusieurs effets biologiques et pharmacologiques dont les activités antidiabétiques, antimicrobiennes, anticancéreuses, anti inflammatoires, antioxydantes et antiémétiques (**Ali et al., 2018 ; Shahrajabian et al., 2019**).

Dans le cadre de ce travail, une analyse phytochimie et une évaluation de quelques effets biologiques de *Z. officinale* ont été effectuées afin de justifier ses applications et la possibilité de le considérer comme une source de substances bioactives.

Le travail est divisé en deux sections principales :

- Une section sur la synthèse bibliographique renfermant deux chapitres :
 - Un chapitre donnant un aperçu général sur la plante étudiée (*Zingiber officinale*)
 - Un chapitre consacré sur les aspects généraux du stress oxydatif et les antioxydants.

- Une deuxième section exposant les démarches expérimentales de ce travail qui est subdivisée en deux chapitres :
 - Un chapitre abordant l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés pour réaliser le travail
 - Un chapitre décrivant les principaux résultats obtenus et leur discussion relatifs.

1^{ère} partie :

Synthèse Bibliographique

Chapitre I :
Zingiber Officinale

I.1. Généralités sur la famille des zingibéracées

Les Zingiberaceae regroupent des plantes aromatiques qui produisent de fortes concentrations d'huiles essentielles, ces plantes sont appelées angiospermes monocotylédones (Ross, 2005). La famille des Zingiberaceae, également appelée famille du gingembre, comprend environ 54 genres et environ 1 600 espèces connues. Ces plantes sont toutes des herbes aromatiques vivaces à rhizomes tubéreux ou non tubéreux réparties en Afrique tropicale, en Asie et en Amérique (Habtemariam, 2019; Jatou *et al.*, 2007) largement utilisées dans la médecine traditionnelle, ou comme des épices et aromatisants. Ces espèces poussent généralement dans les parties humides et ombragées des basses terres ou sur les pentes des collines, sous forme de plantes dispersées ou fourrés (Habsah *et al.*, 2000). Parmi les genres de cette famille, on trouve le genre Zingiber et Curcuma qui sont très utilisés dans la cuisine maghrébine.

I.2. Genre Zingiber

Le genre Zingiber représente le troisième genre le plus large de la famille des zingibéracées qui comprend environ 85 espèces généralement distribuées dans l'Asie, l'Amérique du sud et d'Afrique. La plupart des plantes de ce genre sont des plantes aromatiques avec la caractéristique de développer un rhizome qui possède plusieurs propriétés thérapeutiques tels que traiter les problèmes de l'estomac, les nausées, les vomissements, les maux de la gorge, la toux, le rhumatisme, les migraines, les maux musculaires, et beaucoup d'autres effets. La composition chimique de ce genre est caractérisée par la présence de plusieurs composés essentiellement les gingérols, les shogaols, les diarylheptanoïdes, les phenylbutenoïdes, les flavonoïdes, les diterpenoïdes, et les sesquiterpenoïdes (Sharifi-Rad *et al.*, 2017). Les espèces les plus représentatives de ce genre sont *Zingiber zerumbet* (L.) Smith, *Zingiber officinale* Rosc (ginger), *Zingiber corallinum* Hance, *Zingiber mioga* (Thunb.) Rosc, et *Zingiber striolatum* Diels dont de nombreuses études ont été menées sur ses plantes (Deng *et al.*, 2022).

I.3. Zingiber Officinale Roscoe

I.3.1. Description botanique et distribution

Zingiber Officinale ou gingembre ordinaire est caractérisée par la présence de deux parties :

-Une partie aérienne comprenant les tiges, les feuilles et les fruits. Les tiges sont de deux types ; les tiges stériles et des tiges fertiles (**Habtemariam, 2019**). Les feuilles sont vertes longues et larges de 2-3 cm, dont les bases sont couvertes, le limbe se rétrécit progressivement jusqu'à l'extrémité (**Kumar et al., 2011**). Les fleurs entourées de bractées vert pâle forment des épis denses , parfumées, avec des bandes rouges sur les lèvres (**Faivre et al., 2006**). Les fruits sont des capsules charnues contenant des graines avec un arille blanc distinct (**Marwat et al., 2015**) (figure 1A).

-Une partie souterraine représentée par le rhizome rampants horizontal ou tubéreux, qui est une structure épaisse lobée ramifiée avec des articulations tubéreuses qui poussent horizontalement et présente une peau fine avec une couleur jaune ou marron (**Beristain-Bauza et al., 2019**). Le gingembre est une plante native de l'Asie du sud elle est cultivée dans plusieurs d'autres régions.

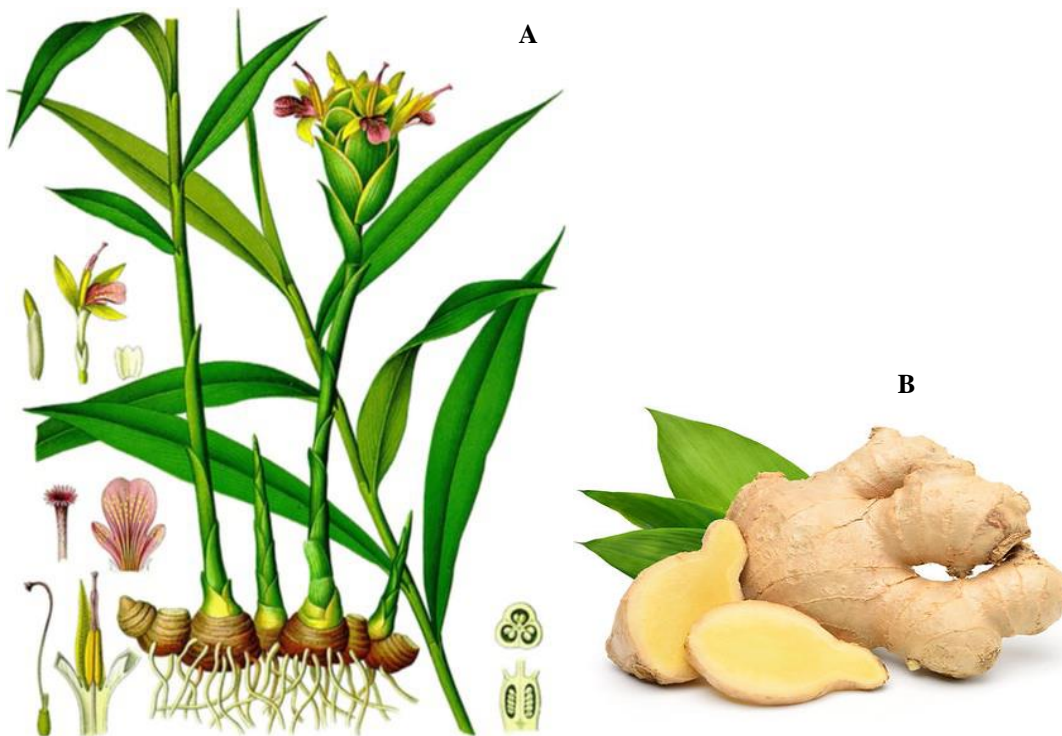


Figure 1 : Images de la partie aérienne (A) (**Habtemariam, 2019**) et du rhizome (B) du gingembre (*Zingiber officinale*)

I.3.2. Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta - Plantes vasculaires

Super-division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida – Monocotyledons

Sous-classe : Zingiberidae

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : Zingiber

I.4. Étymologie et noms vernaculaires

Le nom *Zingiber officinale* qui vient du mot sanskrit shringavera signifie " en forme de bois de cerf ", en raison de la forme des jeunes pousses émergeant de son rhizome. Puis après le nom grec apparaît dans ziggiberis, qui vient du nom arabe zangabîl. Le terme latin *Zingiber* apparaît plus tard et est à l'Origine du nom de genre botanique *Zingiber*. Il est adapté de l'ancien français comme "Gingibre" qui est finalement orthographié "Gingembre" au XIIIe siècle (Pinson, 2012).

Le gingembre a plusieurs appellations locales autour le monde qui sont indiquées dans le tableau 1 (Akbar, 2020; Kumar *et al.*, 2011).

Tableau 1 : Appellations locales du gingembre

Nom local	Pays
Ginger	Anglais
Aduwa, sutho :	Népalais
Adrak (frais), Sonth (séché)	Urdu et Hindi
Adraka (frais), Shunthi (séché) :	Sanskrit
Gember	Néerlandais
Gemeiner ingber/ingwer	Allemand
Gengibre/jengibre	Espagnol
Gingembre	Français
Shokyo/Shouga	Japonais
Saenggang	Coréen
Gingebre, gingibre, gingiebre	Provenç

I.3.3. Composition chimique

Le gingembre (*Zingiber Officinale*) frais est composé de l'eau (80.9 %), de carbohydrates (12,3%), de fibres (2,4%), de protéines (2,3%), des éléments minéraux (potassium, calcium, phosphore, sodium, et le fer avec un pourcentage de 1,2 %), des lipides (0,9%), et de vitamines (essentiellement la thiamine, la riboflavine, la niacine, et la vitamine C) (**Beristain-Bauza et al., 2019**). Les constituants responsables des effets thérapeutiques de la plante peuvent être réparties en composés non-volatils et volatils. La partie non volatile forme l'oléorésine contenant des composés responsables du gout épicé de la plante alors que la fraction volatile est généralement constituée des dérivés de l'huile essentielle responsable de l'arôme (**Anasori et Asghari, 2008**).

I.3.3.1. Composés phénoliques

Plusieurs composés phénoliques ont été rapportés dans le gingembre. Des composés phénoliques spécifiques comme le 6-gingérol, 6-shogaol, 10-gingérol, le 6-dihydrogingerdione, avec un seul groupement vanillyle ont été rapportés (**Chen et al., 2009**) (**figure 2**). D'autres avec deux groupements vanillyle comme l'hexahydrocurcumine, et la gingérénones A ont été isolés (**Peng et al., 2012**) . Le 6-gingérol est le composé responsable du gout piquant du gingembre. De nombreux autres composés phénoliques comme les acides phénoliques et les flavonoïdes communément trouvés dans les plantes ont été également rapportés dans la plante comme l'acide gallique, la catéchine, la quercétine, l'apigénine-7-glucoside, etc (**Ghafoor et al., 2020 ; Tohma et al., 2016**).

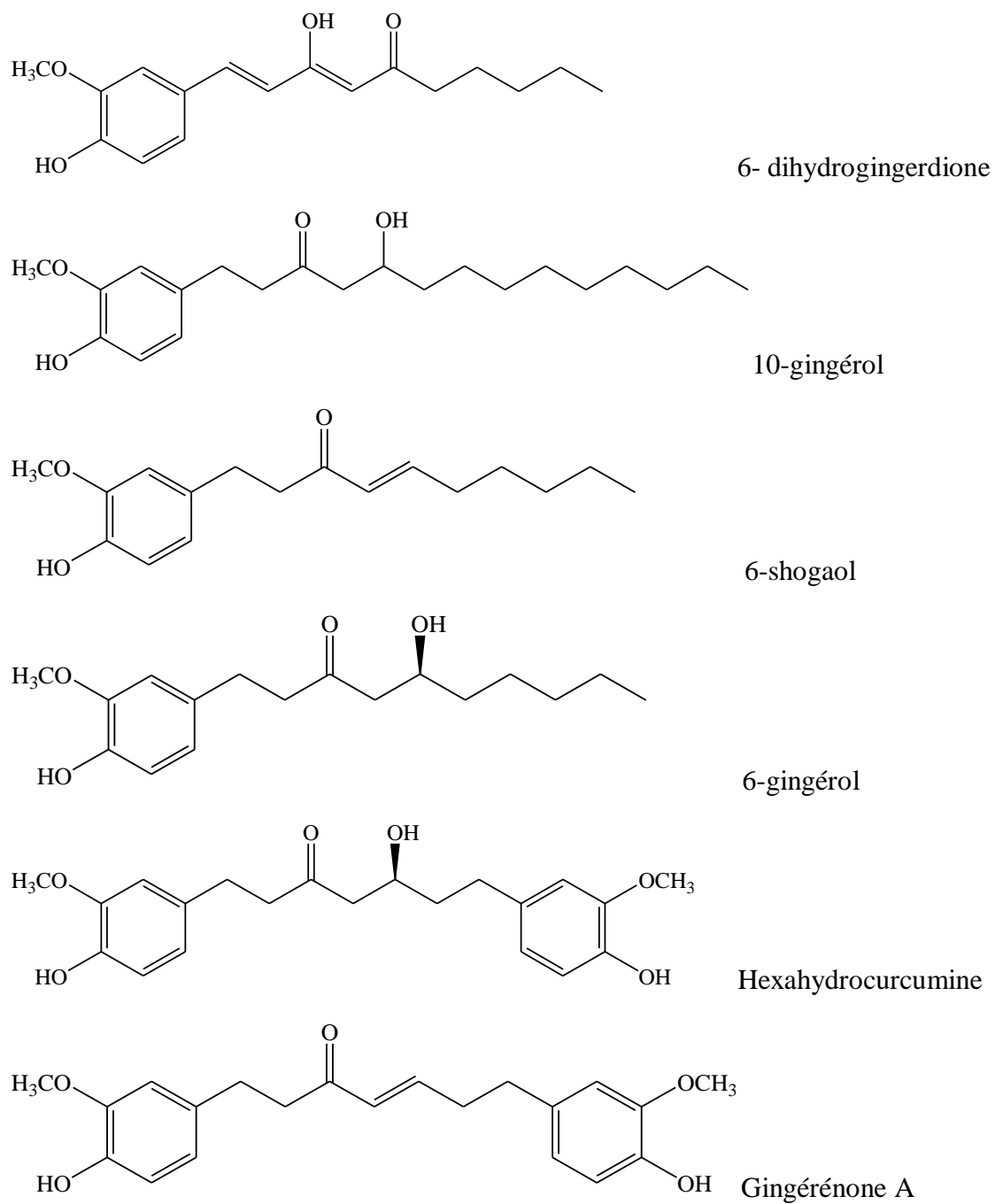


Figure 2. Structure des principaux composés phénoliques du gingembre.

I.3.3.2. Huile essentielle

Le gingembre à un arôme caractéristique due à son huile essentielle constituée essentiellement de sesquiterpènes, (α -zingiberène, β -sesquiphellandrène, β -bisabolène, α -farnésène, α -curcumène, zingibérol) et en petite proportion de monoterpenoïdes (β -phellandrène, camphène, cinéole, eugénol, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, et lebornéol), et de diterpenoïdes (**Beristain-Bauza *et al.*, 2019**).

I.3.4. Utilisations traditionnelles, effets biologiques, et toxicité

Le gingembre est l'une des plantes les plus importantes présentant plusieurs vertus médicinales, nutritionnelles et ethno-médicales expliquant son utilisation dans le monde entier comme épice, agent aromatisant ou comme remède. Cette plante est d'ailleurs citée dans le Coran sourate "الانسان"

(ويسقون فيها كأسا كان مزاجها زنجبيلا 17.)

La racine du gingembre est la partie la plus utilisée de la plante soit à l'état frais ou sec (**Shahrajabian *et al.*, 2019**). Dans la médecine traditionnelle chinoise, le gingembre est souvent utilisé pour le traitement du rhumatisme, les maladies nerveuses, l'asthme, les douleurs dentaires, la constipation et le diabète (**Chen *et al.*, 2009**). De plus, il est utilisé dans plusieurs régions du monde pour le traitement des arthrites, des douleurs musculaires, des crampes, des maux de la gorge, de l'hypertension, et contre les helminthiases, les ulcères gastro-intestinaux, et la diarrhée (**Ezez et Tefera, 2021 ; Priya Rani *et al.*, 2011**).

Outre les utilisations thérapeutiques, le gingembre est également employé dans l'industrie alimentaire pour aromatiser les sucreries et fabriquer des boissons alcoolisées et non alcoolisées (**Sangwan *et al.*, 2014**). Il est largement utilisé comme épice, notamment en Asie, râpé ou haché pour donner de la saveur aux plats de viande, de poisson et de fruits de mer. Il est utilisé dans les currys, les entremets, les puddings, les soupes et les sauces. En Indonésie, il est utilisé en pâte à tartiner sur les viandes rôties, etc (**Angèle, 2017**).

L'étude des effets biologiques du gingembre a fait l'objet de nombreux travaux dans le but de justifier les effets thérapeutiques extraordinaires de cette plante. Des effets antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreux, antiémétique, antimicrobienne, et anti-agrégation plaquettaire, etc ont été assignés au gingembre. Le tableau suivant donne quelques exemples des effets biologiques des extraits de *Z. officinale* (**tableau 2**).

En ce qui concerne la toxicité, le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sans danger. Néanmoins, des précautions d'emploi sont habituelles dans la prévention des risques liés à l'utilisation des huiles essentielles (**Faivre *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012**). En effet, à fortes doses, le gingembre peut irriter la peau et déclencher des allergies, il augmente la photosensibilité de la peau. L'huile essentielle (HE) du gingembre peut entraîner une intoxication neurologique par surdosage de l'HE. L'application de l'huile de gingembre est déconseillée aux femmes enceintes, car elle peut déclencher des contractions comme elle peut causer des effets tératogènes. Son application sur le cou et le visage est déconseillée. (**Aouadhi, 2015**).

Tableau 2. Différentes activités biologiques de *Z. officinale*

Effet	Extrait	Méthode d'évaluation	Référence
	-Jus frais du rhizome	-Anti-hyperglycémie et anti-hypo insulinémie dans des rats diabétiques	Akhani et al., 2010
Effet antidiabétique	-Aqueux, acétate d'éthyle	-Inhibition of α -glucosidase et α -amylase	Abeysekera et al., 2007 Priya Rani et al., 2011
	-Acétate d'éthyle	-Anti-glycation et expression des récepteurs GLUT 4.	Rani et al., 2012
Effet antibactérien	-Extrait éthanolique (éthanol 95 %)	Méthode de diffusion sur gélose et de micro dilution sur microplaque	Karuppiah et Rajaram, 2012
Effet anti-inflammatoire	- Acétate d'éthyle -Huile essentielle	-Inhibition de la cyclooxygénase -Inhibition de l'inflammation des joints (arthrite) dans des rats	Priya Rani et al., 2011 Funk et al., 2016
Effet anticancéreux	- Méthanol	Evaluation in vitro du taux de mortalité des cellules cancéreuses humaines Hela	Cheng et al., 2011
Effet antioxydant	-Ethanol, méthanol : eau, des solutions aqueuses d'acétate d'éthyle, acétone, et éthanol	Méthode de thiocyanate ferrique, pouvoir réducteur, réduction de cuivre (Cu^{2+}), chélation du fer (Fe^{2+}), effet antiradicalaire contre le 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et le N, N-diméthyle-p-phénylenediamine (DMPD)	Ezez et Tefera, 2021 Ghafoor et al., 2020 Tohma et al., 2016

Chapitre II :

Stress oxydatif et antioxydants

II.1. Espèces réactives

II.1.1. Définition d'un radical libre

Un radical libre est un élément (atome ou molécule) dont il manque d'un électron dans sa couche externe. De ce fait, ces éléments sont généralement instables et cherche à arracher des électrons d'autres molécules provoquant leur oxydation. Il existe d'autres molécules non radicalaires mais très réactives qui peuvent agir comme un radical libre en provoquant l'oxydation d'autres molécules. Par conséquent, on distingue des espèces réactives radicalaires et d'autres non radicalaires (**Bartosz, 2003**).

Le corps produit un grand nombre d'espèces réactives comme résultat des réactions biochimiques. Ces espèces jouent un rôle dans plusieurs processus comme la respiration, la défense, et comme des molécules du signal. Néanmoins des facteurs externes peuvent potentiellement induire la production des radicaux libres. On distingue les espèces réactives d'oxygène et les espèces réactives d'azote (**figure 3**). Les principales voies de production des espèces réactives dans les systèmes biologiques incluent l'exposition aux facteurs physiques comme les radiations, l'exposition aux agents chimiques (xénobiotiques comme les pesticides, des toxines, etc.), et la production pour des fins de défense suite à une attaque par des microorganismes et pour la signalisation (**Bartosz, 2003**). Il existe des espèces dérivant de l'oxygène (les espèces réactives de l'oxygène) et des espèces dérivent de l'azote (espèces réactive de l'azote). Les enzymes comme la myéloperoxydase, la NADPH oxydase, la NO synthase représentent les principaux points dans la production des radicaux libres dans le milieu externe des cellules. De plus, l'activité d'autres enzymes comme celles de la chaîne respiratoire conduit à la production des radicaux libres intracellulaires (**Weidinger et Kozlov, 2015**).

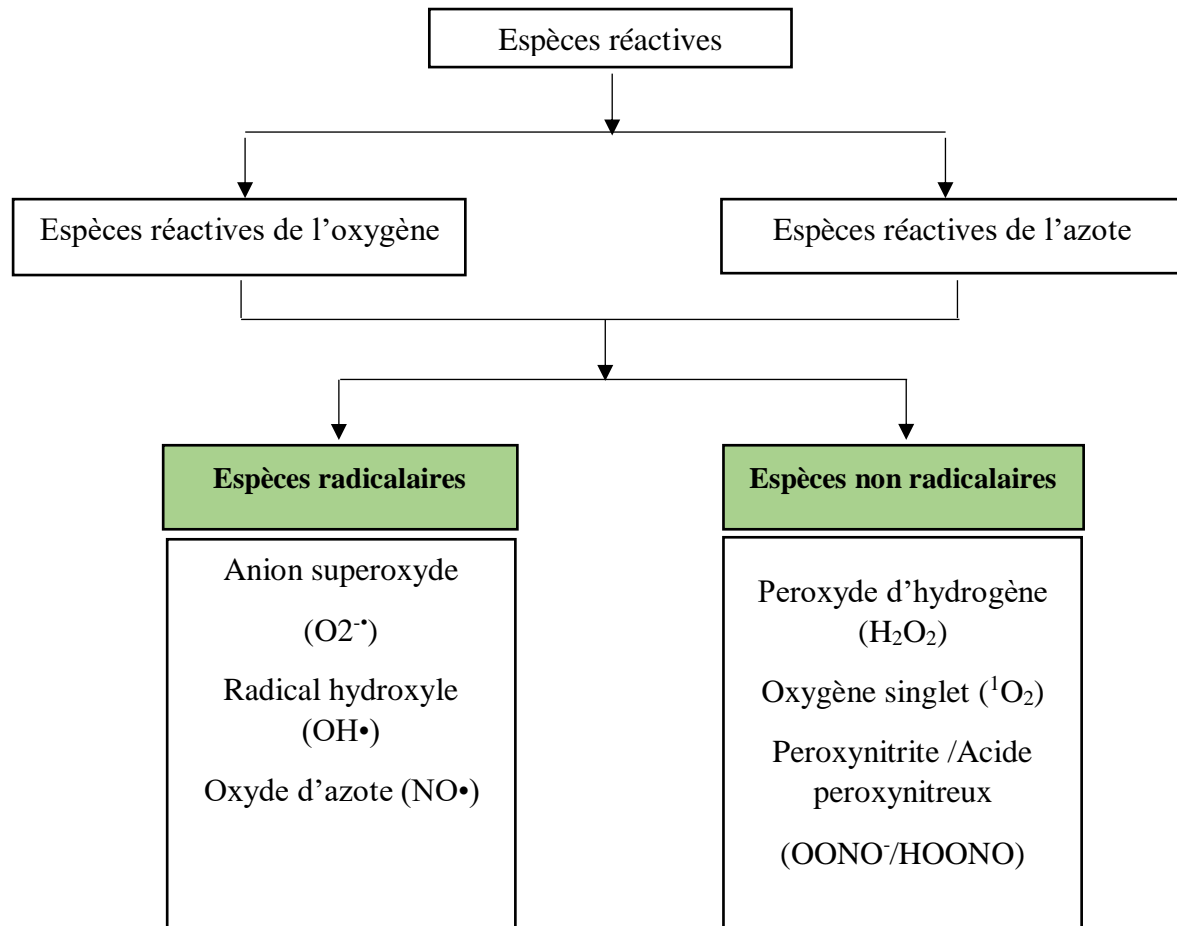


Figure 3 : Principales espèces réactives produites par les systèmes biologiques

II.1.2. Stress oxydatif

Vu la toxicité des radicaux libres aux systèmes biologiques, leur élimination après leur action est extrêmement nécessaire pour atteindre un équilibre dans le corps. Néanmoins, l'incapacité du corps à réaliser un certain équilibre entre la production des espèces réactives et leur clairance conduit à ce que l'on appelle le stress oxydatif un terme qui est introduit en 1991 (**Fetoni et al., 2019**). Cela conduit à des dommages des structures biologiques incluant les protéines, les lipides, et les acides nucléiques provoquant la perte de leur fonction, la production de sous-produits toxiques, ou la production des structures anormales à l'origine de plusieurs maladies (**Baudin, 2020**). La **figure 4** ci-dessous montre les conséquences de la surproduction des espèces réactives lors du stress oxydatif sur les molécules biologiques de l'organisme.

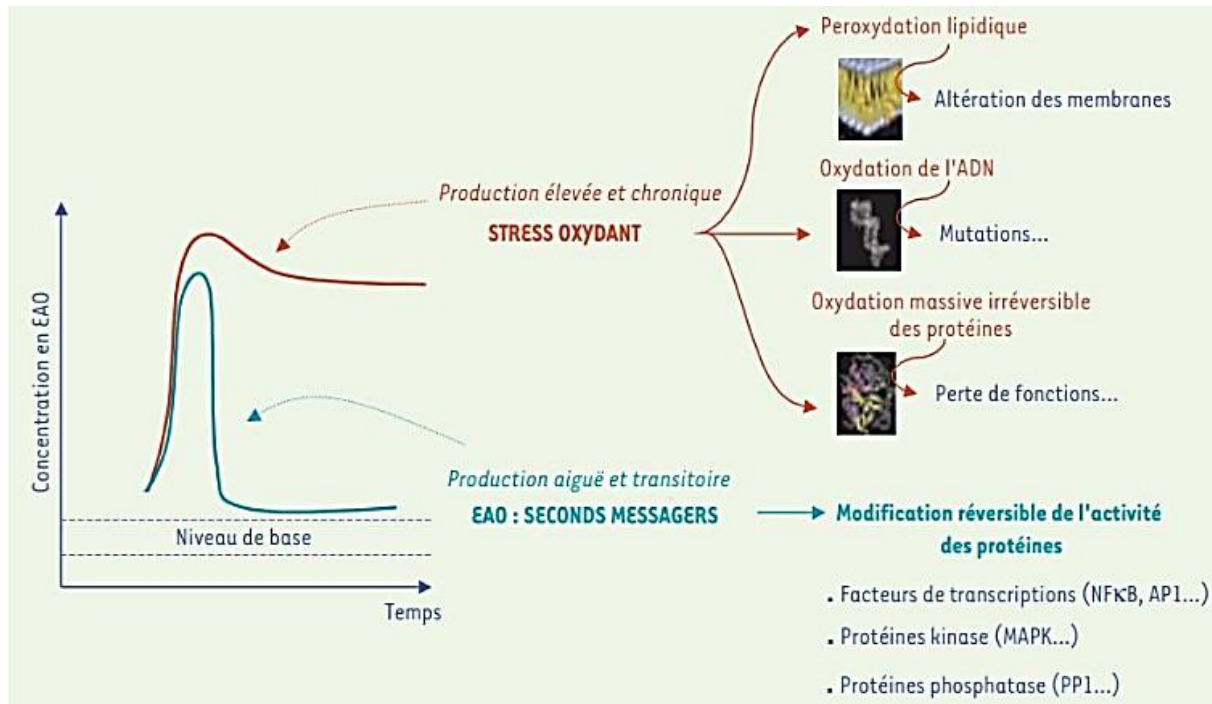


Figure 4 : Conséquences des ROS sur les molécules biologiques (Carrière *et al.*, 2006).

II.1.3. Maladies associées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est fortement associé au développement de plusieurs maladies comme l'artériosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires, les maladies neurodégénératives, le diabète, etc. (**figure 5**). En plus, le processus du vieillissement est considéré comme être le résultat de l'exposition à long terme aux radicaux libres dont l'accumulation de dommages non réparés conduit à plusieurs dysfonctionnements (**Atamer *et al.*, 2008**). Pour cela, il est essentiel de renforcer le système antioxydant endogène par l'apport des antioxydants exogènes via une alimentation équilibrée mais aussi par éviter les facteurs engendrant les radicaux libres (tabac, l'exposition aux radiations, etc) (**Halliwell et Gutteridge, 2008**). Dans d'autres maladies, le stress oxydant joue un rôle secondaire au développement de la pathologie, mais est associé à ses complications immunitaires ou vasculaires (c'est le cas des maladies infectieuses comme le SIDA et le diabète) (**Preiser, 2012**).

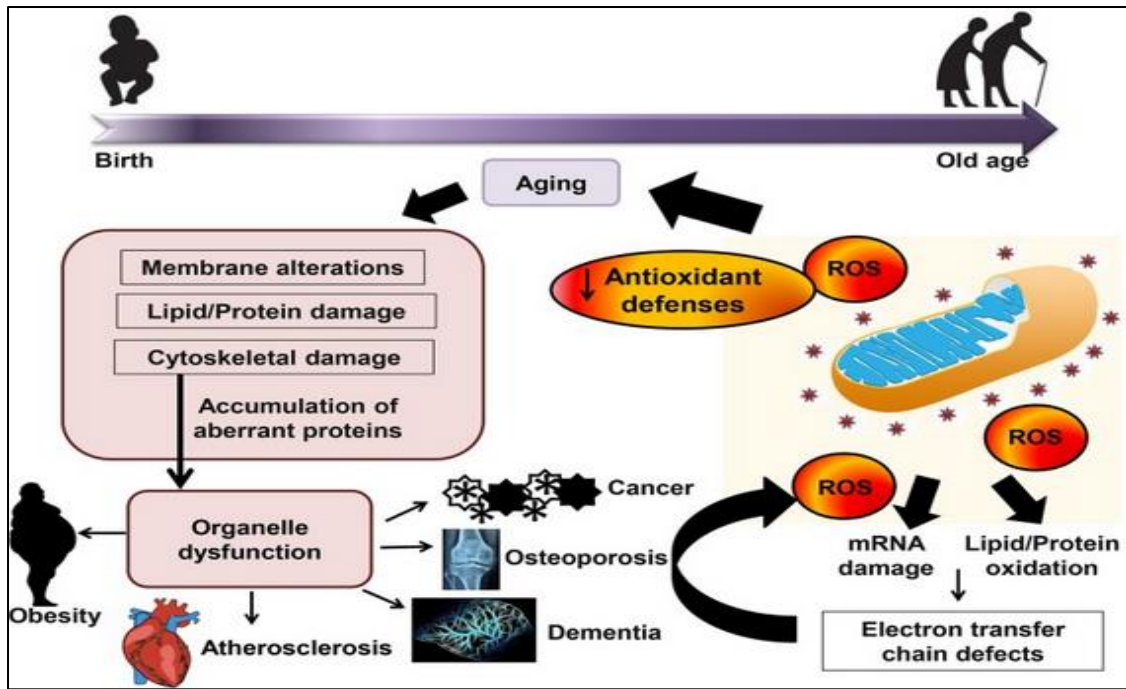


Figure 5 : Implication des ROS dans les différentes pathologies

II.2. Antioxydants

Par définition, un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable à une concentration relativement faible, peut entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et donc retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Dröge, 2002). Les organismes aérobies possèdent un système d'antioxydants endogènes qui contrôle le niveau des radicaux libres produits et assurent un équilibre et protègent les molécules biologiques. Ce système est principalement composé d'enzymes et de molécules de petits poids moléculaire qui agissent en synergie. Des antioxydants d'origine alimentaire peuvent être aussi apportés et jouent un rôle très important dans la défense contre les dommages des radicaux libres.

II.2.1. Système antioxydant endogène**II.2.1.1. Système enzymatique**

Un nombre d'enzymes exprimées par les organismes interviennent dans la détoxification et l'élimination des radicaux libres produits lors des processus physiologiques. Dans cette catégorie, on trouve le superoxyde dismutase (SOD) responsable de l'élimination de l'anion superoxyde engendrant le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène moléculaire (**Lubrano, 2015**), la catalase (CAT), la glutathionne peroxydase (GPx), la glutathionne réductase (GR), et la peroxiredoxins (Prxs) qui dégradent le peroxyde d'hydrogène pour produire l'eau dans le cas de la glutathionne peroxydase et l'oxygène moléculaire en cas de la catalase. D'autres enzymes qui agissent en troisième ligne peuvent être aussi intervenir en réparant les macromolécules endommagés (protéines, l'ADN, et les lipides), arrêter la chaîne de propagation des radicaux pyroxyles, et réparer les membranes cellulaires endommagées (**Mirończuk-Chodakowska et al., 2018**).

II.2.1.2. Système non-enzymatique

Des molécules endogènes assurant plusieurs fonctions physiologiques dans l'organisme humain ont également des propriétés antioxydantes. Ces molécules sont le résultat du métabolisme ou synthétisées pour un rôle bien défini outre que leur rôle antioxydant. Dans cette catégorie on trouve des molécules qui agissent en première ligne en prévenant la production des radicaux libres et d'autres qui agissent en deuxième ligne qui par leur interaction avec les radicaux libres interviennent à leur neutralisation. Dans la première catégorie, ce sont les protéines du plasma sanguin représentées essentiellement par la céruléoplasmine, la ferritine, la transferrine et l'albumine qui par leur capacité à fixer les ions de transition (fer et cuivre) limite la génération des radicaux libres. Les antioxydants comme le glutathion (GSH), la mélatonine, l'acide urique, et la bilirubine forment la deuxième catégorie des antioxydants endogènes qui jouent un rôle dans la neutralisation des radicaux libres dans les cellules ou le sang ou par leur capacité à réguler les enzymes antioxydants (**Mirończuk-Chodakowska et al., 2018**).

II.2.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des molécules apportées par l'alimentation ou sous forme de préparations pharmaceutiques sans être synthétisées par les organismes vivants. Les antioxydants de cette catégorie sont représentés par les différents antioxydants dérivant du métabolisme secondaire des plantes (polyphénols, caroténoïdes, alcaloïdes, et les composés terpéniques), des Oligoéléments (Mg, Zn, Se, Mn), vitamines E, C, caroténoïdes, polyphénols (**Krinsky, 2001 ; Mironczuk-Chodakowska et al., 2018 ; Yang et al., 2009**). Les principaux groupes d'antioxydants apportés par l'alimentation ainsi que leur source sont figurés dans le **tableau 3**.

II.2.2.1. Vitamines

Les vitamines sont des molécules synthétisées ou le plus souvent apportées par l'alimentation jouant un rôle primordial dans les réactions biochimiques dont la carence ou l'apport excessif peut conduire à des maladies. Les vitamines peuvent être classées en deux principales classes ; les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles dont certaines d'elles sont douées de propriétés antioxydantes importantes. La vitamine E (α -tocophérol) est considérée comme l'antioxydant liposoluble le plus important. Il neutralise les radicaux libres puis stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine, à son tour, devient un radical moins réactif qui peut être régénéré par l'acide ascorbique (**Bationo et al., 2015**). En effet, leur forme naturelle inclue quatre isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable dont l' α -tocophérol (α -TocH) est la forme la plus active (**Halliwell et Gutteridge, 2008**). La vitamine C ou acide L-ascorbique est considérée comme le principal antioxydant hydrosoluble présent dans la plupart des fruits et légumes et connu pour son effet protecteur contre l'oxydation membranaire (**Rodríguez-Roque et al., 2015**). La vitamine A est une vitamine liposoluble que l'on trouve en grande quantité dans l'organisme, notamment dans le foie, qui représente son principal organe de stockage. Cette vitamine est aussi connue d'avoir un effet antioxydant (**Desmier, 2016**).

II.2.2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes forment un groupe de pigments colorés qui se trouvent et sont synthétisés dans de nombreuses cellules végétales et sont divisés en caroténoïdes à chaîne oxygénée et ceux à chaîne non oxygénée. Certains caroténoïdes (en particulier le β -carotène) sont des précurseurs de la vitamine A.

II.2.2.3. Polyphénols

Les polyphénols également appelés composés phénoliques (**Achat, 2013**) sont des composés largement répandus dans le règne végétal. On trouve les polyphénols dans toutes les parties des plantes (feuilles, racines, fruits, et les graines) (**Nkhili, 2009**). Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui ne sont impliqués dans les fonctions vitales des plantes mais assurent un rôle majeur dans l'interaction avec leur environnement (**Achat, 2013**). Les polyphénols sont caractérisés structurellement par la présence d'au moins un cycle benzénique auquel au moins un groupe hydroxyle est directement attaché sous forme libre ou liés à d'autres groupements (**Bruneton, 1999**). Les composés phénoliques sont commodément classés en fonction du nombre d'atomes Carbone du squelette de base (**Dacosta, 2003**). Les flavonoïdes représentent plus de la moitié des composés phénoliques. Les polyphénols sont les antioxydants les plus répandus de notre alimentation qui ont attiré un grand intérêt grâce à leurs priorités thérapeutiques. Il s'agit notamment de la prévention du cancer, des maladies cardiovasculaires et d'autres troubles pathologiques (**Valko et al., 2006**). L'activité antioxydant des composés phénoliques est liée à un certain nombre de mécanismes différents, tels que l'élimination des radicaux libres, la donation d'hydrogène et/ou des électrons, la neutralisation de l'oxygène singulet, et la chélation des ions métalliques (**Azab et al., 2018**). Notamment les flavonoïdes, sont considérés comme d'excellents piègeurs d'espèces réactives de l'oxygène impliquées dans l'oxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques (ADN, ARN). Cette activité leur permet alors d'intervenir dans la prévention des maladies chroniques directement liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives et le vieillissement (**Nibir et al., 2017**). Plusieurs classes de polyphénols ont été définies suivant leur structure dont on distingue phénols simples et phénols complexes (**Achat, 2013**).

II.2.2.3.1. Acides phénoliques

Ils sont des composés phénoliques simples largement utilisés une plante contenant des groupes carboxyle dans sa structure. Chimiquement, si le groupement acide carboxylique (COO) est directement lié au cycle phénolique, les acides sont de type acide hydroxybenzoïque et dans le cas contraire ou le groupement acide (COO) est séparé par deux doubles carbones (une liaison C=C) composés sont de type acide hydroxycinnamique (**figure 6**) (**Mamari, 2021**). Les acides phénoliques ont des effets biologiques bénéfiques, notamment : antioxydant, anticancéreux, anti-inflammatoire, cardioprotecteur (**Sova et Saso, 2020**).

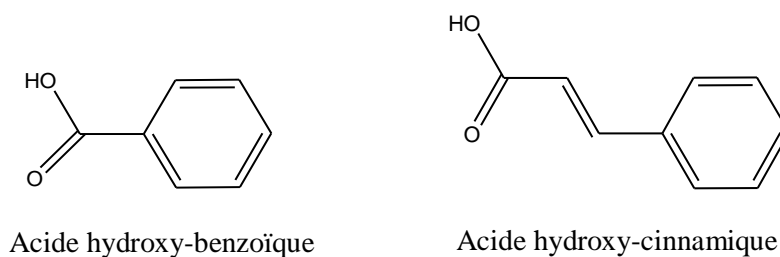


Figure 6 : Structure chimique de l'acide hydroxy-benzoïque et de l'acide hydroxy-cinnamique (Mamari, 2021).

II.2.2.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes forment un large sous classe de polyphénols doués de propriétés pharmacologiques très intéressantes. Ces composés sont subdivisés en plusieurs groupes à savoir les flavones, les flavanols, les flavonols, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanes, et les néo-flavonoïdes (aurone et catéchine). Les propriétés chimiques de ces composés sont déterminées par le degré d'hydroxylation (nombre des groupements hydroxyle), le degré de méthylation, le degré de la glycosylation, mais aussi par leur degré de la polymérisation (Panche *et al.*, 2016). On distingue alors plusieurs groupes principalement les flavanols, flavones, flavanols, flavanones, les catéchines, les chalcones, les isoflavones, et les anthocyanidines (figure 7). Des propriétés antioxydant, anti-inflammatoire, anti thrombotique, antibactérienne, anti hépatotoxique, anti tumorale, antihypertenseur, antiviral, antiallergique ont été associées aux flavonoïdes (Andersson *et al.*, 1996). La figure ci-jointe représente quelques exemples de structures des flavonoïdes.

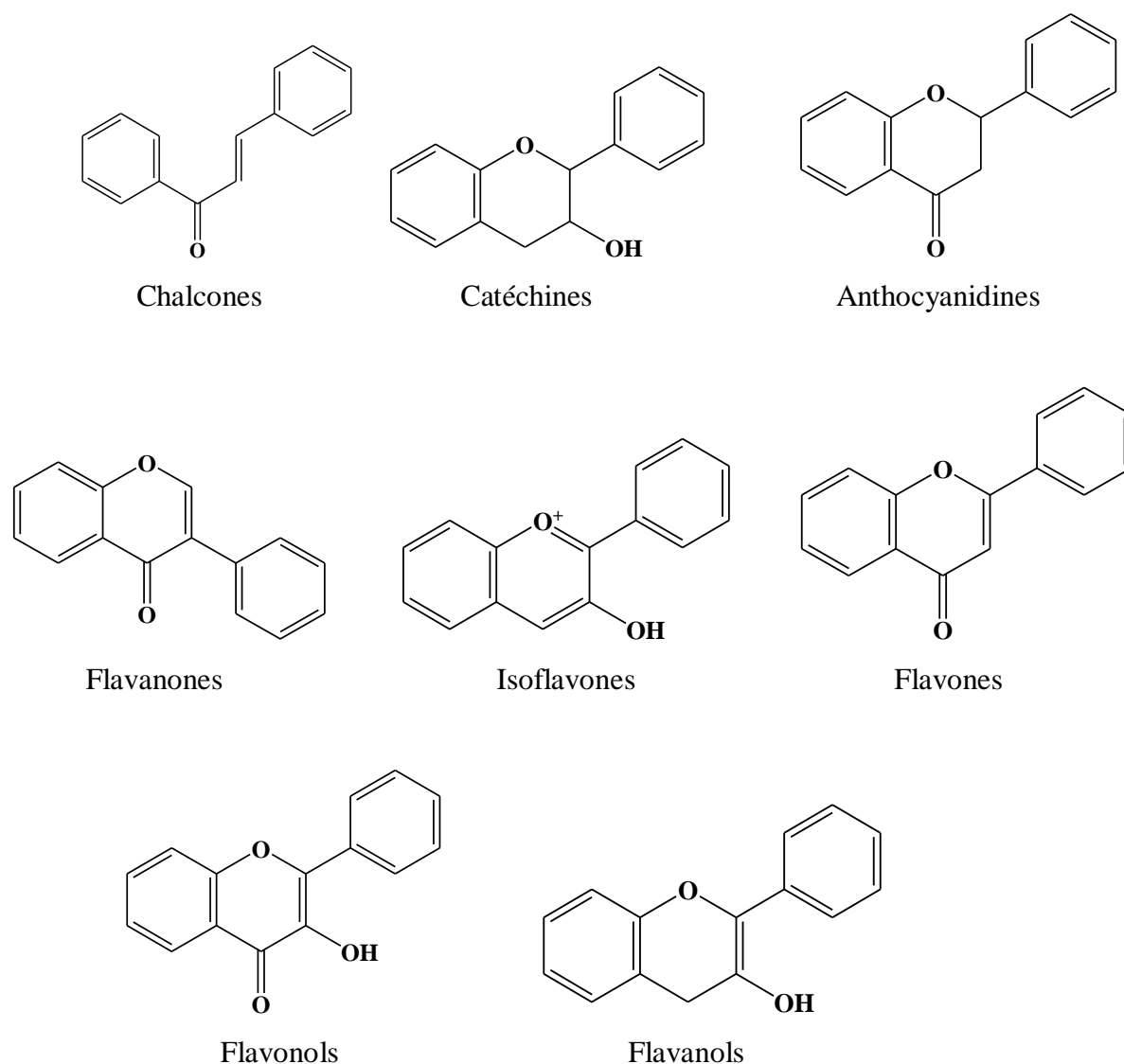


Figure 7 : Principaux aglycones des flavonoïdes (Bouchouka, 2016).

II.2.2.3.3. Tannins

Cette classe renferme des composés phénoliques à l'état de polymères avec un poids moléculaire variant entre 500 et 3000 KD qui ont la propriété de former des complexes avec plusieurs substances comme les protéines (Cowan, 1999; Haslam, 1996). Ces composés se trouvent dans toutes les parties de la plante y compris les feuilles, les racines, les tiges, les fruits, et l'écorce et sont responsables de la caractéristique astringente des plantes (Scalbert, 1991). Les tannins se divisent en deux principaux sous-groupes ; le premier renferme les tannins hydrolysables qui sont des oligomères ou des polyesters de sucres et de quantités variables d'acides phénoliques. Le sucre est généralement le D-glucose avec un acide phénolique.

L'acide phénolique peut être l'acide gallique donnant les tanins galliques ou l'acide ellagique formant ce que on appelle les ellagitanins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999). Le deuxième sous-groupe représente les tannins condensés qui sont fondamentalement différents des tanins hydrolysables car ils ne contiennent pas du sucre. Leurs molécules et leurs structures sont similaires aux flavonoïdes. En effet, ces composés sont des polymères flavaniques constitués d'unités flavan-3-ol maintenues ensemble par des liaisons C-C. Les proanthocyanidols ont été isolées ou identifiées dans tous les groupes de plantes gymnospermes et des fougères (Bruneton, 1999).

Tableau 3 : Principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Groupe	Antioxydant	Source alimentaire
Vitamines	Vitamine A	Foie, thon, beurre, fromage, œufs, laitages
	Vitamine E	Huiles végétales, amandes, noix, noisettes, brocoli, épinards, avocat, etc.
	Vitamine C	Agrumes (citron, orange, pamplemousse,) cassis, fraises, melon, persil, kiwi, etc.
Caroténoïdes	B-carotène	Carotte, persil, abricot, poivron, orange, pois verts, kaki, etc.
	Lycopène	Tomates, papaye, abricot, goyave, melon, etc.
	Lutéine et zéaxanthine	Brocolis, épinards, chou vert, maïs, poivron rouge, pois verts, navet, etc.
	Acides phénoliques	Café, fruits
Polyphénols	Flavonoïdes	Chocolat, légumes (persil, chou, laitue, poireau), fruits (orange, cerise, murs, myrtilles, etc.)
	Tanins	Lentilles, thé, et le raisin

2^{ème} partie :

Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel végétal

Le gingembre (*Zingiber officinale*) a été acheté dans un marché à Constantine. Le rhizome a été nettoyé puis découpé en fine lamelles et séchés dans une étuve à 40 °C pendant 10 jours (**figure 8**). Les lamelles sont alors broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une fine poudre.



Figure 8 : Aspect du *gingembre* après séchage

I.2. Matériel du laboratoire et produits chimiques

I.2.1. Matériel

- Balance analytique « OHAUS TM ».
- Bain à ultrasons « VIBRA CELL TM ».
- pH-metre « METTLER TOLEDO TM ».
- Vortex « ZX3 VELP SCIENTIFICA ».
- Agitateurs chauffants « FISCHER Scientifique ISOTEMP TM ».
- Lecteur microplaque (Perkin Elmer)
- Hotte chimique
- Hotte biologique

I.2.2. Solvants et produits chimiques

Les différents solvants, réactifs, et produits utilisés pour la partie pratique sont listés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Solvants et les réactifs utilisés dans la partie expérimentale

Produit	Nature	Manipulation
Chloroforme	CHCl ₃	
Acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂	Solvants pour Extraction et la chromatographie en couche mince (CCM)
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	
Ether de pétrole	C ₆ H ₁₄	
Méthanol	CH ₃ OH	
Toluène	C ₆ H ₅ CH ₃	
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	C ₂ H ₆ OS	
Folin-Ciocalteu	H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ /H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀	
Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	
Hydroxyde de sodium	NaOH	Dosages
Chlorure d'aluminium hexa-hydraté	AlCl ₃ , 6H ₂ O	
Nitrite de sodium	NaNO ₂	
1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	
Acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)	C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄	
Persulfate de sodium	Na ₂ S ₂ O ₈	
Ferrocyanure de Potassium	K ₃ Fe(CN) ₆	
Acide trichloracétique (TCA)	C ₂ HCl ₃ O ₂	
Nitrate d'argent	AgNO ₃	
Nitrate trisodique	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	Activité antioxydante
1,10-Phénanthroline	C ₁₂ H ₈ N ₂	
Chlorure ferrique	FeCl ₃	
Trolox	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	
Acide ascorbique	C ₆ H ₈ O ₆	
Albumine de sérum bovin (ou Bovine sérum albumine) (BSA)	/	Activité antiinflammatoire
Trisaminométhane (ou Tris)	C ₄ H ₁₁ NO ₃	
Acide hydrochlorique	HCl	
Agar	(C ₁₂ H ₁₈ O ₉) _x	Activité fongique
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	

I.3. Extraction

La préparation des extraits organiques a été effectuée par macération dont la procédure consistait à mélanger 10 g de la poudre avec 100 ml de solvant organique (chloroforme, acétate d'éthyle, et éthanol) avec agitation pendant 1h à température ambiante. Le mélange obtenu est ensuite filtré à travers le papier wattman pour séparer la solution obtenir une solution. La procédure est répétée trois fois en ajoutant 100 ml sur le marc. Après filtration les trois filtrats sont rassemblés et séchés par un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant et obtenir un résidu sec qui sera utilisé pour les autres tests. L'extrait aqueux par contre est préparé par la méthode de décoction qui consiste à extraire 10 g de poudre avec 300 ml d'eau bouillante pendant 15 min. L'élimination de l'eau a été effectuée par lyophilisation pour obtenir un résidu sec.

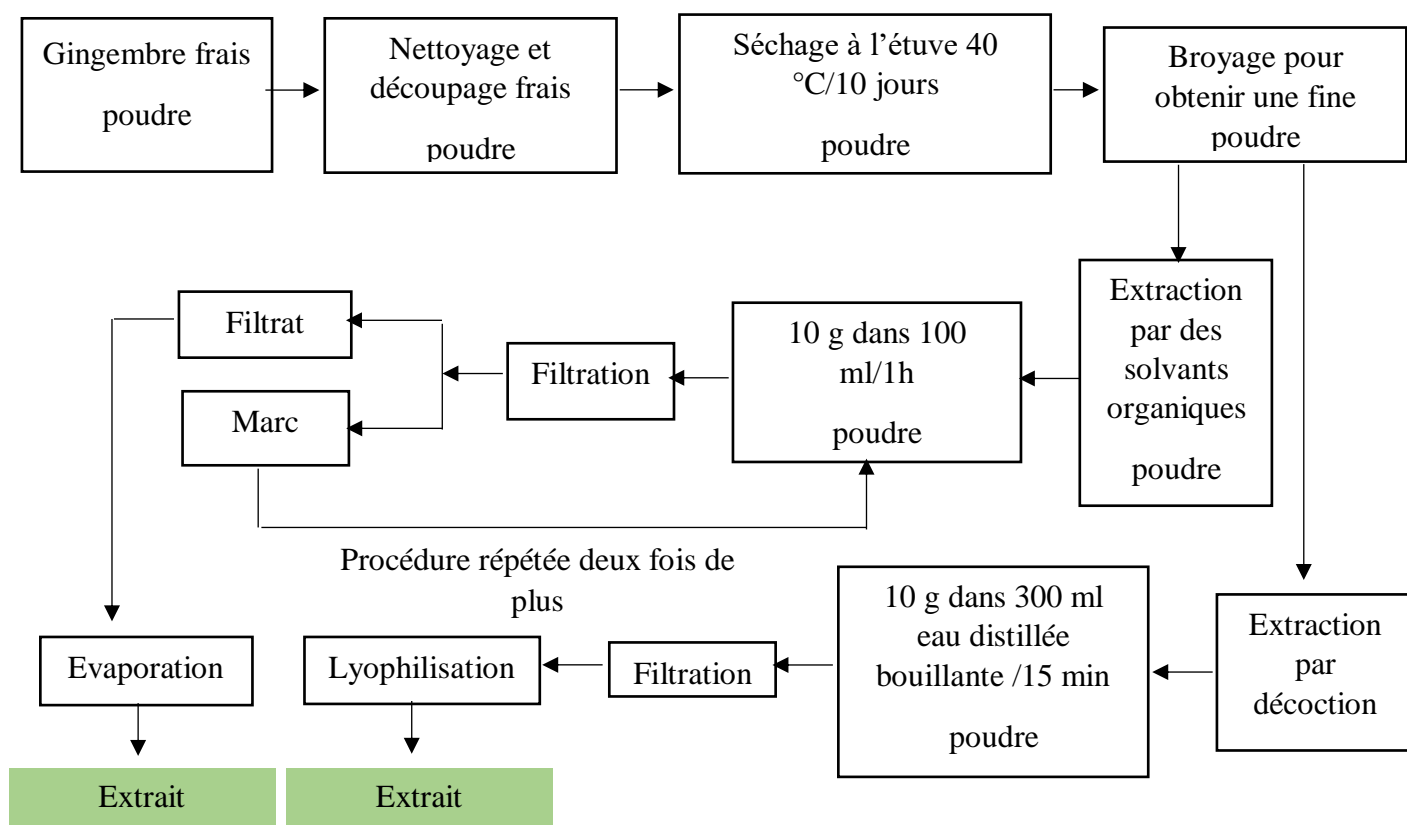


Figure 9 : Etapes de la préparation des extraits à partir de la poudre séchée du gingembre.

I.4. Etude de la composition chimique

I.4.1. Détermination des teneurs en polyphénols

I.4.1.1 Dosage des polyphénols totaux

I.4.1.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3W_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). En milieu alcalin les polyphénols vont réduire le réactif de Folin-Ciocalteu donnant un complexe d'oxydes de tungstène ($W_{80}O_{23}$) et de molybdène ($M_{80}O_{23}$) de couleur bleutée proportionnelle à la teneur en polyphénols présents dont le maximum d'absorption se situe aux environs de 750-765nm (**Sonago, 2006**).

I.4.1.1.2. Mode opératoire

La détermination de la teneur en polyphénols totaux a été conduite utilisant la méthode décrite par **Müller et al., (2010)**. Un volume de 20 μ l de chaque extrait (1mg /ml) est mélangé dans une microplaque avec 100 μ l de Folin-Ciocalteu (dilué dans l'eau distillée 1: 9, v/v) et 75 μ l de carbonate de sodium (7,5 %). La réaction est laissée pour 2h dans l'obscurité et à température ambiante puis l'absorbance de la couleur bleue est lue par le moyen d'un lecteur microplaque à 765 nm. A partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**figure 10**), les teneurs en polyphénols sont déterminées et sont exprimées en μ g équivalent acide gallique par mg d'extrait (μ g EAG/mg).

I.4.1.2. Dosage des flavonoïdes

I.4.1.2.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode de $NaNO_2$ - $AlCl_3$ - $NaOH$ basés sur la formation d'un complexe jaune avec un maximum d'absorbance à 415 nm.

I.4.1.2.2. Protocole

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été quantifiées par la méthode décrite par (**Sun et al., 2019**). Les extraits sont préparés à une concentration de 1 mg/ml. Dans une microplaque 96-puits, 50 μ l de l'échantillon ont été mélangés avec 20 μ l de $NaNO_2$ (5 %), 20 μ l de $AlCl_3$ (10 %), et 100 μ l de $NaOH$ (1M). La réaction est laissée pendant 40 min à température ambiante et l'absorbance a été lue à 415 nm utilisant un lecteur microplaque. Une

courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle avec la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en μg équivalent quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$) calculés à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage (**figure 10 B**).

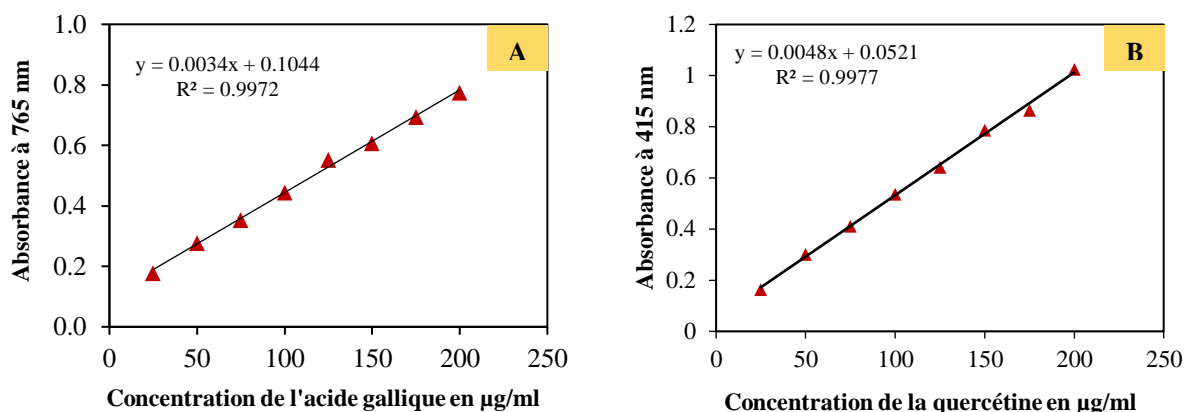


Figure 10 : Courbes d'étalonnage utilisées pour la détermination des teneurs en polyphénols totaux (A) et des flavonoïdes (B)

I.4.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est réalisée dans le but de déterminer le profil chimique de chaque extrait on se basant sur les propriétés de migration de chaque composé ou d'un groupe de composés selon leur polarité et solubilité dans le système de solvant utilisé (**figure 11**).

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des plaques d'aluminium (marque). Trois systèmes de solvants de séparation ont été utilisés incluant le chloroforme (Chloroforme 100 % et chloroforme 95 %), éther de pétrole (100 % et 95 %), et toluène : acétate d'éthyle : méthanol 5 :3 : 2.

Les extraits ont été dissous dans le méthanol et une quantité a été déposée à l'aide d'une micropipette pasteur sur une ligne de base tracée sur la limite inférieure de la plaque. La plaque est ensuite placée dans une cuve CCM contenant un volume de 10 ml de chaque système. Après migration du solvant jusqu'à la limite supérieure de la plaque, celle est enlevée et séchée puis placée dans un révélateur ultraviolet pour visualiser les bandes à 254 et 635 nm. La séparation sur CCM est basée sur la polarité des composés et a polarité du système utilisé.

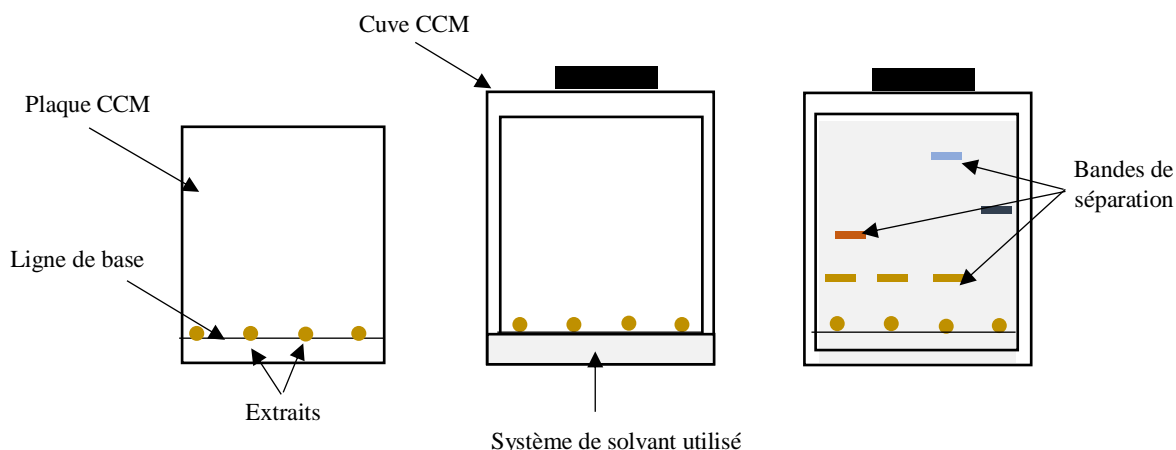


Figure 11 : Principe de la séparation sur chromatographie sur couche mince

I.5. Evaluation des activités biologiques

I.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

I.5.1. Piégeage du radical DPPH

I.5.1.1. Principe

En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène ou d'électrons (AH), la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH (forme radicalaire) de couleur violette et avec un maximum d'absorbance à 517 nm, aura lieu pour former la forme réduite DPPH-H (non radicalaire) entraine une transition de couleur violette en couleur jaune (**figure 12**). L'absorbance de couleur violette résiduelle après la réduction a donc été mesuré à 517nm. La vitesse de virage de la couleur est proportionnelle à la force du donneur d'hydrogène indiquant le pouvoir antioxydant de ce dernier (**Belmokhtar et Harche, 2014**).

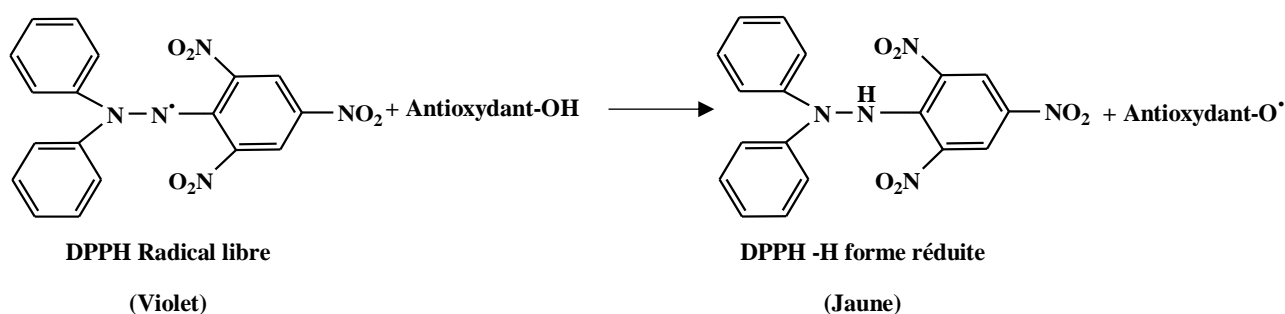


Figure 12 : Mécanisme réactionnel intervenant lors de la réduction du radical DPPH

(Djahra, 2014).

I.5.1. 2. Protocole

La mesure de l'activité anti-radicalaire utilisant le DPPH comme radical a été évaluée selon la méthode de **Blois (1958)**. La méthode consiste à ajouter 160 µl de solution DPPH (1mM, préparé dans le méthanol) à un volume de 40 µl de chaque concentration des échantillons préalablement distribuées dans une microplaque à 96 puits. En parallèle, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 40 µl du méthanol avec 160 µl de solution DPPH. La mesure de l'absorbance à 517 nm après une demi-heure d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante a été réalisée avec un lecteur microplaque. Le pouvoir antioxydant des échantillons a été exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle} \times 100 \quad (1)$$

Où :

A échantillon : Absorbance de l'échantillon.

A contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

La concentration inhibitrice à 50 % (CI₅₀) a été déterminée à partir de l'équation de la courbe de régression obtenue par les pourcentages d'inhibition à différentes concentrations.

I.5.2. Activité antiradicalaire de l'ABTS

I.5.2.1. Principe

L'activité antiradicalaire contre le radical ABTS est basée sur la réduction de la solution du cation ABTS^{•+} radicale libre de couleur bleue en solution contenant l'ABTS non-radicalaire (réduite) sans couleur (**figure 13**).

I.5.2.2. Protocole

La mesure de la capacité des extraits de *H. articulatum* à réduire l'ABTS^{•+} a été effectuée selon la méthode de (**Re et al., 1999**) La solution de l'ABTS radicalaire (ABTS^{•+}) est préparée au préalable en faisant réagir 2mM de l'ABTS avec 2,45mM de persulfate de sodium (v : v) pendant 16 h à l'obscurité et à température ambiante. Une solution concentrée est obtenue à partir de laquelle une solution diluée avec une absorbance de 0.7 à 734 nm est préparée. Par la suite, dans une microplaque 96 puits, 40 µl de chaque extrait a diverses concentrations ont été déposés auxquels on ajoute 160 µl de la solution de ABTS^{•+}. Une incubation de 10 min à

l'obscurité et à la température ambiante est réalisée suivie par la lecture de l'absorbance à 734 nm. Utilisant l'équation (1) précédente, les pourcentages d'inhibition ont été calculés.

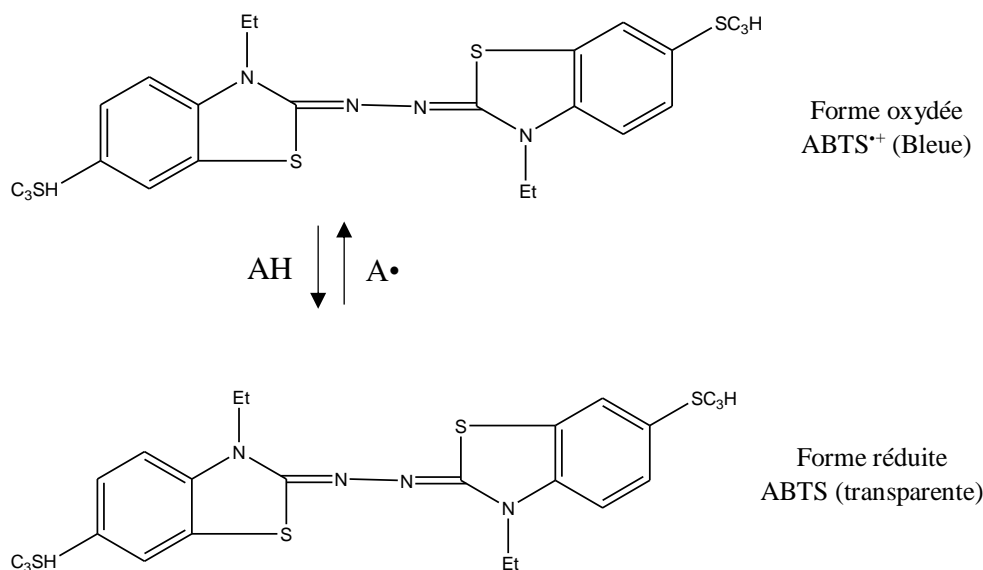


Figure 13 : Structure chimique de la forme oxydée et réduite du l'ABTS (ABTS^{•+}/ ABTS) (Schaich *et al.*, 2015).

I.5.3. Pouvoir réducteur

I.5.3.1. Principe

La capacité réductrice des ions du fer consiste à réduire le fer ferrique dans le complexe ferrocyanure ($\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$) en fer ferreux ($\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$) avec le développement d'une couleur bleu-verte avec une longueur d'onde d'absorption maximale de 700 nm (Hsu *et al.*, 2006).

I.5.3.2. Méthode

La méthode rapportée par (Saci *et al.*, 2019) est utilisée dans le but est la détection la présence du pouvoir réducteur et sa capacité réductrice. Le protocole consiste à faire réagir 10 μl de chaque extrait a différentes concentrations avec 40 μl du tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6), et 50 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. La plaque est ensuite incubée pour 20 min à 50 °C. Par la suite, 50 μl de l'acide trichloracétique (10%), 40 μl d'eau distillée, et 10 μl d'une solution FeCl_3 (0,1%) ont été ajoutés et la lecture de l'absorbance à 700 nm est prise après une agitation rigoureuse de la plaque. La capacité réductrice des ions du fer des échantillons est exprimée en termes d'absorbances. La courbe de régression tracée

par les absorbances des différentes concentrations nous a permis à déterminer la concentration donnant une absorbance 0,5 ($A_{0,5}$).

I.5.4. Réduction du fer par la méthode de phénanthroline

I.5.4.1. Principe

La méthode est basée sur la réduction des ions de fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe 1, 10-phenanthroline-Fe (III) par les antioxydants vers le fer ferreux pour donner le complexe phénanthroline-Fe (II) de couleur rouge dont l'absorbance est mesurée à 510 nm (**Szydłowska-czerniak et al., 2008**).

I.5.4.2. Mode opératoire

La méthode de **Szydłowska-czerniak (2008)** est utilisée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique dans le complexe phénanthroline-Fe (III). Dans une microplaque 96 puits, 10 μ l d'extrait, 50 μ l $FeCl_3$, (0,2%), 30 μ l phénanthroline (0,5%), et 110 μ l méthanol sont mélangés. La réaction est laissée pour 20 min à température ambiante et l'absorbance est ensuite mesurée à 510 nm. Les résultats sont rapportés sous forme d'absorbances. Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards.

I.5.5. Réduction des ions argent (Ag^+)

I.5.5.1. Principe

Cette méthode est basée sur la réduction des ions Ag^+ en Ag^0 à la surface de particules d'argent mono-disperse préalablement formées et stabilisées par l'utilisation d'un agent réducteur faible (Citrates trisodique) ce qui conduit à la formation d'une couche superficielle qui par conséquent entraîne l'augmentation de la taille des nanoparticules visualisée par l'augmentation de l'absorbance à 423 nm qui est proportionnelle au taux de la réduction (**Özyürek et al., 2012**).

I.5.5.2. Mode opératoire

La capacité antioxydante basée sur la réduction des ions Ag⁺ est mesurée selon la méthode de **Özyürek et al., (2012)** Une solution colloïdale de nanoparticules de l'argent a été préparée en mélangeant 50 ml de AgNO₃ (1 mM) chauffé pendant 10 min, avec 5 ml du citrate trisodique (1 %) qui est ajouté goutte à goutte jusqu'à obtenir une solution jaunâtre pâle. Après refroidissement, 20 µl de chaque extrait à différentes concentrations ont été additionnés de 130 µl de la solution précédente, et 50 µl d'eau distillée puis incubée à 25 °C pendant 30 min et l'absorbance résultante est lue à 423 nm à l'aide d'un lecteur microplaque. Les résultats sont exprimés en termes d'absorbances à différentes concentrations et la valeur A_{0.5} a été calculée à partir de la courbe de régression.

I.5.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

L'activité antiinflammatoire a été réalisée par la méthode de la dénaturation de la protéine BSA sous l'effet de la chaleur selon le protocole décrit par **Bakhouche et al., (2021)** avec quelques modifications. Brièvement, une solution de BSA à 0,5 % a été préparée dans un tampon tris-HCl pH 6,6. Un volume de 350 µl des extraits préparés dans un mélange DMSO/Eau distillée (20 %) sont mélangés avec 350 µl de la solution BSA. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C/15 min pour permettre l'interaction entre les extraits et la protéine. Une deuxième incubation à 72 °C/5min a été ensuite effectuée pour provoquer la dénaturation de la protéine. Après refroidissement des solutions, une lecture est effectuée à 660 nm. Un contrôle est réalisé en parallèle en remplaçant l'extrait avec le solvant (DMSO 20 %). Les résultats sont rapportés en termes de pourcentages d'inhibition calculés selon la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_C - A_E) / A_C * 100$$

Où :

A_C est l'absorbance du contrôle à 660 nm

A_E est l'absorbance du mélange échantillon/BSA à 660 nm

I.5.3. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle, et éthanol a été évaluée sur la souche *Fusarium oxysporum* f. sp lycopersici (FOL) qui est l'agent causatif de flétrissement des feuilles de la tomate.

I.5.3.1. Préparation du milieu PDA (Potato dextrose agar) ou Gélose dextrosée à la pomme de terre

Le milieu PDA est utilisé pour réaliser le test antifongique. Il est préparé par faire bouillir 220 g de pomme de terre dans 900 ml de l'eau distillée pendant 15 min. Le filtrat obtenu est ensuite complété à 1100 ml par l'eau distillée auquel 22 g de glucose et 16,5 g d'agar ont été ajoutés sous agitation et chauffage jusqu'à obtenir une solution claire. La solution est ensuite autoclavée à 100 °C pendant 2h et demi.

I.5.3.2. Réalisation du test antifongique

Les extraits ont été préparés dans de DMSO à des concentrations de 100 mg, 50 mg, et 25 mg. Un volume de 1 ml de chaque concentration est mélangé avec 100 ml du milieu PDA après refroidissement (60 °C) dont les concentrations finales dans le volume final seront de 1, 0,5, et 0,25 mg, respectivement. Le milieu PDA contenant l'extrait est ensuite réparti sur 4 boîtes de Pétri stériles. Après solidification, un disque de la souche FOL a été aseptiquement déposé au milieu de chaque boîte. Les boîtes sont ensuite incubées à 25 °C pendant 6 jours. Un contrôle positif et un autre négatif ont été préparés en parallèle. Le contrôle positif consiste à déposer un disque de la souche sur un milieu contenant uniquement de DMSO alors que le contrôle négatif consiste à déposer un disque de la souche directement sur le milieu PDA ne contenant rien. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de mycélium de FOL et la comparer avec le contrôle positif pour calculer les pourcentages d'inhibitions comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{Cp} - \text{Ec}) / \text{Cp} * 100$$

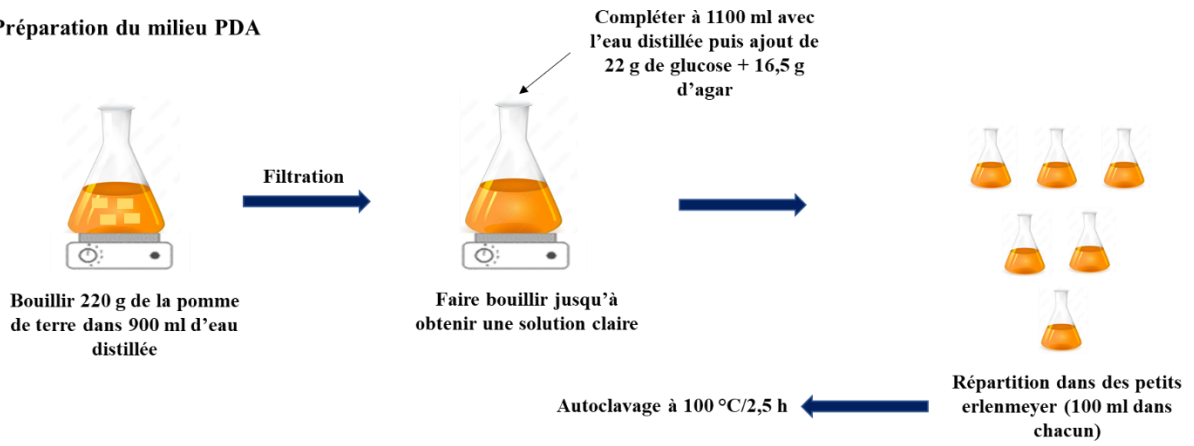
Où :

Cp est le diamètre du mycélium dans le contrôle positif

Ec est le diamètre du mycélium dans les boîtes contenant les extraits

La **figure 14** montre les différentes étapes de la réalisation de l'activité antifongique.

A. Préparation du milieu PDA



B. Réalisation du test

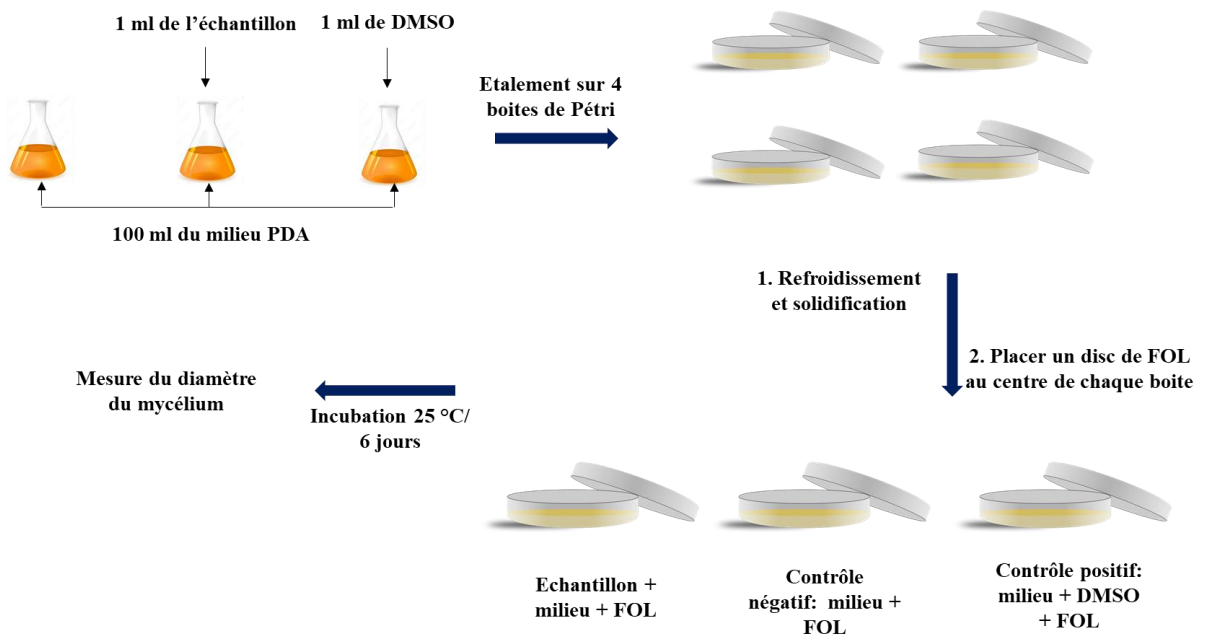


Figure 14 : Schématisation du protocole de l'activité antifongique.

Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Analyse phytochimique

II.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction réfère à la quantité de l'extrait obtenue à partir d'une quantité précise de la poudre après extraction. Dans le présent travail, différents solvants de différentes polarités ont été utilisés pour extraire les composés actifs du gingembre. D'après la **figure 15**, le rendement d'extraction augmente avec la polarité du solvant. Dans ce contexte, l'extraction avec l'eau a conduit au rendement le plus élevé avec une valeur de 24,7 % suivi par l'éthanol (8,5 %), par contre des valeurs proches (4,4 et 4,5 %) ont été obtenues pour les extraits acétate d'éthyle et chloroforme, respectivement. En effet le type du solvant détermine le type des composés extraits à partir du matériel végétal qui repose essentiellement sur la solubilité de ses composés dans le solvant.

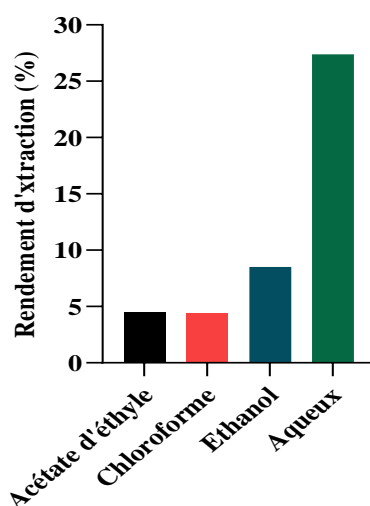


Figure 15 : Rendements d'extraction des rhizomes de *Z. officinale*

II.1.2. Teneurs en composés phénoliques

La quantification des polyphénols dans les extraits végétaux est essentielle vu leurs nombreuses propriétés pharmacologiques et leur importance dans la bio-activité de ces extraits. Les résultats de dosage de ces composés montrent que la teneur la plus élevée a été observée dans l'extrait chloroforme avec une valeur de $213,61 \pm 4,42$ μg EAG/mg d'extrait, suivi par les extraits éthanol et acétate d'éthyle avec des teneurs de $187,14 \pm 5,47$ et $136,94 \pm 4,08$ μg EAG/mg d'extrait, respectivement, alors qu'une faible valeur a été obtenue avec l'extrait aqueux ($32,53 \pm 4,73$ μg EAG/mg) (**figure 16 A**).

Les flavonoïdes constituent une classe de polyphénols caractérisés par un très grand nombre de propriétés biologiques et bénéfiques pour la santé humaine. Comme pour les polyphénols, les teneurs les plus élevées des flavonoïdes ont été obtenues avec les extraits éthanol et chloroforme avec des valeurs similaires et statistiquement non différentes ($p < 0,05$) ($108,1 \pm 4,1$ et $98,94 \pm 5,77$ $\mu\text{g QE/mg}$, respectivement) suivis par l'extrait acétate d'éthyle ($54,14 \pm 6,5$ $\mu\text{g QE/mg}$), par contre une très faible teneur a été enregistrée avec l'extrait aqueux ($2,06 \pm 0,36$ $\mu\text{g QE/mg}$) (**figure 16 B**).

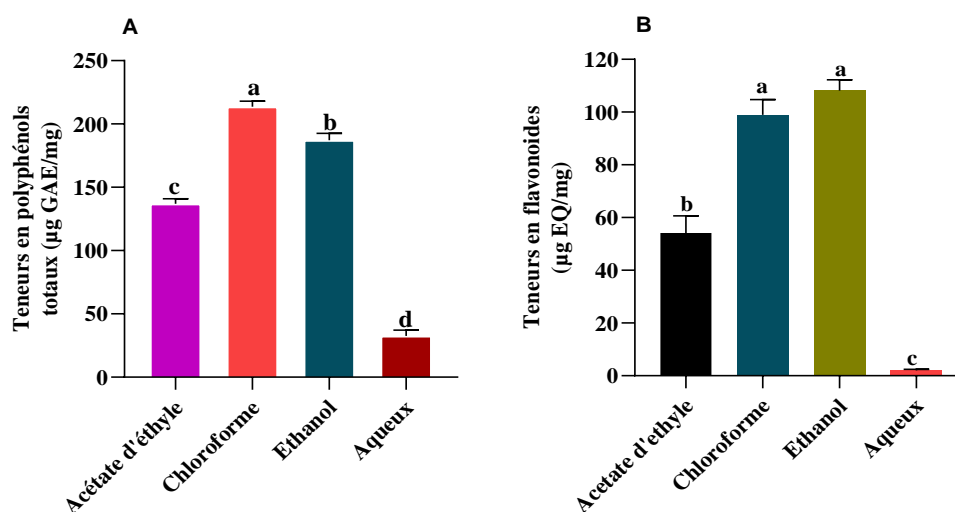


Figure 16 : Teneur en polyphénols totaux (A) et en flavonoïdes (B) des différents extraits de *Z. officinale*. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des valeurs statistiquement différentes ($p < 0,05$).

La quantité des polyphénols dans les extraits dépend fortement du type du solvant utilisé de façon. Généralement les polyphénols ont tendance à être solubles dans les solvants organique polaires comme le méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle etc. ou des mélanges de ses solvants avec l'eau. Dans le présent travail, le chloroforme a eu la teneur la plus élevée qui pourrait être expliquée par la nature des polyphénols du gingembre de nature plutôt apolaire. **Ghasemzadeh et al., (2010)** ont montré l'influence du solvant d'extraction sur les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes de deux variétés de gingembre. Une faible variation entre les teneurs a été constatée en utilisant le méthanol, acétone, et acétate d'éthyle comme solvants avec la valeur la plus élevée obtenue avec le méthanol. Une étude récente par **Ezez et Tefera, (2021)** ont également rapporté une variation des teneurs en polyphénols avec la variation du

solvant d'extraction. Dans leur travail, le méthanol a eu la teneur la plus élevée en comparaison avec l'acétate d'éthyle, l'éthanol, et l'acétone.

II.1.3. Analyse CCM

L'analyse CCM des quatre extraits utilisant les différents systèmes a montré la présence de plusieurs bandes pour les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol, tandis qu'aucune migration n'a été constatée pour l'extrait aqueux (**figure 17**). Une migration a été déjà observée lors de l'utilisation de chloroforme 100%. Au contraire, l'utilisation de l'éther de pétrole 100 % n'a pas induit la migration des composés mais une faible migration a été observée lorsque le système éther de pétrole 95 % (Ether de pétrole : méthanol 95 : 5, v : v) a été utilisé. Ces résultats indiquent que les composés présents dans ces extraits sont de natures apolaires solubles dans le chloroforme mais pas dans l'éther de pétrole. Le nombre des bandes augmente avec l'augmentation de la polarité du système utilisé (chloroforme : méthanol 95 : 5). Dans tous les systèmes utilisés, une bande très claire est détectée dans le profil de ces trois extraits qui est très claire après révélation à 365 nm.

Cette bande pourrait correspondre aux composés majoritaires du gingembre qui sont les gingérols. En effet, des quantités de 17,22 % dans l'extrait acétate d'éthyle, 15,58 % dans l'extrait hexane, et de 4,41 % dans l'extrait méthanol ont été estimées par HPLC tandis que ces composés sont absents dans l'extrait méthanol 70% et l'extrait aqueux. D'autre part, les shoagols considérés également comme les composés actifs du gingembre ont été détectés à de faibles pourcentages (hexane (0,52 %), acétate d'éthyle (0,72 %), méthanol (1,85 %)) et absents dans les extraits hydro-méthanolique et aqueux (**Priya Rani et al., 2011**).

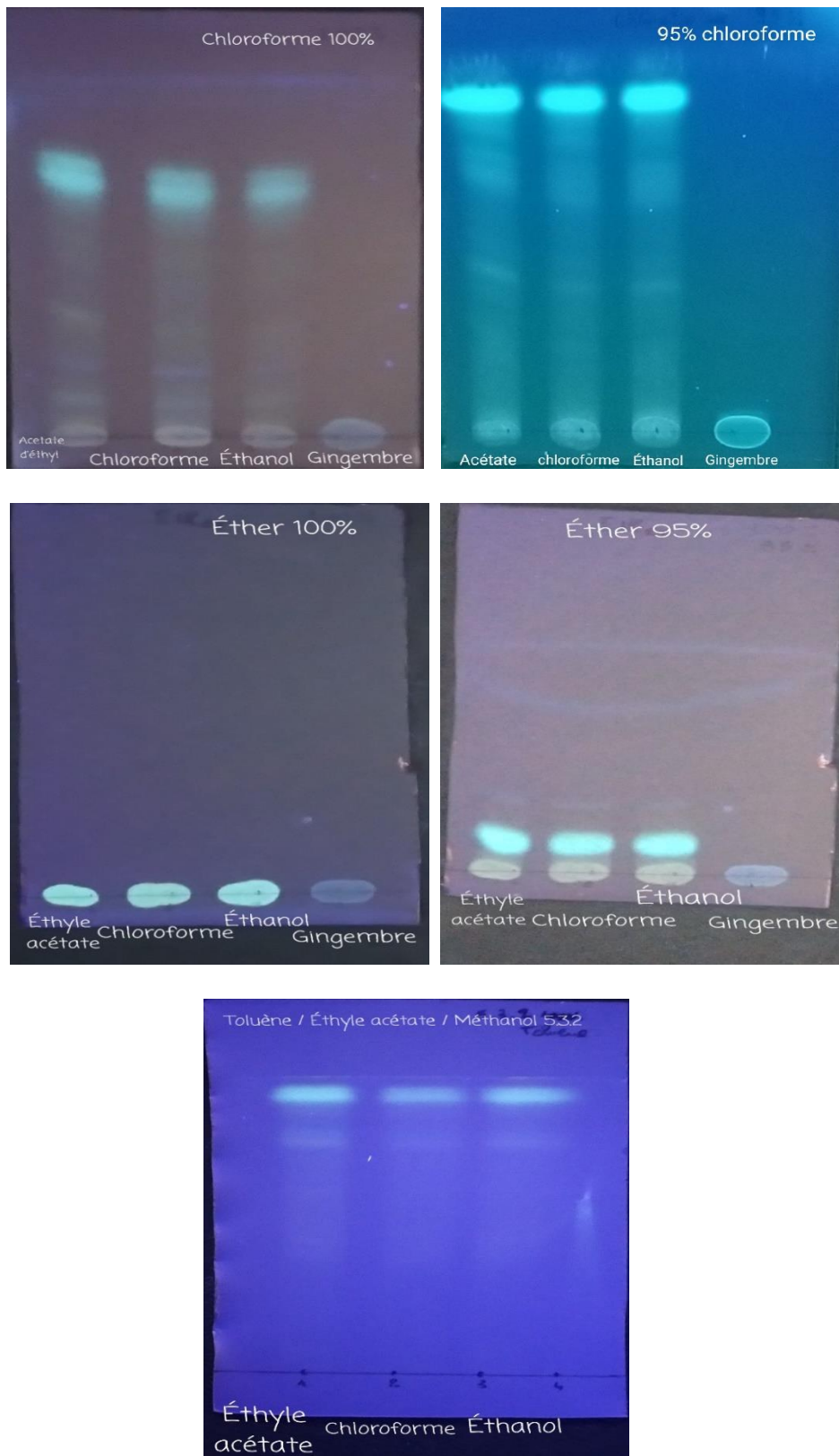


Figure 17 : Aspect des plaques CCM des différents systèmes de migration après révélation à 365 nm.

II.4. Effets biologiques**II.4.1. Effet antioxydant**

Parmi les effets biologiques des extraits de plantes et plus particulièrement des polyphénols, l'effet antioxydant figure parmi les effets les plus étudiés. Dans ce travail plusieurs méthodes ont été utilisées pour prendre en considération la complexité de la composition des extraits et la nature des composés présents dans chaque extrait pouvant exercer leur effet antioxydant via différents mécanismes.

II.4.1.1. Effet antiradicalaire

L'effet anti-radicalaire d'un antioxydant est lié à la neutralisation des radicaux libres dans les systèmes biologiques ou *in vitro* en donnant un électron et/ou un atome hydrogène pour former des composés non réactifs. L'effet anti-radicalaire du *Z. officinale* a été déterminé par l'utilisation du radical DPPH et ABTS.

La neutralisation du radical DPPH des extraits utilisant différentes concentrations est présentée dans **la figure 18**. Comme constaté, l'effet est trouvé dose-dépendant (l'inhibition du radical augmente avec la concentration de l'extrait). En comparant entre les extraits, l'acétate d'éthyle montre l'effet le plus prononcé suivi par les extraits chloroforme et éthanol. L'extrait aqueux a montré un effet inhibiteur faible à des concentrations plus fortes (12,5 à 800 µg/ml) (**figure 18 A₁**) que celles utilisés pour les autres extraits (1,5-100 µg/ml) (**figure 18 A₂**). Pour une comparaison plus précise, le paramètre CI_{50} a été déterminé (**figure 18 B**). Plus la valeur est faible plus l'effet fort. Dans ce contexte, l'extrait acétate d'éthyle a eu la valeur CI_{50} la plus faible ($15,77 \pm 0,63$ µg/ml) suivi par les extraits chloroforme et éthanol ($21,13 \pm 1,07$ et $22,67 \pm 0,86$ µg/ml, respectivement), et finalement l'extrait aqueux a eu la valeur la plus élevée ($187,74 \pm 3,29$ µg/ml).

En outre, les trois extraits organiques ont un effet très fort en comparaison avec celui montré par le trolox et l'acide ascorbique qui ont neutralisé le radical avec des valeurs CI_{50} de $5,12 \pm 0,21$ et $4,39 \pm 0,01$ µg/ml, respectivement.

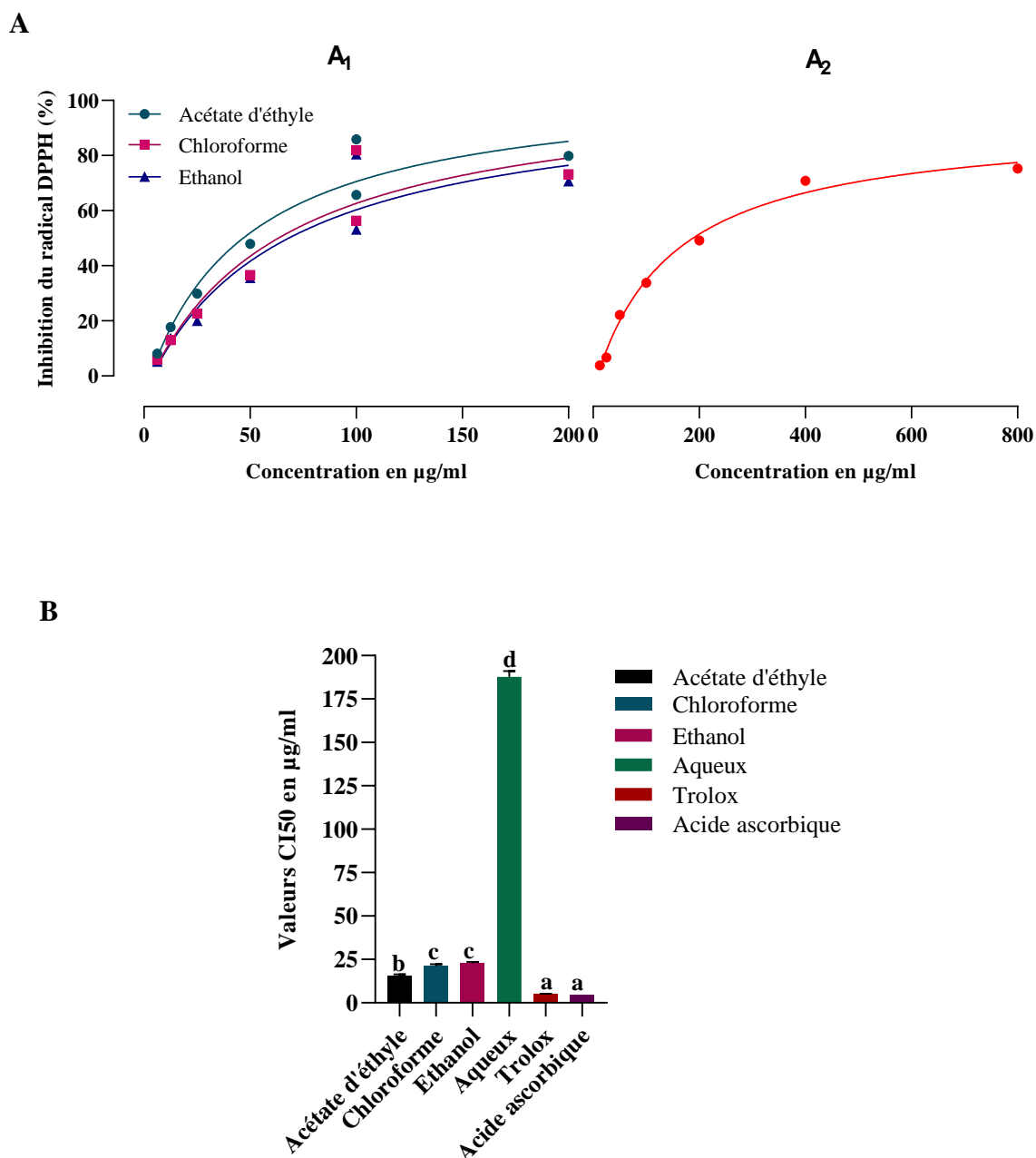


Figure 18 : Courbes d'inhibition du radical DPPH (A) et les valeurs CI₅₀ des différents extraits et standards (B). A₁ correspond aux courbes d'inhibition de DPPH par les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol, A₂ correspond à la courbe d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux. Les lettres a-d correspondent à l'analyse statistique des valeurs (les colonnes avec différentes lettres sont significativement différentes, p<0.05).

Pour le radical ABTS, les extraits chloroforme, acétate d'éthyle, et éthanol ont eu les inhibitions les plus fortes, par contre l'extrait aqueux a eu l'effet le plus faible (**figure 19 A₁** et **19 A₂**, respectivement). Les valeurs CI₅₀ ont été calculées et présentées dans la **figure 19 B**. Comme montré, les extraits éthanol et chloroforme ont eu les valeurs les plus faibles ($4,06 \pm 0,12$ et $4,53 \pm 0,36$ µg/ml, respectivement). Ces deux extraits ont exercé un effet similaire

(statistiquement non différent, $p > 0,05$) que celui de trolox et de l'acide ascorbique utilisés comme standards ($CI_{50}=3.21\pm0.06$ et 3.04 ± 0.05 $\mu\text{g/ml}$, respectivement). L'extrait acétate d'éthyle a également exercé une activité très forte avec une valeur CI_{50} de $8,53\pm0,62$ $\mu\text{g/ml}$ mais statistiquement différentes des standards ($p < 0,05$) et des deux autres extraits organiques, par contre une valeur CI_{50} élevée a été enregistrée avec l'extrait aqueux ($161,51\pm4,12$ $\mu\text{g/ml}$).

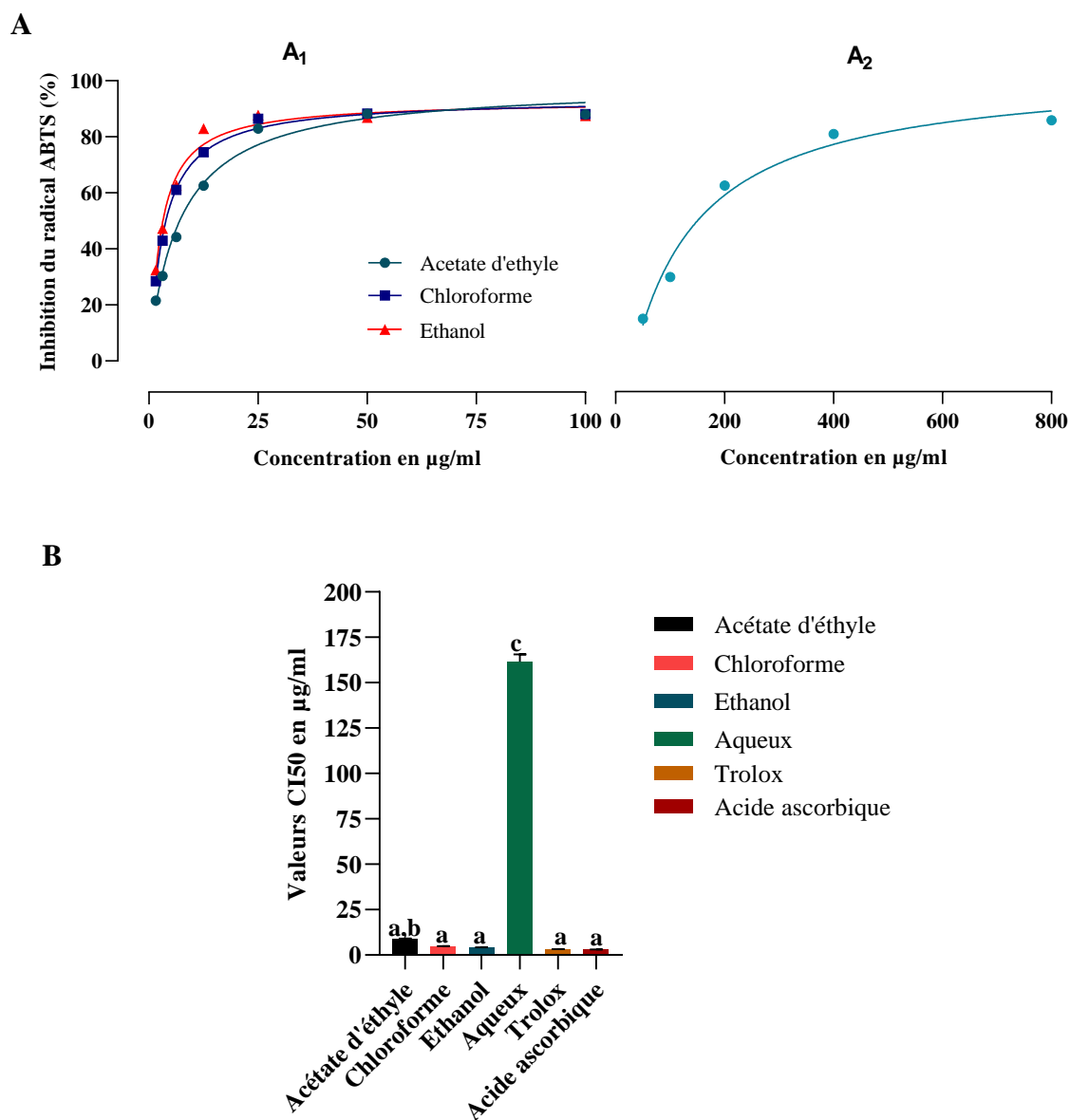


Figure 19 : Courbes d'inhibition du radical ABTS (A) et les valeurs CI_{50} des différents extraits et standards (B). A₁ correspond aux courbes d'inhibition de DPPH par les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol, A₂ correspond à la courbe d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux.

II.4.1.2. Capacité réductrice

Parmi les mécanismes exercés par les antioxydants est leur pouvoir à réduire d'autres antioxydants ayant subis une oxydation lors de leur action. Ce mécanisme est souvent observé dans le système α -tocophérol/vitamine C. La capacité réductrice des extraits du gingembre a été évaluée par la réduction de certains métaux comme le fer (Fe^{3+}) et Ag^{2+} .

La réduction des ions du fer a été premièrement évaluée dans le système ferrocyanure de fer ($\text{Fe}^{3+} (\text{CN})_6$) en milieu acide dont sa réduction conduit à la formation du complexe ($\text{Fe}^{2+} (\text{CN})_6$) de couleur bleue. Le pouvoir réducteur des extraits rapporté en termes d'absorbance est dose-dépendant comme montré dans la **figure 20 A** dont l'absorbance à 700 nm augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait (3,125-200 $\mu\text{g/ml}$). Les extraits Acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol ont eu les effets les plus forts avec des absorbances > 1 par rapport à l'extrait aqueux qui a eu des absorbances très faibles ($< 0,5$). Les valeurs $A_{0,5}$ sont rapportées dans la **figure 20 B**. L'extrait acétate d'éthyle a eu la valeur la plus faible ($11,74 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$), suivi par l'extrait chloroforme ($15,86 \pm 1,10 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait éthanol ($33,92 \pm 1,17 \mu\text{g/ml}$). Les deux extraits acétate d'éthyle et chloroforme ont eu un effet proche de celui des standards trolox et acide ascorbique ($A_{0,5} = 5,25 \pm 0,20$ et $3,62 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Par contre l'extrait dont les absorbances sont $< 0,05$ aura une $A_{0,5} > 200 \mu\text{g/ml}$).

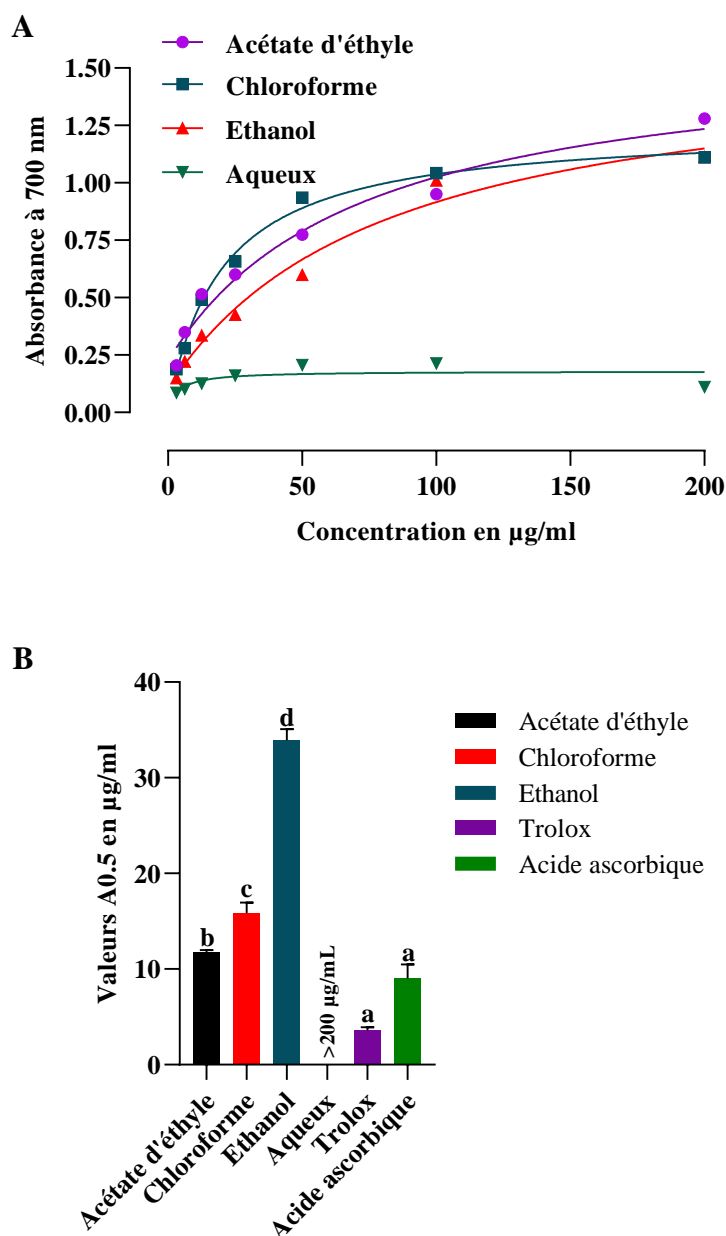


Figure 20 : Pouvoir réducteur des extraits de *Z. officinale*. Les valeurs d'absorbance à différentes concentrations (3,125-200 µg/ml) (A) et les valeurs A_{0,5} (µg/ml) des extraits et des standards BHA et acide ascorbique (B)

La réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) a été également estimée par la méthode de phénanthroline. La réduction des ions Fe^{3+} complexés au phénanthroline conduit à la formation d'un complexe rouge dont l'absorbance est fonction de degré de la réduction (transfert d'électrons) par les extraits. Les résultats sont rapportés en termes d'absorbance à différentes concentrations et de valeurs A_{0,5} (figure 21).

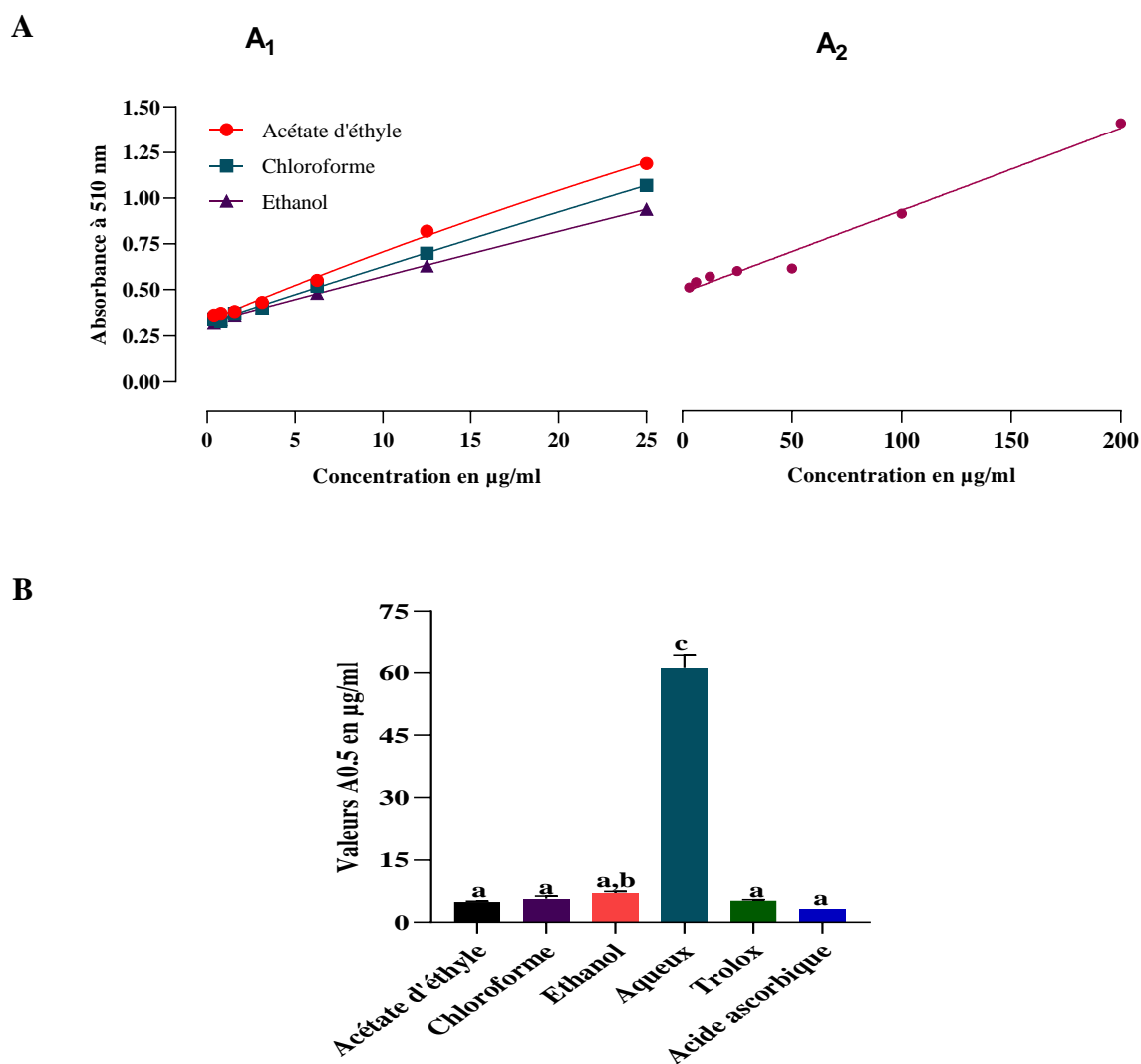


Figure 21 : Réduction du fer par la méthode de phénanthroline des extraits de *Z. officinale*. (A) : les valeurs d'absorbance à différentes concentrations des extraits ; A₁ sont les résultats obtenus avec les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol à différentes concentrations (0,39-25 µg/ml), A₂ représente les absorbances de l'extrait aqueux à différentes concentrations (3,125-200 µg/ml). (B) représente les valeurs A_{0.5} (µg/ml) des extraits et des standards BHA et acide ascorbique.

Comme constaté les extraits obtenus utilisant les solvants organiques (acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol) ont eu un effet réducteur très remarquable avec des concentrations entre 0,39 à 25 µg/ml (**figure 21 A₁**) par contre des concentrations plus élevées (3,125 à 200 µg/ml) ont été utilisées pour l'extrait aqueux pour avoir un effet comparable à celui des autres extraits (**figure 21 A₂**). En termes des valeurs A_{0.5} (**figure 21 B**), les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol ont eu de très faibles valeurs par rapport à l'extrait aqueux avec une valeur élevée ($4,88 \pm 0,21$, $5,71 \pm 0,65$, $7,13 \pm 0,32$, et $61,24 \pm 3,23$ µg/ml, respectivement).

Dans ce contexte, les extraits peuvent être classés selon un ordre décroissant comme suit : acétate d'éthyle \approx Chloroforme \approx éthanol > aqueux dont le signe \approx indique que les valeurs ne présentent pas une différence significative ($p > 0,05$). D'autre part, les valeurs $A_{0,5}$ des extraits acétate d'éthyle et chloroforme ne présentent pas une différence significative avec les valeurs $A_{0,5}$ des standards trolox et acide ascorbique ($5,21 \pm 0,27$ et $3,08 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement) tandis que les valeurs $A_{0,5}$ des extraits éthanol et aqueux sont significativement différentes des valeurs $A_{0,5}$ des standards.

La réduction des ions d'argent (Ag^{2+}) a été également évaluée et les résultats sont représentés sous forme de courbes d'absorbances à différentes concentrations (**figure 22 A**). L'extrait acétate d'éthyle a eu la capacité la plus efficace à réduire ces ions par rapport aux autres extraits avec une absorbance maximale de $1,79 \pm 0,03$ à la concentration maximale (400 $\mu\text{g/ml}$). L'extrait chloroforme a eu aussi une absorbance importante à 400 $\mu\text{g/ml}$ qui est de $1,35 \pm 0,10$ suivi par l'extrait éthanol ($0,97 \pm 0,02$), tandis que des absorbances très faibles ont été enregistrées avec l'extrait aqueux dont le maximal est de 0,15 à 400 $\mu\text{g/ml}$.

Une valeur $A_{0,5}$ de $35,33 \pm 2,28$ $\mu\text{g/ml}$ a été obtenue avec l'extrait acétate d'éthyle qui est similaire à celle du trolox ($34,17 \pm 1,23$ $\mu\text{g/ml}$) mais relativement plus élevée que celle de l'acide ascorbique ($7,14 \pm 0,05$ $\mu\text{g/ml}$). D'autre part, les extraits chloroforme et éthanol ont eu des valeurs similaires $100,92 \pm 3,97$ et $109,76 \pm 8,26$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement alors que la valeur $A_{0,5}$ de l'extrait aqueux situera au-delà de la concentration maximale utilisée (> 400 $\mu\text{g/ml}$) (**figure 22 B**).

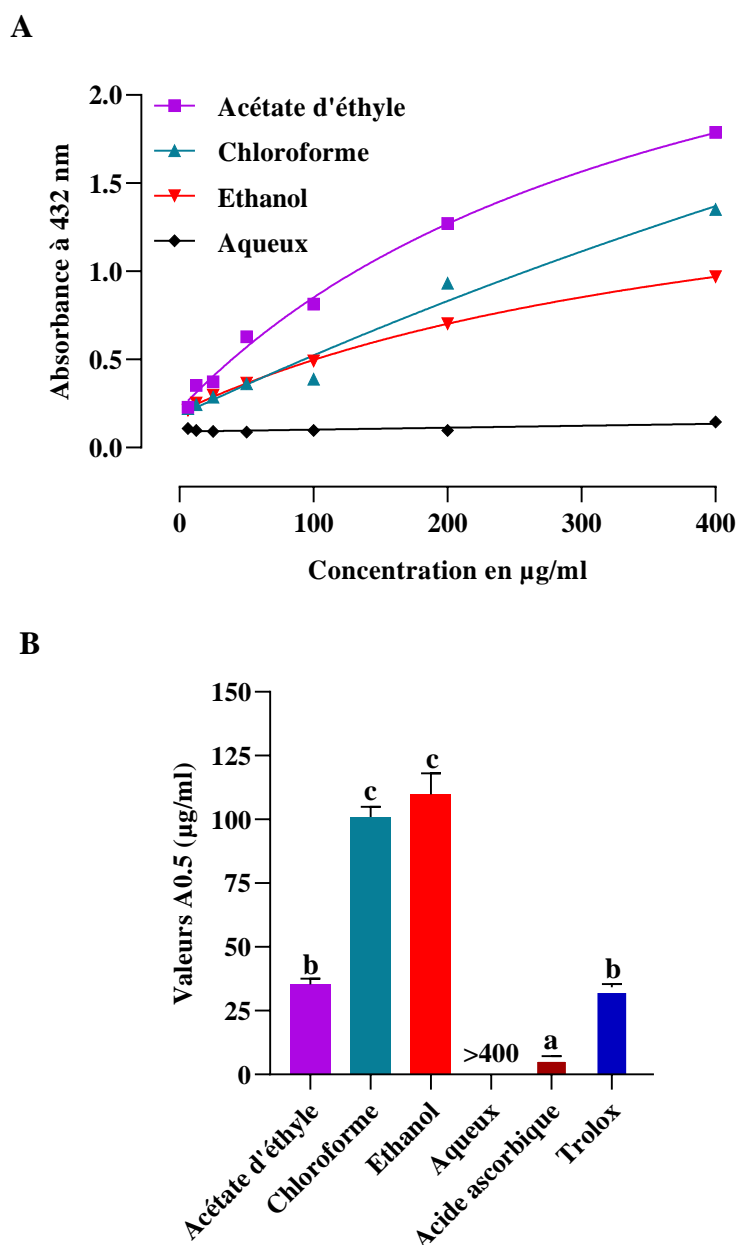


Figure 22 : Réduction des ions argent Ag^{2+} par les extraits de *Z. officinale*. Les absorbances à 432 nm obtenues à différentes concentrations (6,25-400 µg/ml) des extraits de *Z. officinale* (A) et les valeurs $A_{0.5}$ des extraits ainsi que les standards, acide ascorbique et Trolox (B).

L'effet antioxydant des extraits est généralement lié à la présence des polyphénols qui grâce à leur structure portant un ou plusieurs groupements hydroxyle ont la capacité de donner un électron et/ou un atome hydrogène (El Aanachi *et al.*, 2021). En effet plusieurs travaux précédents ont montré une forte corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydant des extraits de plante. Les résultats de présent travail sur l'activité antioxydant montrent que les extraits obtenus utilisant des solvants organiques ont eu l'effet le plus grand

en utilisant les différentes méthodes. Plus spécialement, l'extrait acétate d'éthyle est le plus souvent l'extrait qui est le plus actifs parmi les autres extraits malgré que les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes les plus élevées ont été enregistrées dans les extraits chloroforme et éthanol. Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que la capacité antioxydant ne dépend pas seulement de la quantité des polyphénols mais aussi de la qualité des composés présents dans l'extrait.

L'effet antioxydant du gingembre a été largement étudié et a été montré par plusieurs méthodes. **Peng *et al.*, (2012)** ont rapporté l'effet antioxydant des composés isolés du gingembre on se basant sur plusieurs méthodes. Le 10-gingérol ainsi que certains polyphénols appartenant de type diarylheptanoïdes et diarylheptanoïdes époxyde ont montré une forte inhibition sur le radical DPPH et l'inhibition de l'oxydation lipidique des homogénats des rats. D'autre part, **(Tohma *et al.*, 2016)** ont montré que l'effet antioxydant du gingembre mesuré par plusieurs méthodes dépendait du solvant d'extraction de manière que l'extrait éthanol a eu l'effet le plus fort que l'extrait aqueux. Plus récemment **(Ghafoor *et al.*, 2020)**, ont montré une forte activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique utilisant la méthode de DPPH. L'extrait à une concentration de 1 mg/ml a entraîné l'inhibition du radical avec un pourcentage entre $12,5 \pm 0,01$ % et $82,00 \pm 0,04$ % correspondant au gingembre frais et au gingembre séché à froid (lyophilisation).

II.2.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un mécanisme de défense important et une réponse immunitaire qui permet au corps de maintenir l'homéostasie des tissus dans des conditions défavorables **(Dhanik *et al.*, 2017)**.

L'effet antiinflammatoire a été évalué par la méthode de l'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA et les résultats sont rapportés en termes de pourcentages d'inhibition (**figure 23**). Les extraits acétate d'éthyle, chloroforme, et éthanol ont été inactifs aux concentrations testés (5 mg/ml dans le volume final). Par contre l'extrait aqueux a montré un faible effet à la concentration 2,5 mg (2,42 %) qui augment jusqu'à 67,68 % à 5 mg/ml. La dénaturation de BSA sous l'effet de la température implique la perte de la structure tertiaire par la perturbation des liaisons électrostatiques, hydrogène, et hydrophobe provoquant son agrégation et précipitation qui se traduit par la formation d'un trouble. Dans l'organisme cette dénaturation peut provoquer une réaction antigénique à l'origine d'une réaction inflammatoire.

L'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux pourrait être due à la présence de composés pouvant interagir avec la protéine empêchant sa dénaturation en maintenant les liaisons de sa structure.

L'effet antiinflammatoire du gingembre a été largement prouvé par des études antécédentes. Le gingembre (et certains de ses composants) s'est avéré efficace contre les cytokines, qui sont synthétisées et sécrétées aux sites d'inflammation et régulent certaines voies biochimiques activées dans l'inflammation chronique (**Grzanna et al., 2005**). Dans une étude récente, l'extrait aqueux du rhizome du gingembre a été rapporté d'avoir un effet antiinflammatoire très important dans des rats. L'effet a été constaté par la réduction du diamètre des pattes des rats traités par la carraghénane par rapport au control (rats traités uniquement avec la carraghénane). Les marqueurs de l'inflammation comme le fibrinogène et la protéine réactive C (CRP) ainsi que les éléments du sang comme les globules blancs et les plaquettes sanguines ont également diminué suite à l'administration de l'extrait aqueux du gingembre ce qui démontre son effet inflammatoire très efficace. En effet, l'effet de l'extrait était trouvé plus élevé que celui de l'indométacine utilisé comme standard (**Zammel et al., 2021**).

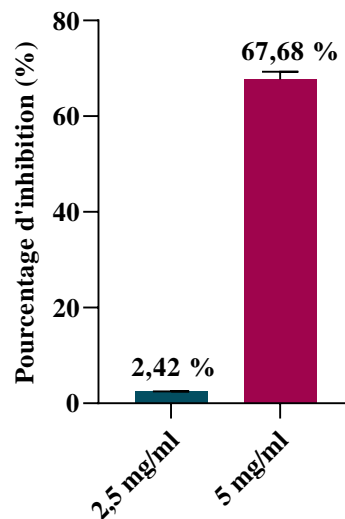


Figure 23 : Inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait aqueux du gingembre.

II.4.3. Effet antifongique

Fusarium oxysporum f. sp *lycopersici* abrégé en FOL est une souche pathogène qui touche les plantes comme la tomate en causant son flétrissement et par conséquent conduit à la réduction de la production et du rendement. Le champignon entre dans l'épiderme des racines de la plante et par la suite se propagent via le tissu vasculaire et habite les vaisseaux de l'xylème qui conduit à leur colmatage et un stress hydrique sévère conduisant au flétrissement de la plante. Cette maladie se caractérise par des feuilles jaunes sur la plante avec un minimum ou absence totale de la production du fruit (tomate) (Srinivas *et al.*, 2019). Le traitement contre ce pathogène implique l'utilisation des pesticides mais aussi la production de plantes génétiquement modifiées plus résistantes. Actuellement, vu le danger des pesticides communément utilisés sur la santé humaine et animale, un grand intérêt pour l'utilisation des molécules ou extraits d'origine naturelle a été constaté et par conséquent de nombreuses recherches ont été conduites dans ce contexte.

Les extraits du gingembre (chloroforme, acétate d'éthyle, et éthanol) testés sur la souche FOL ont montré une activité inhibitrice très intéressante qui dépend de la concentration de l'extrait utilisée. Les pourcentages d'inhibition calculés par rapport au contrôle sont rapportés dans la **figure 24**. Les images des zones d'inhibition des trois extraits à différentes concentrations sont également présentées dans la **figure 25**. Comme constaté, l'extrait acétate d'éthyle acétate a eu l'effet le plus prononcé à toutes les concentrations utilisées. A 0,25 mg/ml l'extrait acétate d'éthyle a provoqué la réduction du diamètre du mycélium de 38 %, suivi par l'extrait éthanol avec un pourcentage d'inhibition de 28 % qui est proche de l'effet exercé par l'extrait chloroformique (25 %).

L'effet antifongique le plus important est observé à la plus forte concentration qui est de 1 mg/ml. A cette concentration, l'acétate d'éthyle exerce toujours la meilleure capacité inhibitrice de la souche fongique donnant une réduction du diamètre du mycélium de 60 % par contre les extraits, chloroforme et éthanol ont montré une activité proche avec des pourcentages d'inhibition de 56 et 55 %, respectivement.

L'effet antimicrobien du gingembre a été très largement rapporté dans la littérature montrant l'efficacité de l'huile essentielle ainsi que les extraits organiques à inhiber certaines bactéries et champignons. Les composés phénoliques comme (eugénol, les shogaols, la zingénone, les gingerdiols, et les gingérols) en synergie avec d'autres composés comme le β -phellandrène, le cis-caryophyllène, le zingiberène, le α -farnésène, et le β -bisabolène sont principalement responsables de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle, de l'oleoresine, et de l'huile essentielle du gingembre (Beristain-Bauza *et al.*, 2019). L'effet antimicrobien du gingembre est essentiellement évalué sur les bactéries par contre, trop peu d'études sur son effet antifongique ont été réalisées. Par exemple, Karuppiyah *et al.*, (2012) a rapporté un remarquable effet antibactérien contre un nombre de bactéries pathogènes.

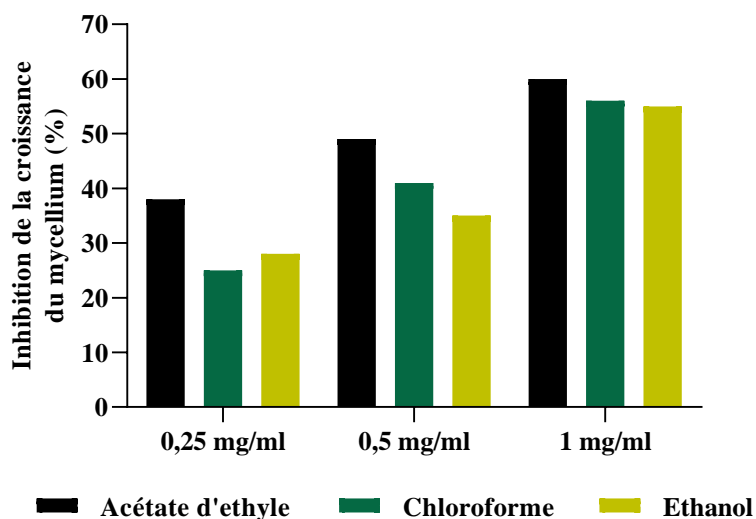


Figure 24 : Activité antifongique des extraits de *Zingiber officinale* contre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*

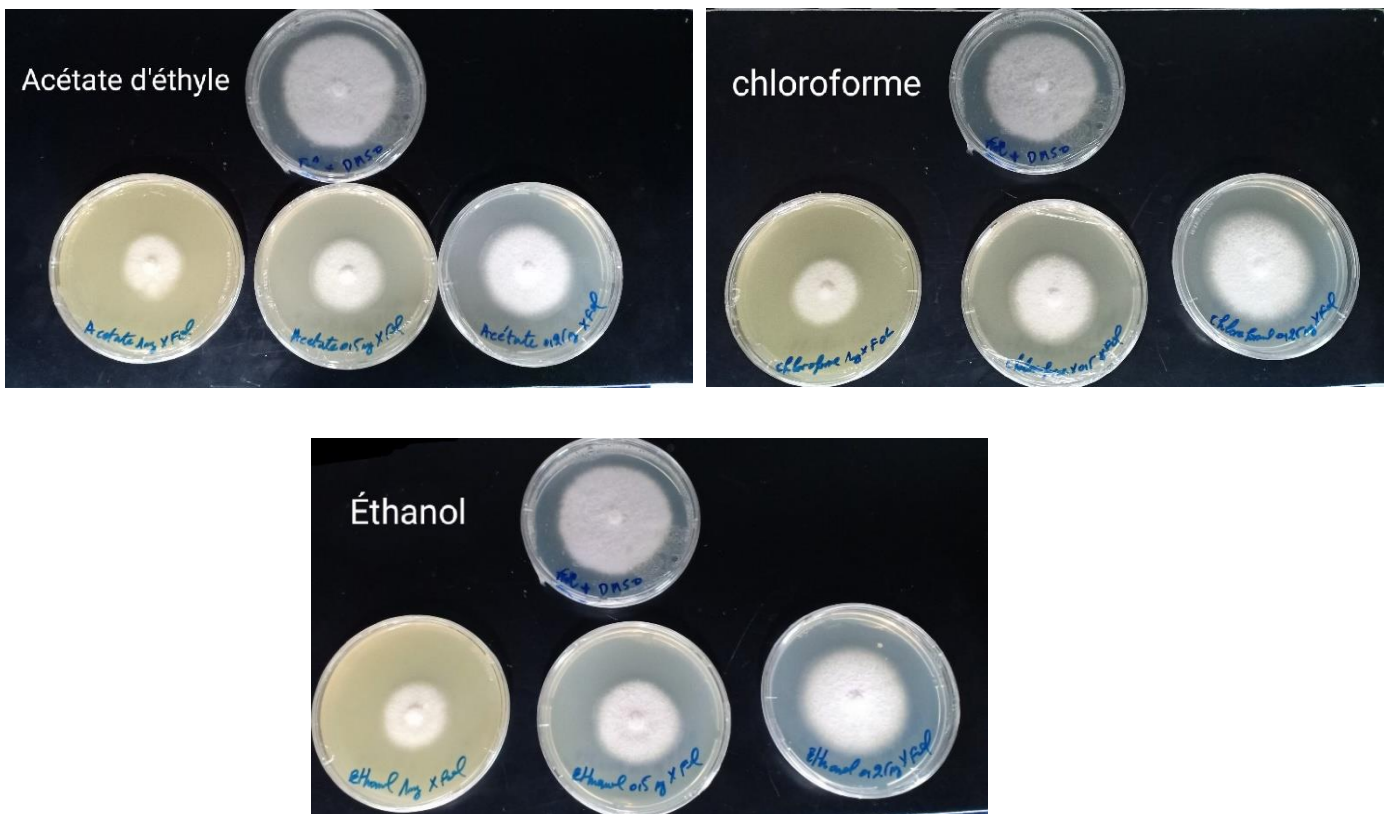


Figure 25 : Photos de l'activité antifongique des différents extraits de *Zingiber officinale*.

Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, une étude phytochimique et pharmacologique de la plante *Zingiber officinale* (gingembre) a été réalisée dans le but de justifier ses multiples utilisations dans la médecine traditionnelle et la possibilité de la considérer comme une source de substances bioactives. Pour cela, les effets antioxydant, antiinflammatoire, et antifongique des extraits obtenus par différents solvants de différentes polarités ont été évalués.

Les résultats ont montré de fortes teneurs en polyphénols dans les extraits organiques par rapport à l'extrait aqueux obtenu par décoction. La réalisation de la CCM a révélé la présence de plusieurs bandes dans les extraits organiques mais pas dans l'extrait aqueux. La bio-activité des extraits est fortement liée à leur composition. A cet effet, les extraits organiques sont les plus actifs comme antioxydants et antifongiques contre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*.

A l'essor de ces résultats, les effets exercés par le gingembre peuvent expliquer ses effets thérapeutiques. En outre, l'extraction avec des solvants organiques s'est avéré le meilleur moyen pour atteindre un meilleur effet à l'encontre de l'utilisation de la décoction due à la nature hydrophobe des composés actifs de cette plante. Le gingembre pourrait être alors considéré comme une source potentielle de substances bioactives naturelles aux effets antioxydant, antiinflammatoire, et antifongique.

Néanmoins, des études supplémentaires devraient être conduites dans le même contexte pour compléter les résultats de la présente étude à savoir :

- Evaluation des effets biologiques sur des fractions pour identifier les composés responsables de l'activité

- Etude d'autres effets biologiques comme l'effet antidiabétique ou utiliser d'autres tests complémentaires (évaluer l'effet antiinflammatoire par d'autres méthodes) pour prouver les effets exercés.

- Effectuer des études *in vivo* sur les effets thérapeutiques pour prendre en considération la complexité des systèmes biologiques par rapport aux réactions *in vitro*

- Etude *in vitro* et *in vivo* de la toxicité des extraits afin d'éviter tout inconvénient de leur utilisation

Références Bibliographiques

- Abeyssekera, W.K.S.M., Chandrasekara, A., & Liyanage, P.K. (2007). Amylase and Glucosidase. *Tropical Agricultural Research*, 19, 128-135.
- Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. *Thèse de Doctorat en Sciences Alimentaires. Université A. MIRA de Bejaia. Algérie.*
- Afshar, M., Ghayour-Mobarhan, M., Jafari, P., & Daneshpour, M. S. (2019). The effects of ginger consumption on weight loss and metabolic profiles among overweight and obese subjects : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of medicinal food*, 22(2): 142-149.
- Akbar, S. (2020). *Handbook of 200 medicinal plants : A comprehensive review of their traditional medical uses and scientific justifications.* Springer Nature Switzerland AG.
- Akhani, S. P., Vishwakarma, S. L., & Goyal, R. K. (2010). Anti-diabetic activity of *Zingiber officinale* in streptozotocin-induced type I diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(1): 101-105.
- Ali, Z. C. (2018). Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine. *Thèse de Doctorat en chimie pharmaceutique. Université PARIS-SUD. Paris, France.*
- Anasori, P., & Asghari, G. (2008). Effects of light and differentiation on gingerol and zingiberene production in callus culture of *Zingiber officinale* Rosc. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 3(1): 59-63.
- Andersson, C.-M., Hallberg, A., & Högberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. In *Advances in Drug Research*, 28, 65-180.
- Angèle, F. Les Zingiberaceae en phytothérapie : l'exemple du gingembre. *Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Lille 2.Lille.*
- Ansari, F. R., Chodhary, K. A., & Ahad, M. (2021). A review on ginger (*Zingiber officinale* Rosc) with unani perspective and modern pharmacology. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 9(3) : 101-104.
- Aouadhi, S., (2015). Atlas des risques de la phytothérapie rationnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. *Mémoire de master en toxicologie Faculté de médecine de Tunis.Tunisie.*
- Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., & Atamer, Y. (2008). The Importance of Paraoxonase 1 Activity, Nitric Oxide and Lipid Peroxidation in Hepatosteatosis. *Journal of International Medical Research*, 36(4): 771-776.

- Azab, A. E., Albasha, M. O., Jbireal, J. M., & Adwas, A. A. (2018). Sodium Fluoride Induces Hepato-Renal Oxidative Stress and Pathophysiological Changes in Experimental Animals. *Open Journal of Apoptosis*, 07(01): 1-23.
- Bakhouché, I., Aliat, T., Boubellouta, T., Gali, L., Şen, A., & Bellik, Y. (2021). Phenolic contents and in vitro antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-inflammatory effects of leaves and roots extracts of the halophyte *Limonium delicatulum*. *South African Journal of Botany*, 139, 42-49.
- Bartosz, G. (2003). Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems. *Comments on Toxicology*, 9(1): 5-21.
- Bationo, F., Savadogo, A., Kabore, D., Ouattara/Songré, L., Gautier Ouedraogo, H., Savadogo, B., & Traore, A. (2015). Storage influence on beta-carotene and alpha-tocopherol contents of solar-dried *Spirulina platensis* (Spirulina). *African Journal of Food Science*, 9(12) : 546-554.
- Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522) : 22-30.
- Belmokhtar, Z., & Harche, M. K. (2014). In vitro antioxidant activity of *Retama monosperma* (L.) Boiss. *Natural Product Research*, 28(24): 2324-2329.
- Beristain-Bauza, S. D. C., Hernández-Carranza, P., Cid-Pérez, T. S., Ávila-Sosa, R., Ruiz-López, I. I., & Ochoa-Velasco, C. E. (2019). Antimicrobial Activity of Ginger (*Zingiber Officinale*) and Its Application in Food Products. *Food Reviews International*, 35(5): 407-426.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617.
- Bouchouka, E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. *Thèse de Doctorat Université BADJI MOKHTAR .Annaba. Algérie*.
- Bruneton. (1993). Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales (2^{ème} Ed). ED. Lavoisier, New York, 914.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales (3^{ème}Ed) ED. Lavoisier. Paris, 1120.
- Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.-C., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: Le yin et le yang de la mitochondrie. *médecine/sciences*, 22(1) : 47-53.

- Cheikh Ali, Z. (2012). *Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine. Thèse de Doctorat Université PARIS-SUD. Paris*
- Chen, B.-H., Wu, P.-Y., Chen, K.-M., Fu, T.-F., Wang, H.-M., & Chen, C.-Y. (2009). Antiallergic Potential on RBL-2H3 Cells of Some Phenolic Constituents of *Zingiber officinale* (Ginger). *Journal of Natural Products*, 72(5): 950-953.
- Cheng, X.-L., Liu, Q., Peng, Y.-B., Qi, L.-W., & Li, P. (2011). Steamed ginger (*Zingiber officinale*): Changed chemical profile and increased anticancer potential. *Food Chemistry*, 129(4): 1785-1792.
- Cho, Y. A., Kim, Y. S., Kim, J. H., & Kim, K. H. (2016). Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe-A review. *Journal of ethnopharmacology*, 185.
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Éditions Yves Dacosta. Paris. p 317.
- Deng, X., Chen, D., Sun, X., Dong, J., & Huang, J. (2022). Effects of ginger extract and its major component 6-gingerol on anti-tumor property through mitochondrial biogenesis in CD8⁺ T cells. *Journal of Food Science*, 87(7) : 3307-3317.
- Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. *Thèse de Doctorat Université de LIMOGES*.
- Dhanik, J., Arya, N., & Nand, V. (2017). A Review on *Zingiber officinale*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3) : 174-184.
- Djahra, A. B. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. *Thèse de Doctorat en Biologie Végétale Université BADJI MOKHTAR. Annaba. Algérie*.
- Dröge, K. S. (2002). Free radicals in physiological control of cell fuction. *Physiological Reviews*, 82, 47 -95.
- Eftekhari, M. H., Jafari, P., Sarrafzadegan, N., & Askari, G. (2019). The effects of ginger on hypertension and lipid profile : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 4, 71: 236-244.
- El Aanachi, S., Gali, L., Rammali, S., Bensouici, C., Aassila, H., & Dari, K. (2021). In vitro study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(2): 1785-1795.

- Ezez, D., & Tefera, M. (2021). Effects of Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Ginger Extracts. *Journal of Chemistry*, 2021, 5.
- Faivre, C., Lejeune, L., Staub, H., & Goetz, P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe, *Phytothérapie*, 2, 99-102.
- Fetoni, A. R., Paciello, F., Rolesi, R., Paludetti, G., & Troiani, D. (2019). Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss : Oxidative stress and ROS signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 135, 46-59.
- Funk, J. L., Frye, J. B., Oyarzo, J. N., Chen, J., Zhang, H., & Timmermann, B. N. (2016). Anti-inflammatory effects of the essential oils of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in experimental rheumatoid arthritis. *Pharma Nutrition*, 4(3): 123-131.
- Ghafoor, K., Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Uslu, N., Babiker, E. E., & Mohamed Ahmed, I. A. (2020). Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT Food Science and Technology*, 126, 109354.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. *Molecules*, 15, 7907-7922.
- Gigon, F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 10(2), 87-91.
- Gröber, U., Schmidt, J., & Kisters, K. (2018). Ginger in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting : A meta-analysis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 37(1): 1-11.
- Grzanna, R., Lindmark, L., & Frondoza, C. G. (2005). Ginger—An Herbal Medicinal Product with Broad Anti-Inflammatory Actions. *Journal of Medicinal Food*, 8(2), 125-132.
- Habsah, M., Amran, M., Mackeen, M. M., Lajis, N. H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Rahman, A. A., Ghafar, & Ali, A. M. (2000). Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(3): 403-410.
- Habtemariam, S. (2019). The chemical and pharmacological basis of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as potential therapy for diabetes and metabolic syndrome. In *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*, 639-687.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2008). *Free Radicals in Biology and Medicine*. (4^{ème} Edition). Oxford University Press.

- Haslam, E. (1996). Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs : Possible Modes of Action. *Journal of Natural Products*, 59(2): 205-215.
- Hsu, T., Ke, H., & Yang, W. (2006). Knowledge-based mobile learning framework for museums. *The Electronic Library*, 24(5): 635-648.
- Jatoi, S. A., Kikuchi, A., Gilani, S. A., & Watanabe, K. N. (2007). Phytochemical, pharmacological and ethnobotanical studies in mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.; Zingiberaceae). *Phytotherapy Research*, 21(6): 507-516.
- Karuppiah, P., & Rajaram, S. (2012). Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8): 597-601.
- Khan, M., Ullah, N., Azhar, M., Komal, W., & Muhammad, W. (2019). A Mini-Review on the Therapeutic Potential of *Zingiber officinale* (ginger). *Natural Products: An Indian Journal Nat Prod Ind J*, 15(1):125.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4) : 165-177.
- Krinsky, N. I. Carotenoids as Antioxidants. *Nutrition* 17, 815– 817
- Kumar, G., Karthik, L., & Rao, K. V. B. (2011). A Review on Pharmacological and Phytochemical Properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacy Research*, 4(9): 2963-2966.
- Kumar Gupta, S. K., & Sharma, A. (2014). Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe - A Review. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(5): 124-129.
- Lubrano, V., Balzan, S., (2015). Enzymatic antioxydant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*, 5 (4): 218.
- Mamari, H. H. A. (2021). Phenolic Compounds : Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis, Phenolic Compounds – Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications. ED. Intech Open, pp. 10.
- Marwat, S. K., Shoaib, M., Khan, E. A., & Ullah, H. (2015). Phytochemistry and Bioactivities of Quranic Plant, Zanjabil-Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). A Review American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 15 (5): 707-713.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1): 68-78.

- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6): 992-999.
- Nibir, Y. M., Sumit, A. F., Akhand, A. A., Ahsan, N., & Hossain, M. S. (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(4) : 352-357.
- Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Thèse de doctorat en sciences des aliments. Université CADI AYYAD Marrakech. Maroc.*
- Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical Chemistry*, 84(18): 8052-8059.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids : An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47, 1-15.
- Peirano, P., & Gómez-Sánchez, R. (2015). The use of ginger (*Zingiber officinale*) as a treatment for osteoarthritis : A systematic review. *Phytotherapy Research*, 29, 1686-1691.
- Peng, F., Tao, Q., Wu, X., Dou, H., Spencer, S., Mang, C., Xu, L., Sun, L., Zhao, Y., Li, H., Zeng, S., Liu, G., & Hao, X. (2012). Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Fitoterapia*, 83(3): 568-585.
- Pinson, C., *Curcuma et gingembre* (2012^e éd.). ED. Eyrolles.
- Preiser, J.-C. (2012). Oxidative Stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2): 147-154.
- Priya Rani, M., Padmakumari, K. P., Sankarikutty, B., Lijo Cherian, O., Nisha, V. M., & Raghu, K. G. (2011). Inhibitory potential of ginger extracts against enzymes linked to type 2 diabetes, inflammation and induced oxidative stress. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(2): 106-110.
- Rani, M. P., Krishna, M. S., Padmakumari, K. P., Raghu, K. G., & Sundaresan, A. (2012). *Zingiber officinale* extract exhibits antidiabetic potential via modulating glucose uptake, protein glycation and inhibiting adipocyte differentiation : An *in vitro* study: *In-vitro* evaluation of the antidiabetic potential of *Z. Officinale*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9): 1948-1955.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Rodríguez-Roque, M. J., De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2015). Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods*, 14, 33-43.
- Ross, Ivan A. (2005). Medicinal Plants of the World. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. 1ère Edition. Totowa, New Jersey: Humana Press, 3: 648.
- Saci, F., Bachir bey, M., Louaileche, H., Gali, L., & Bensouici, C., (2019). Changes in anticholinesterase, antioxidant activities and related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stages. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14(2): 937-945.
- Sangwan, S., Singh, R., & Tomar, S. K. (2014). Nutritional and functional properties of oats: An update. *Journal of Innovative Biology*, 1, 003-014.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883.
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111-125.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2019). Clinical aspects and health benefits of ginger (*Zingiber officinale*) in both traditional Chinese medicine and modern industry. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 69(6): 546-556.
- Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M., Ademiluyi, A., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S., & Iriti, M. (2017). Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules*, 22(1) : 70.
- Sonago, R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle, *Université de Bamako*, 53p.
- Sova, M., & Saso, L. (2020). Natural Sources, Pharmacokinetics, Biological Activities and Health Benefits of Hydroxycinnamic Acids and Their Metabolites. *Nutrients*, 12(8): 2190.
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum,

- B., Abd_Allah, E. F., Chandra Nayaka, S., & Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici causal agent of vascular wilt disease of tomato : Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7): 1315-1324.
- Sun, P., Kang, T., Xing, H., Zhang, Z., Yang, D., Zhang, J., Paré, P., & Li, M. (2019). Phytochemical Changes in Aerial Parts of *Hypericum perforatum* at Different Harvest Stages. *Records of Natural Products Rec. Nat. Prod*, 13(1):1-9.
- Szydłowskiaczerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4): 899-905.
- Tohma, H., Köksal, E., Kılıç, Ö., Alan, Y., Yılmaz, M., Gülçin, İ., Bursal, E., & Alwasel, S. (2016). RP-HPLC/MS/MS Analysis of the Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Salvia L.* Species. *Antioxidants*, 5(4): 38.
- 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): 1-40.
- Weidinger, A., & Kozlov, A. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species : Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules*, 5(2): 472-484.
- Yang, Z., Liu, C., Xiang, L., & Zheng, Y. (2009). Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in *Portulaca oleracea*. *Phytotherapy Research*, 23(7): 1032-1035.
- Zammel, N., Saeed, M., Bouali, N., Elkahoui, S., Alam, J. M., Rebai, T., Kausar, M. A., Adnan, M., Siddiqui, A. J., & Badraoui, R. (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Zingiber officinale* roscoe and *Allium subhirsutum*: In Silico, Biochemical and Histological Study. *Foods*, 10(6), 1383.

Résumés

Résumé

Le présent travail a pour but principal d'étudier la composition chimique et quelques effets biologiques des extraits de la plante *Zingiber officinale* (gingembre) afin de justifier ses multiples actions thérapeutiques et son potentiel comme une source de substances bioactives d'origine naturelle.

Des teneurs en polyphénols totaux variant de $32,53 \pm 4,73$ à $213,61 \pm 4,42$ $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait correspondant aux extraits aqueux et chloroforme, respectivement ont été obtenues. De plus, des valeurs entre $2,06 \pm 0,36$ et $108,1 \pm 4,1$ $\mu\text{g QE/mg}$ d'extrait ont été enregistrées pour les flavonoïdes. La séparation sur CCM a révélé la richesse des extraits organiques par l'apparition de plusieurs taches sur la plaque.

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que les extraits organiques sont les plus puissants. Particulièrement, l'extrait acétate d'éthyle était le plus actif dans la réduction du radical DPPH ($\text{CI}_{50} = 15,77 \pm 0,63$ $\mu\text{g/ml}$) et exerçait l'effet réducteur des ions métalliques le plus important (des valeurs $A_{0,5}$ variant entre $4,88 \pm 0,21$ et $34,17 \pm 1,23$ $\mu\text{g/ml}$). D'autre part, aucun effet antiinflammatoire n'a été observé pour ces extraits tandis qu'une légère capacité à inhiber la dénaturation thermique de la BSA a été obtenue par l'extrait aqueux atteignant un pourcentage d'inhibition de 67,68 % à 5 mg/ml. En outre, les extraits organiques ont montré une grande capacité antifongique contre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* dont l'extrait acétate d'éthyle était le plus actif (inhibitions entre 55 et 60 % à 1 mg/ml).

Les différents résultats du présent travail prouvent les effets thérapeutiques de la plante liés essentiellement aux effets antioxydants, antiinflammatoire, et antifongique et pourrait par conséquent être considérée comme une source de substances bioactives.

Mots clés : *Zingiber officinale*, Polyphénols, Effet antioxydant, Activité anti-inflammatoire, *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*

Abstract

The main aim of the present work is to study the chemical composition and some biological effects of extracts from the plant *Zingiber officinale* (ginger) in order to justify its multiple therapeutic actions and its potential as a source of bioactive substances of natural origin.

Total polyphenol contents ranging from 32.53 ± 4.73 to 213.61 ± 4.42 μg EAG/mg extract corresponding to aqueous and chloroform extracts, respectively, were obtained. In addition, values between 2.06 ± 0.36 and 108.1 ± 4.1 μg EQ/mg extract were recorded for flavonoids. TLC separation revealed the richness of the organic extracts by the appearance of several spots on the plate.

Antioxidant activity results showed that organic extracts were the most potent. In particular, ethyl acetate extract was the most active in reducing the DPPH radical ($\text{CI}_{50} = 15.77 \pm 0.63$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) and exerted the greatest reducing effect on metal ions ($\text{A}_{0.5}$ values ranging from 4.88 ± 0.21 to 34.17 ± 1.23 $\mu\text{g}/\text{ml}$). On the other hand, no anti-inflammatory effect was observed for these extracts, while a slight ability to inhibit thermal denaturation of BSA was obtained by the aqueous extract reaching a percentage inhibition of 67.68% at 5 mg/ml. In addition, the organic extracts showed high antifungal capacity against *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*, with the ethyl acetate extract being the most active (inhibitions between 55 and 60% at 1 mg/ml).

The various results of the present work demonstrate the therapeutic effects of the plant, essentially linked to antioxidant, anti-inflammatory and antifungal effects, and could therefore be considered a source of bioactive substances.

Key words: *Zingiber officinale*, Polyphenols, Antioxidant effect, Anti-inflammatory activity, *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*

ملخص

الغرض الرئيسي من هذا العمل هو دراسة التركيب الكيميائي وبعض الآثار البيولوجية لمستخلصات نبات *Zingiber officinale* (الزنجبيل) لتبرير إجراءاته العلاجية المتعددة وإمكاناته كمصدر للمواد ذات التأثير البيولوجي التي تحدث بشكل طبيعي.

تم الحصول على البوليفينول الكلي الذي يتراوح من 4.73 ± 32.53 إلى 4.42 ± 213.61 $\mu\text{g EAG/mg}$ المستخلص المقابل للمستخلصات المائية والكلوروفورم، على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل قيم تتراوح بين 0.36 ± 2.06 و 4.1 ± 108.1 $\mu\text{g QE/mg}$ مستخلص الفلافونويد. كشف الفصل على CCM عن ثراء المستخلصات العضوية من خلال ظهور العديد من البقع على الطبق.

أظهرت نتائج النشاط المضاد للأوكسدة أن المستخلصات العضوية هي الأقوى. على وجه الخصوص، كان مستخلص أسيتات الإيثيل أكثر نشاطاً في تقليل جذور DPPH ($\text{IC}_{50} = 15.77 \pm 0.63 \mu\text{g/ml}$) ومارس تأثير الانخفاض الأكثر أهمية للأيونات المعدنية (قيم $\text{A}_{0.5}$ تتراوح من 0.21 ± 4.88 إلى $1.23 \pm 34.17 \mu\text{g/ml}$). من ناحية أخرى، لم يلاحظ أي تأثيرات مضادة للالتهابات لهذه المستخلصات بينما تم الحصول على قدرة طفيفة على تثبيط التحلل الحراري لـ BSA عن طريق مستخلص مائي يصل إلى نسبة تثبيط تبلغ 67.68% عند 5 ملغم/مل. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المستخلصات العضوية سعة عالية مضادة للفطريات ضد *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici* الذي كان مستخلص أسيتات الإيثيل هو الأكثر نشاطاً (الموانع بين 55 و 60% عند 1 ملغم/مل).

ثبتت النتائج المختلفة لهذا العمل الآثار العلاجية للنبات المرتبطة بشكل أساسي بمضادات الأوكسدة ومضادات الالتهاب والتأثيرات المضادة للفطريات، وبالتالي يمكن اعتبارها مصدرًا للمواد النشطة بيولوجيًا.

الكلمات المفتاحية : *Zingiber officinale* ، البوليفينول ، التأثير المضاد للأوكسدة ، النشاط المضاد للالتهابات ، *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici*

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par :
KARAR Chaima
SAHRAOUI Meyada
BENZRAFA Ibtissam

Etude de la composition chimique et des effets biologiques du gingembre (*Zingiber officinale*)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Résumé

Le présent travail a pour but principal d'étudier la composition chimique et quelques effets biologiques des extraits de la plante *Zingiber officinale* (gingembre) afin de justifier ses multiples actions thérapeutiques et son potentiel comme une source de substances bioactives d'origine naturelle.

Des teneurs en polyphénols totaux variant de $32,53 \pm 4,73$ à $213,61 \pm 4,42$ $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait correspondant aux extraits aqueux et chloroforme, respectivement ont été obtenues. De plus, des valeurs entre $2,06 \pm 0,36$ et $108,1 \pm 4,1$ $\mu\text{g QE/mg}$ d'extrait ont été enregistrées pour les flavonoïdes. La séparation sur CCM a révélé la richesse des extraits organiques par l'apparition de plusieurs taches sur la plaque.

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que les extraits organiques sont les plus puissants. Particulièrement, l'extrait acétate d'éthyle était le plus actif dans la réduction du radical DPPH ($CI_{50} = 15,77 \pm 0,63$ $\mu\text{g/ml}$) et exerçait l'effet réducteur des ions métalliques le plus important (des valeurs $A_{0,5}$ variant entre $4,88 \pm 0,21$ et $34,17 \pm 1,23$ $\mu\text{g/ml}$). D'autre part, aucun effet anti-inflammatoire n'a été observé pour ces extraits tandis qu'une légère capacité à inhiber la dénaturation thermique de la BSA a été obtenue par l'extrait aqueux atteignant un pourcentage d'inhibition de 67,68 % à 5 mg/ml. En outre, les extraits organiques ont montré une grande capacité antifongique contre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* dont l'extrait acétate d'éthyle était le plus actif (inhibitions entre 55 et 60 % à 1 mg/ml).

Les différents résultats du présent travail prouvent les effets thérapeutiques de la plante liés essentiellement aux effets antioxydants, anti-inflammatoire, et antifongique et pourrait par conséquent être considérée comme une source de substances bioactives.

Mots-clefs : *Zingiber officinale*, Polyphénols, Effet antioxydant, Activité anti-inflammatoire, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*.

Laboratoire de recherche : Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), Constantine.

Président : Mr. KITOUNI Rachid (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : M^{elle} GALI Lynda (MRA- C.R.Bt).

Examineur : M^{elle} MAZOUZ Wissam (MAA - Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi).