



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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 Moléculaire et Santé*

Intitulé :

Etude de l'activité antioxydante de gingembre « *Zingiber officinale* »

Présenté et soutenu par :

Le : 02/07/2017

BEGGAS Lynda & BENDOUKHANE Meryem

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : MAAMRI Zaineb (MCB - UFM Constantine).

Rapporteur : MOSBAH Asma (MCB- UFM Constantine).

Co- rapporteur : SEMRA Ilhem (MAA- UFM Constantine).

Examinatrice : HALMI Sihem (MCB- UFM Constantine).

*Année universitaire
2016 – 2017*

Remerciements

*Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a donné pour l'achèvement de ce travail de recherche.*

Notre mémoire a atteint son terme grâce à l'assistance et à la collaboration de nombreuses personnes. Nous profitons de cette occasion de gratitude et de reconnaissance pour remercier tous ceux qui de loin ou de près y ont contribué.

*Nos sincères remerciements vont à notre encadreur : **M^{lle}. MOSBAH Asma**. Maitre de Conférence Classe B, Département de Biologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri 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.*

*Nous remercions **M^{me}. SEMRA Ilhem**. Maitre Assistante Classe A, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine pour son aide.*

*Un grand merci au Professeur **M. DHIMATE Laid**, le Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*Nous remercions le Professeur **M. NOUADRI Tahar**, 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 remercions le professeur **M. BENSEGHENI Abederahman**, le responsable de notre Filière de Biochimie Moléculaire et Santé.*

Nos sincères remerciements vont également aux membres du jury :

***M^{me}. MAAMRI Zaineb.** Maitres de conférences Classe B, Département de Biologie animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, Pour l'honneur qu'elle nous faite en acceptant de présider ce jury.*

***M^{me}. HALMI Sihem.** Maitre de Conférence Classe B, Département de Biologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, pour avoir acceptée d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et Critiques.*

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

*Nous tiens à remercier nos familles pour leurs soutiens et leurs
encouragements.*

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

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui
nous ont aidés et Soutenue de près ou de loin pour que ce projet soit
possible, je vous dis merci.*

Merci à vous tous

Dédicace

*A Dieu le Tout Puissant, Maître du temps et des circonstances, plein d'amour,
de tendresse et de bonté*

*Tout d'abord louange a **Allah** qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de
mes études et m'a inspiré les bons pas.*

*À mon père **Madjid** bien que vous n'êtes pas avec moi aujourd'hui mais
restera toujours dans mon cœur et j'espère être l'un des gens du paradis.*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère
Houria qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son
sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité. Je pris Dieu
pour qu'il vous accorde santé et une longue vie.
Merci **Mama** sans toi je ne serai pas arrivée jusque là.*

*A mon très cher frère unique **Rehda**, en témoignage de la fraternité, je vous
souhaite une vie pleine de joie et de bonheur.*

*A mon cher fiancé **Walid** qui m'encourage toujours à aller plus loin, ta
patience m'a toujours égayé même dans les moments les plus durs.*

*A mes très chères amis **Hadjer** et mon binôme **Meryem**, je vous remercie pour
votre amitié et votre soutien t. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour
vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères,
soeurs et des amis sur qui je peux compter.*

*A mes très chères **Samah, Nina, Souhir, Monira, Ikram, Widad, Faiza,**
Mofida et **Khadija**. Merci pour tous les bons moments.*

*A tout le membre de ma famille **BEGGAS** et a tout personnes qui m'ont
encouragé ou aidé au long de mes études.*

*A tout mes collègues de la promotion de **Master II Biochimie Moléculaire et
Santé de faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des
Frères Mantouri constantine 1** et je leur souhaite beaucoup de réussite.*

A tout ce que j'aime sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens....

Lynda

Dédicace

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.

Je dédie ce modeste travail : A mon très chère père Rafaa qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger, aucun mot ne peut exprimer mon respect et mon amour.

*A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à la lumière de mes yeux ma très chère mère Fatima.
Que dieu les gardes et les protège.*

A ma belle soeur Chaima.

A mes beaux frères: Walid, Seif eddine et Lamine.

A la femme de mon frère Nadia et son chère fils Mohammed djawade.

Merci pour tout, pour vos encouragements et soutient.

A mes adorables amies : Lynda, Hadjer, Rim et Mouna

Qui ont partagées avec moi tous les moments de joie et de bonheur, je vous remercie pour votre amitié et votre soutient.

*A tout le membre de ma famille et surtout A mes chères cousines Imen et Hadjer,
Et A tout mes collègues de la promotion de Master 2 Biochimie Moléculaire et Santé, je vous souhaite beaucoup de réussite.*

A tout ce qui m'aiment et A tout ce que j'aime.

Meryem

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Etude bibliographique	2
1. Stress oxydatif et antioxydants	2
1.1. Définition du stress oxydatif.....	2
1.2. Radicaux libres.....	2
1.3. Les espèces réactives oxygénées des radicaux libres.....	2
1.3.1. L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)	3
1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	3
1.3.3. L'oxygène singulet (1O_2)	3
1.4. Les dommages oxydatifs	4
1.4.1. Oxydation de l'ADN	4
1.4.2. Oxydation des protéines.....	4
1.4.3. Oxydation des composés lipidiques.....	5
1.4.4. Oxydation du glucose.....	5
1.5. Les antioxydants.....	6
1.5.1. Antioxydants enzymatiques.....	6
a. Les superoxydes dismutases (SOD)	6
b. Les catalases (CAT).....	6
c. Les glutathion peroxydases (GPx)	7
d. Les glutathion réductases (GRD).....	7
1.5.2. Antioxydants non-enzymatiques	7
1.5.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène	7

a. Glutathion (GSH/GSSG)	7
b. Acide urique	7
c. Bilirubine	8
1.5.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène	8
a. Vitamine C.....	8
b. Vitamine E	8
c. Caroténoïdes	9
d. Polyphénols	9
e. Zinc	9
2. Gingembre «<i>Zingiber officinale</i> »	10
2.1. Historique	10
2.2. Description botanique de gingembre (<i>Zingiber officinale</i>)	10
2.2.1. Partie souterraine	11
2.2.2. Partie aérienne	11
2.3. Classification	11
2.4. Compositions chimiques et molécules bioactives	12
2.5. Usages thérapeutiques	14
2.5.1. Action anti-inflammatoire	14
2.5.2. Action hypoglycémiant	15
2.5.3. Activité anti- bactérienne et antivirale	15
2.5.4. Action antioxydante	15
2.5.5. Autres utilisations	15
Matériel et méthodes	17
1. Matériel	17
1.1. Matériel végétal	17
1.2. Produits chimiques	17
2. Méthodes	17
2.1. Préparation de l'homogénat de gingembre	17
2.2. Extraction et Fractionnement de l'huile de <i>Zingiber officinale</i>	19

2.3. Tests phytochimiques.....	20
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	20
2.3.2. Dosage des flavonoïdes	20
2.4. Activité antioxydante <i>in vitro</i>	20
2.4.1. Test de DPPH	20
2.4.2. Test de pouvoir réducteur	21
Résultats et discussion	22
1. Rendement de l'extraction	23
2. Tests phytochimiques	23
2.1. Dosage des polyphénols totaux	23
2.2. Dosage des flavonoïdes	24
3. Activité antioxydante <i>in vitro</i>	26
3.1. Test de DPPH	26
3.2. Test du pouvoir réducteur	27
4. Discussion général	29
Conclusion et perspectives	30
Références bibliographiques	31
Résumé	

Liste des figures

Figure 1. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	2
Figure 2. Cascade de production des principales ERO : en orange ERO non radicalaires et en jaune ERO radicalaires	4
Figure 3. Rhizomes de gingembre.....	10
Figure 4. <i>Zingiber officinale Roscoe</i>	11
Figure 5. Quelques composants bioactifs de gingembre.....	12
Figure 6. 100 g des rhizomes de gingembre frais	17
Figure 7. Etapes photographiques de la préparation d'un homogénat du <i>Zingiber officinale</i>	18
Figure 8. Etapes photographiques de l'extraction et le fractionnement de l'huile de <i>Zingiber officinale</i>	19
Figure 9. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	21
Figure 10. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	24
Figure 11. Droite d'étalonnage de la quercétine.....	24
Figure 12. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations de la quercétine.....	26
Figure 13. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations de l'huile de <i>Zingiber officinale</i>	26
Figure 14. Pouvoir réducteur de la quercétine.....	27
Figure 15. Pouvoir réducteur de l'huile totale de <i>Zingiber officinale</i>	28

Liste des tableaux

Tableau I. Classification de la plante.....	11
Tableau II. Composition nutritionnelle de gingembre.....	13
Tableau III. Rendement de l'extrait chloroformique de <i>Zingiber officinale</i>	23
Tableau IV. Dosage des polyphénols totaux dans l'extrait chloroformique de <i>Zingiber officinale</i>	23
Tableau V. Dosage des flavonoïdes dans l'extrait chloroformique de <i>Zingiber officinale</i>	24
Tableau VI. IC ₅₀ de l'huile totale de <i>Zingiber officinale</i>	25
Tableau VII. EC ₅₀ de l'huile totale de <i>Zingiber officinale</i>	27

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

COX-1 : La cyclooxygénase-1.

COX-2 : La cyclooxygénase-2.

CuZn-SOD : Superoxyde dismutase 1 (SOD1).

EC-SOD : Superoxyde dismutase 3 (SOD3).

FAD : Flavine Adénine Dinucléotide.

FADH₂ : Forme réduite de la flavine adénine.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion disulfure.

LDL: Low density lipoprotein.

MDA: Malondialdéhyde.

MnSOD: Superoxyde dismutase 2 (SOD2).

NADP: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

NO[•]: Monoxyde d'azote.

NO₂[•]: Dioxyde d'azote.

NO₃⁻: Ion peroxydinitrite.

NR : Non radical.

3O₂ : Dioxygène triplet.

O₂ : L'oxygène moléculaire.

ROO[•]: Peroxyle.

ROOH: Hydroperoxyde .

SH: Groupes thiols.

α-TocH : L'alpha tocophérol.

VIH : Virus de l'immunodéficience humain .

Introduction

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, en faveur des premières, il est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies ; l'artériosclérose, le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies inflammatoires et le processus du vieillissement (Atamer, 2008). Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant de l'organisme dont les antioxydants sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2000 et 2008).

En plus, au cours des dernières années la prévention et le traitement par des médicaments et l'utilisation des additifs tels que les antioxydants synthétiques est très répondue, mais ces dernières possédant des effets néfastes sur la santé du consommateur plusieurs questions ont été soulevées concernant l'efficacité et la sécurité de ces produits chimiques (Gião *et al.*, 2010). Cependant, il est nécessaire de les substituer par des traitements naturels.

Les plantes médicinales constituent une source naturelle des molécules bioactives qui sont impliquées dans la médecine traditionnelle et ont évoluées à travers les âges pour la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs et la découverte d'un grand nombre de médicaments qui jouent un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Eddouks *et al.*, 2007).

Parmi ces plantes médicinales, « *Zingiber officinale* » qui est consommé dans le monde entier comme une épice et un agent aromatisant de l'ancien temps (Gigon, 2012). Aussi les études récentes montrent que l'huile d'extrait des rhizomes de cette plante contient des molécules bioactives tel que les sesquiterpènes, les flavonoïdes et les polyphénols qui ont des propriétés curatives susceptibles de bloquer l'action des EOR et de protéger l'organisme contre les endommagements oxydatifs et nombreuses maladies (Bruneton, 2009).

Dans notre travail l'objectif essentiel consiste à estimer *in vitro* l'activité antioxydante de l'huile totale extrait des rhizomes de *Zingiber officinale*.

*Étude
bibliographique*

1. Stress oxydatif et antioxydants

1.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants (radicaux libres et de métabolites réactifs) ou ROS (des espèces réactives de l'oxygène) et les molécules anti-oxydantes en faveur des oxydants (Figure 1), ce qui provoque des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires (Atamer, 2008). Ce déséquilibre est fonction de plusieurs paramètres tels que l'âge, l'alimentation et l'état sanitaire de l'individu (Chun *et al.*, 2003).

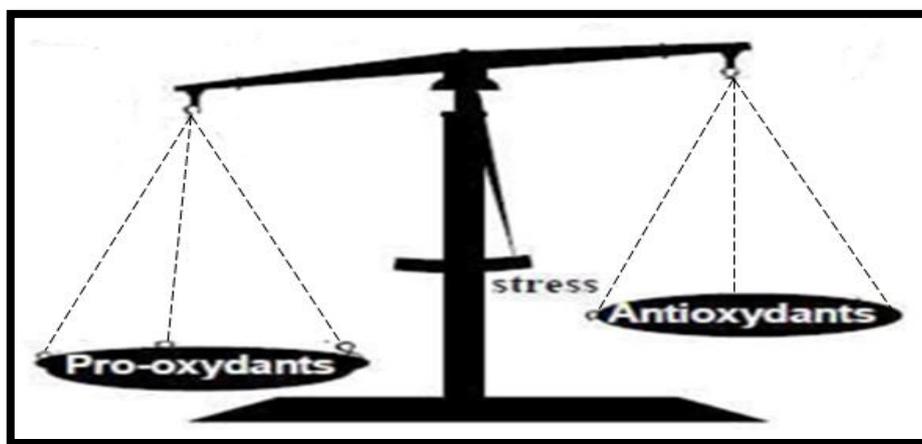


Figure 1. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

1.2. Radicaux libres

Une espèce chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe ce qui augmente sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour devenir stable (Bonfont *et al.*, 2003 ; Finaud *et al.*, 2006).

Le radical libre possède une durée de vie très courte et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Goto *et al.*, 2008). Lorsque ces radicaux libres sont produits plus rapidement ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydant ce qui permet le développement de stress oxydatif (Picchi, 2006).

1.3. Espèces réactives oxygénées (ERO) des radicaux libres

Ce sont des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air, ils sont désignés par des dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène.

Cette famille contient principalement l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) et l'ozone (O_3) (Figure 2).

1.3.1. Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

C'est le radical qui possède la réactivité la plus faible, c'est donc la forme primaire des ROS, il est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2) (Gardès-Albert et Jore, 2005).

Il est également hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu et Cabelli, 2010). L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) peut provenir de plusieurs sources cellulaires où la mitochondrie est considérée comme source principale (Gardès-Albert et Jore, 2005 ; Lambert et *al.*, 2009) .

Le ($O_2^{\bullet-}$) ne traverse pas rapidement la membrane plasmique et se dismute spontanément au pH physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène : $2 O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$

1.3.2. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 n'est pas une espèce radicalaire (Barouki, 2006), c'est une molécule stable diffusée très facilement à travers les membranes (Ramirez et *al.*, 2008). Pour cela son action se déroule dans différents compartiments cellulaires tel que le noyau c'est, donc, un ERO assez toxique.

Il est généré dans le peroxydosome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Ramirez et *al.*, 2008) de $O_2^{\bullet-}$ afin de produire l' H_2O_2 (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003) :



1.3.3. Oxygène singulet (1O_2)

L'oxygène singulet (1O_2) n'est pas radicalaire. Il provient de l'activation de la molécule de dioxygène triplet 3O_2 . il possède la même structure électronique que l'oxygène mais agencée différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003).

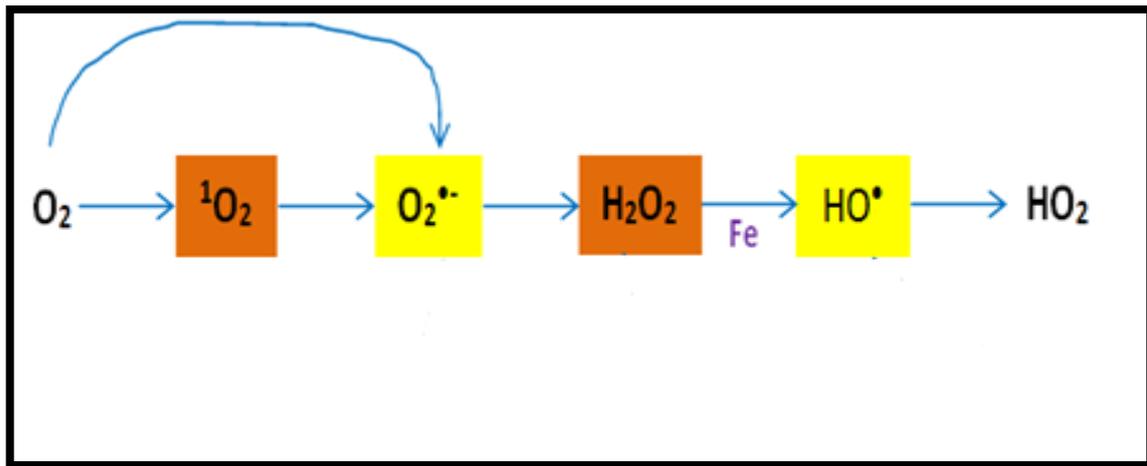


Figure 2. Cascade de production des principales ERO : en orange ERO non radicalaires et en jaune ERO radicalaires (Favier, 1997).

1.4. Dommages oxydatifs

Le stress oxydant provoque plusieurs problèmes de santé (Gil Del Valle et *al.*, 2013), il engendre diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que (Loft et *al.*, 2008) :

1.4.1. Oxydation de l'ADN

Principalement l'ADN nucléaire et mitochondrial où les ERO provoquent l'hydroxylation de leurs bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose conduisant le clivage des brins et des mutations génétiques ce qui aboutit soit à l'arrêt de l'induction de la transcription ou de la transduction des voies de signalisation, soit à l'implication des erreurs de réplication soit encore à une instabilité génomique et l'ensemble est associé au phénomène de carcinogénèse.

L'oxydation de la base guanine par le radical hydroxyle formant la 8-hydroxy-guanine (8-OHG), qui peut être facilement dosé dans les urines et considéré comme un marqueur de carcinogénèse (Valko et *al.*, 2006).

1.4.2. Oxydation des protéines

C'est le radical hydroxyle qui est le plus réactif responsable des altérations oxydatives des protéines (Valko et *al.*, 2006) car les acides aminés très sensibles vis-à-vis des ROS telle que l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine dont toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoque l'oxydation de certains résidus (Nakajima et *al.*, 2006), ce qui conduit des modifications structurale mineure peut induire une modification dans le

fonctionnement de cette protéine (Valko et *al.*, 2006). L'oxydation des protéines peut également induire des réticulations inter- et intra-protéines par:

- Addition d'un groupement lysine sur le groupement carbonyle d'une protéine oxydée.
- Par oxydation d'un groupement sulfhydryle des résidus cystéine formant ainsi des ponts disulfures.
- Par oxydation des résidus tyrosine formant des ponts Tyr-Tyr (Valko et *al.*, 2006).

1.4.3. Oxydation des composés lipidiques

Les acides gras polyinsaturés AGPI ainsi que les lipoprotéines ou les phospholipides membranaires sont les cibles des attaques oxydatives (Favier, 2003 ; Valko et *al.*, 2006) , ou encore la peroxydation des lipides par réaction appelée la peroxydation lipidique (Lee et *al.*, 2006 ; Ré et *al.*, 2005) ,

Les conséquences seront différentes :

- l'attaque des lipides circulants aboutit à la formation de LDL oxydées qui captés par des macrophages forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.
- l'attaque des phospholipides membranaires modifient la fluidité et la perméabilité de la membrane, aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, et altérant de ce fait le dysfonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

1.4.4. Oxydation du glucose

Le glucose et les protéoglycanes du cartilage sont les principales cibles glucidiques des ÉRO. L'oxydation de glucose est appelée aussi « glycosoxydation » et regroupe en 2 mécanismes :

- Soit oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine, pour aboutir à la formation de « produits finaux de glycosylation » ou PFG ;
- Soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine : on parle de « glycosylation non-enzymatique des protéines ». Cela forme une protéine glyquée, qui peut être attaquée par des ÉRO telles que HO[•] ou NO₃⁻ pour former des PFG (Halliwell et Gutteridge, 2007).

1.5. Antioxydants

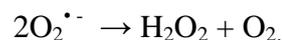
Toute substance qui retarde, empêche ou répare les dégâts oxydatifs d'une molécule cible est appelé antioxydante (Halliwell et Gutteridge, 2000 et 2008). Les antioxydants sont aussi des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant (Halliwell et Gutteridge, 2008).

Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en deux classes les antioxydants enzymatiques et les non enzymatiques (Delattre et *al.*, 2005).

1.5.1. Antioxydants enzymatiques

a. Les superoxydes dismutases (SOD)

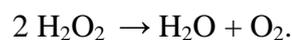
Les (SOD) représentent la première ligne de défense pour éliminer les ROS et ce sont les enzymes antioxydantes les plus importantes (Higashi et *al.*, 2009; Wassmann et *al.*, 2004). Ce sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et d'oxygène (Huang, 2001).



Chez les mammifères cette famille comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) (Antwerpen, 2006) ; qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD) (Huang, 2001).

b. Les catalases (CAT)

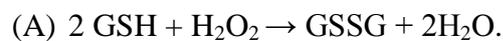
Elle est composée de quatre sous-unités contenant chacune un hème et elle n'utilise pas des cofacteurs enzymatiques. Le rôle principal de la catalase est la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène (Powers et Jackson, 2008) :



La catalase présente dans tous les organes est particulièrement concentrée dans le foie, et à l'état libre se trouve dans le plasma. Dans les hématies, la CAT protège la membrane plasmique et les tissus traversés du peroxyde d'hydrogène produit par la dismutation du radical superoxyde, lui-même issu des auto-oxydations de l'hémoglobine (Halliwell et Gutteridge, 2008).

c. Les glutathion peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine ayant une activité enzymatique, formée de quatre sous-unités identiques (homotétramère), chaque sous-unité contient un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (Raman et Berry, 2011). La (GPx) est réduite d'une part par le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau (A), et d'autre part par les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (B). Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Halliwell et Gutteridge, 2008 ; Raman et Berry, 2011) :



d. Les glutathion réductases (GRD)

C'est une flavoenzyme homodimérique ; chaque sous-unité contient du FAD au niveau de son site actif, la (GRD) permet de régénérer le GSH à partir du GSSG (Raman et Berry, 2011). La glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH qui réduit d'abord le FAD en FADH₂. Le FADH₂ est ensuite une source d'électrons sur un pont disulfure –S–S– de l'enzyme qui réduit à son tour le GSSG en GSH (Halliwell et Gutteridge, 2008).

1.5.2. Antioxydants non-enzymatiques

1.5.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène

a. Glutathion (GSH/GSSG)

C'est un tripeptide formé de glycine, cystéine et de glutamate (Raman et Berry, 2011). Il est considéré comme le principal antioxydant non enzymatique intracellulaire (Valko, 2011). Le glutathion possède deux formes l'une oxydée (GSSG) et l'autre réduite (GSH). Ces deux états forment le couple redox (GSSG/GSH). La capacité antioxydante du glutathion réside dans la présence d'un groupement thiol (–SH) présent sur la cystéine réduite.

Le GSH réagit très bien avec de nombreux ERO comme les radicaux HO[•], RO[•], RO₂[•], les radicaux centrés sur le carbone R[•], ClO[•], ONOO[•], et l'oxygène singulet. (Raman et Berry, 2011).

b. Acide urique

C'est le produit de dégradation des composés puriques comme la xanthine et l'hypoxanthine (Villasante *et al.*, 2010). Il réagit avec plusieurs espèces réactives aux potentialités oxydantes fortes comme ROO^\bullet , HO^\bullet , ONOO^- , NO_2^\bullet et l'oxygène singulet. Cette réactivité donne naissance au radical urate stable grâce à la délocalisation de l'électron célibataire sur son noyau purine, l'urate est très bien réduit par l'acide ascorbique (vitamine C), intégrant bien l'urate au sein de la défense antioxydante (Halliwell et Gutteridge, 2008).

c. Bilirubine

La bilirubine est le produit final de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiqques. La dégradation de l'hème en biliverdine est fait par une enzyme appelée l'hème oxydase (HO) qui est retrouvée dans le réticulum endoplasmique. Après la biliverdine est transformée en bilirubine grâce à la biliverdine réductase présente dans le cytosol.

La bilirubine possède des propriétés antioxydantes envers plusieurs espèces réactives tel que le ONOO^- et $\text{l}'\text{O}_2$ (Paredi *et al.*, 2002 ; Halliwell et Gutteridge, 2008), aussi elle intervient dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (Paredi *et al.*, 2002).

1.5.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène

Ces antioxydants ne sont pas synthétisés par l'organisme mais doivent être apportés par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, et polyphénols (Vertuani *et al.*, 2004). Egalement quelques oligo-éléments comme le sélénium et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes antioxydants (Pincemail et Defraigne , 2004).

a. Vitamine C

La vitamine C ou l'acide L-ascorbique est considérée comme le principal antioxydant hydrosoluble. Elle possède une très bonne réactivité envers plusieurs ERO comme le HO^\bullet , le O_2^\bullet , le NO_2^\bullet , $\text{l}'\text{O}_2$ (Carr et Frei, 1999). Ainsi, elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) (Chen *et al.*, 2000) , qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Valko, 2011).

b. Vitamine E

La vitamine E est considérée comme l'antioxydant liposoluble le plus important (Halliwell et Gutteridge, 2008). Leur forme naturelle inclue quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable dont l'alphatocophérol (α -TocH) est la forme la plus active.

La vitamine E est un bon protecteur des lipides contre la peroxydation lipidique. En effet, elle réagit très rapidement avec les radicaux peroxydes lipidiques (Halliwell et Gutteridge, 2008).

c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes forment un groupe de pigments colorés retrouvés et synthétisés dans de nombreuses cellules végétales et sont divisés en caroténoïdes à chaîne oxygénée et ceux à chaîne non oxygénée. Certains caroténoïdes (surtout les β -carotènes) sont des précurseurs de la vitamine A.

In vivo, les capacités antioxydantes des caroténoïdes sont donc bien supérieures à leur capacité pro-oxydante, notamment en présence d'un foyer de peroxydation lipidique (Halliwell et Gutteridge, 2008).

d. Polyphénols

Sont des molécules possédant plus de deux groupes aromatiques $-OH$ et au moins un noyau aromatique benzène. Les polyphénols sont impliqués dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant grâce à leurs propriétés antioxydantes (Rock, 2003), et peuvent inhiber la peroxydation lipidique et détruisent certaines espèces réactives telles que $HO\cdot$ et $NO_2\cdot$ par abstraction d'un de leurs atomes d'hydrogène. Certains peuvent réagir directement avec l'ion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ (Halliwell et Gutteridge, 2008).

e. Zinc

Le zinc joue un rôle de cofacteur dans la SOD1, il pourrait agir comme antioxydant en déplaçant le fer (particulièrement ionique) des sites de fixation, inhibant alors la synthèse d'espèces réactives rendue possible ou facilitée par sa présence (Halliwell et Gutteridge, 2008).

2. Gingembre «*Zingiber officinale*»

2.1. Historique

Le terme « Gingembre » est dérivé du nom Anglais ginvere. Cette plante est aussi appelé Zingiberis en grec et Zingiberi en latin (Bode et Dong, 2011), bien que dans la médecine indienne le *Zingiber officinale* est connu en tant que «vishwabhesaj», qui veut dire «remède universel» (Speck et *al.*, 2014).

Depuis plus de 3000 ans, cette plante médicinale ou bien épice orientale (Figure 3) a traversé la mer Méditerranée pour la première fois grâce aux phéniciens pour arriver à l'Europe durant l'Empire romain dès le premier siècle (Gigon, 2012). Le gingembre s'est répondu après dans l'Egypte antique comme un composant des techniques de momification. La production de gingembre comme une racine tonique est apparue depuis plus de 5000 ans chez les Indiens et les Chinois pour traiter de nombreuses affections. Aujourd'hui cette plante est cultivée dans les régions tropicales humides, bien que l'Inde reste le plus grand producteur (Bode et Dong, 2011).



Figure 3. Rhizomes de gingembre (www.vitaality.fr).

2.2. Description botanique de gingembre (*Zingiber officinale*)

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

2.2.1. Partie souterraine

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

2. 2.2. Partie aérienne

Cette partie est formée des feuilles et d'une tige de 1.50 mètre et peut atteindre 3 mètre de hauteur (Braga *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012). On trouve deux sortes de tiges ; les hautes tiges qui sont stériles, servent à l'assimilation et portent des feuilles alternes, longues et étroites, alors que les basse tiges servent à la reproduction et ne présentent pas de feuilles (Braga *et al.*, 2006).

Les fleurs de cette plante sont parfumées, blanches et jaunes, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (Faivre *et al.*, 2006)(Figure 4) .



Figure 4. *Zingiber officinale* Roscoe (Gigon, 2012).

2.3. Classification

Cette plante est classé comme suit ;

Tableau I. Classification de la plante (Jolad *et al.*, 2005).

Règne	Végétal	Ordre	Zingiberales
Sous- Règne	Trachéophytes	Famille	Zingiberaceae
Classe	Liliopside	Genre	Zingiber
Sous- Classe	Zingiberidae	Espèce	<i>Zingiber officinale</i>

2.4. Compositions chimiques et molécules bioactives

La majorité des composants chimiques sont situés principalement dans le rhizome, ce dernier contient essentiellement :

- L'amidon (60%), des protéines et des lipides (10%) et 10 à 40 ml/kg d'huile essentielle (volatile) qui est constitué de :

Mono et sesquiterpènes dont les sesquiterpènes représentant le principale composant (30 à 70 % de l'huile essentielle) (Bruneton, 2009 ; Zadeh et Kor, 2014). Ces huiles sont variables selon l'origine géographique, les conditions agronomiques, et si les rhizomes sont frais ou sec (Mishra et *al.*, 2012).

- L'oléorésine contient des composés phénoliques responsables du goût piquant : shogaol, [6]-gingérol, paradol, zingérone (Gigon, 2012) (Figure 5) et des composés responsables de la saveur très marqué de la drogue sèche ([6]-gingérol) (Bruneton, 2009).

- Le gingembre contient également quelques flavonoïdes comme la quercétine, la rutine, fisétine, morine, acide gallique, acide ferulique, acide vanillique (Ghasemzadeh et *al.*, 2010).

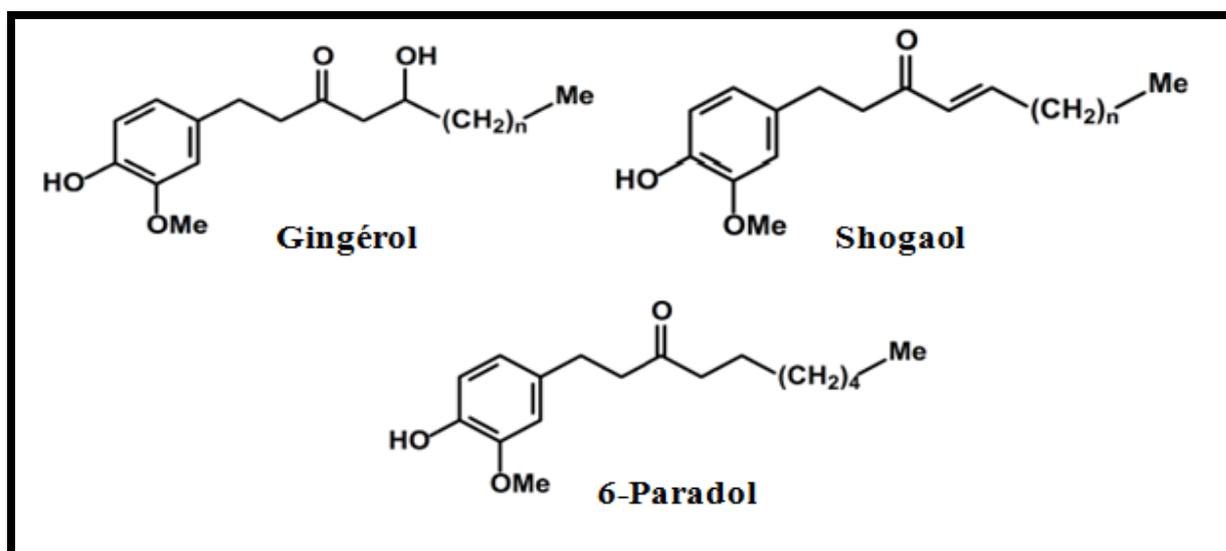


Figure 5. Quelques composants bioactifs de gingembre (Banerjee et *al.*, 2011).

Ainsi que les valeurs nutritionnelles du gingembre sont listées dans le (Tableau II).

Tableau II. Composition nutritionnelle de gingembre (Neveu et *al.*, 2010 ; Kubra et Rao , 2012 ; Mahdi et *al.*, 2013 ; Rashidian et *al.*, 2014 ; Al-Nahain et *al.*, 2014).

Nutriment	Quantité par 100 g	% De l'apport journaliers recommandés
Energie	332 Kcal	17%
Eau	9.94 g	-
Protéines	8.98 g	18%
Lipides	4.24 g	6%
Oil		
Acide Gras saturés	2.6 g	-
Oméga 3	0.223 g	2%
Oméga 9	0.357 g	-
Glucides	57.5 g	21%
Sucre	3.34 g	4%
Fibres	14.1 g	56%
Minéraux et oligo-éléments		
Calcium	114 mg	14%
Cuivre	0.48 mg	48%
Fer	19.8 mg	141%
Magnésium	214 mg	57%
Manganèse	33.3 mg	-
Phosphore	168 mg	24%
Potassium	1320 mg	66%
Sélénium	0.70 mg	1%
Sodium	27 mg	1%
Zinc	3.64 mg	36%
Vitamines		
Vitamine A	18 µg	2%
Vitamine B1	0.046 mg	4%
Vitamine B2	0.17 mg	12%
Vitamine B3	9.62 mg	60%
Vitamine B5	0.477 mg	8%

Vitamine B6	0.626 mg	45%
Vitamine B9	34 µg	17%
Vitamine C	5 mg	7%
Vitamine E	0.26 mg	2%
Métabolites secondaires		
[6]- Gingerol	21.15 mg	-
Lignanes	0,2 mg	-
Polyphénols totaux	0,2 mg	-
Le gingembre contient 46% de protéines complètes		
Acides aminés essentiels	mg /g de protéine	%
Histidine	16	92%
Isoleucine	28	100%
Leucine	41	74%
Lysine	31	61%
Méthionine + Cystine	12	46%
Phénylalanine + Tyrosine	36	76%
Threonine	20	73%
Tryptophane	7	94%
Valine	40	100%

2.5. Usages thérapeutiques

Au cours des dernières années le gingembre est utilisé pour traiter certaines anomalies (Malhotra et Singh, 2003) en raison de ses activités biologiques.

2. 5.1. Action anti-inflammatoire

Le gingembre permet d'abaisser certaines douleurs grâce à ces composées shagoal, [6]- gingérol et paradol :

- Les douleurs musculaires et articulaires (l'arthrite, l'arthrose et les rhumatismes).
- Les blessures et les fractures.
- Les œdèmes et les douleurs intestinales (Grzanna et *al.*, 2005).

Aussi bien, le gingembre modulerait certaines voies biochimiques activées lors d'une inflammation (Grzanna et *al.*, 2005) où le [6]- gingérol est un puissant inhibiteur de la synthèse du monoxyde d'azote, des prostaglandines E2 par inhibition de COX-1, COX-2 (Efthimiou et Kukar, 2010).

2.5.2. Action hypoglycémiante

Le gingembre baisse la glycémie et permet une meilleure résistance à l'insuline, de ce fait il est conseillé pour les personnes diabétiques (Mobasseri et *al.*, 2013; Mozaffari et *al.*, 2014).

2.5.3. Activité anti- bactérienne et antivirale

Les études récentes réalisées sur l'huile, l'oléorésine, les extraits et les molécules actives du gingembre dévoilent diverses propriétés, soit activité antivirale respiratoire, anti-VIH1 (Lee et *al.*, 2008; Chang et *al.*, 2013; Schnitzler et *al.*, 2007); soit activité antibactérienne. Il réduit les symptômes de la fièvre, les états grippaux, la toux, les angines, l'asthme et les allergies (Platel et Srinivazan, 2004).

2.5.4. Action antioxydante

Le gingembre entre dans la formulation de produits cosmétiques comme les poudres de massage. Il est très intéressant sur le plan cosmétique puisqu'il contient plusieurs composés antioxydants. Ces derniers protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (un des facteurs responsables du vieillissement cutané). Il contient également du cuivre, nécessaire à la formation du collagène (protéine servant à la structure et la réparation des tissus cutanés). Des études ont montré son effet sur les rides et l'élasticité de la peau (Baobab, 2011). Cette propriété antioxydante de *Zingiber officinale* est liée au gingérol qu'il contient (Sharma et *al.*, 2009).

Aussi la consommation de gingembre aide à lutter contre l'action des radicaux libres et de prévenir les maladies neurodégénératives et certains cancers comme le cancer de la prostate (Aggarwal et Shishodia, 2006 ; karna et *al.*, 2012). Aussi bien il améliore l'efficacité d'un traitement du cancer cervical (Sharma et *al.*, 2009).

2.5.5. Autres utilisations

- En Asie, le gingembre est utilisé comme plante médicinale pour soigner les problèmes d'estomac et la diarrhée (Platel et Srinivazan, 2004).
- Plusieurs essais cliniques sur des femmes enceintes, ont démontré que le gingembre était plus efficace que la vitamine B6 et aussi efficace qu'un traitement sur les nausées et les vomissements pendant la grossesse. Cette propriété antiémétique s'est confirmée pour la prévention des patientes en chirurgie postopératoire (gynécologie, laparoscopie) (Gigon, 2012).

- Son goût piquant est parfois utilisé pour masquer le goût désagréable d'autres médicaments (Van Wyk et Wink, 2004).
- L'association d'un repas protéiné à du gingembre diminue de façon importante les nausées retardées observées après une chimiothérapie et permet de réduire l'utilisation d'un traitement antiémétique (Gigon, 2012).
- Cette plante possède un effet antiulcéreux très proche de celui du médicament « Omeprazole » (Uz Zaman et *al.*, 2014).
- Le gingembre a été utilisé aussi en médecine vétérinaire *in vivo* comme vermifuge de nématodes gastrointestinaux des moutons (Iqbal et *al.*, 2006).

Matériel

et

méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les rhizomes utilisés dans ce travail sont achetés au niveau du marché du kharoub, ces rhizomes sont frais d'origine chinoise et leur genre est de « *Zingiber officinale* » (Figure 6).



Figure 6 . Rhizomes de gingembre frais.

1.2. Produits chimiques

Les réactifs et les solvants utilisés sont :

Méthanol , Ethanol , Chloroforme , Eau distillé ,TCA (Acide trichloroacétique), Carbonate de Sodium , Folin Ciocalteu , $AlCl_3$ (trichlorure d'aluminium), DPPH (diphényl picryl-hydrazyl), Quercétine , l'Acide gallique , Potassium Fer Cyanide , $FeCl_3$ (Trichlorure de fer) ,Tampon phosphate, tous les produits précédemment cités proviennent de la firme Sigma.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'homogénat de gingembre

- Premièrement, on a lavé plusieurs fois les rhizomes de gingembre (Figure 7A).
- Puis, on a les épluché (Figure 7B) et coupé à l'aide d'un couteau (Figure 7C) en petits morceaux (Figure 7D).
- Ensuite, les petits morceaux ont été met dans le mixeur (Figure 7E) pour les broyer (Figure 7F) jusqu'à l'obtention d'une homogénat du gingembre (Figure 7G).
- Finalement on a mis l'homogénat du gingembre dans une boîte et on la conservé dans le réfrigérateur à une température de (3 à 4°C) jusqu'à son utilisation (Figure 7H).

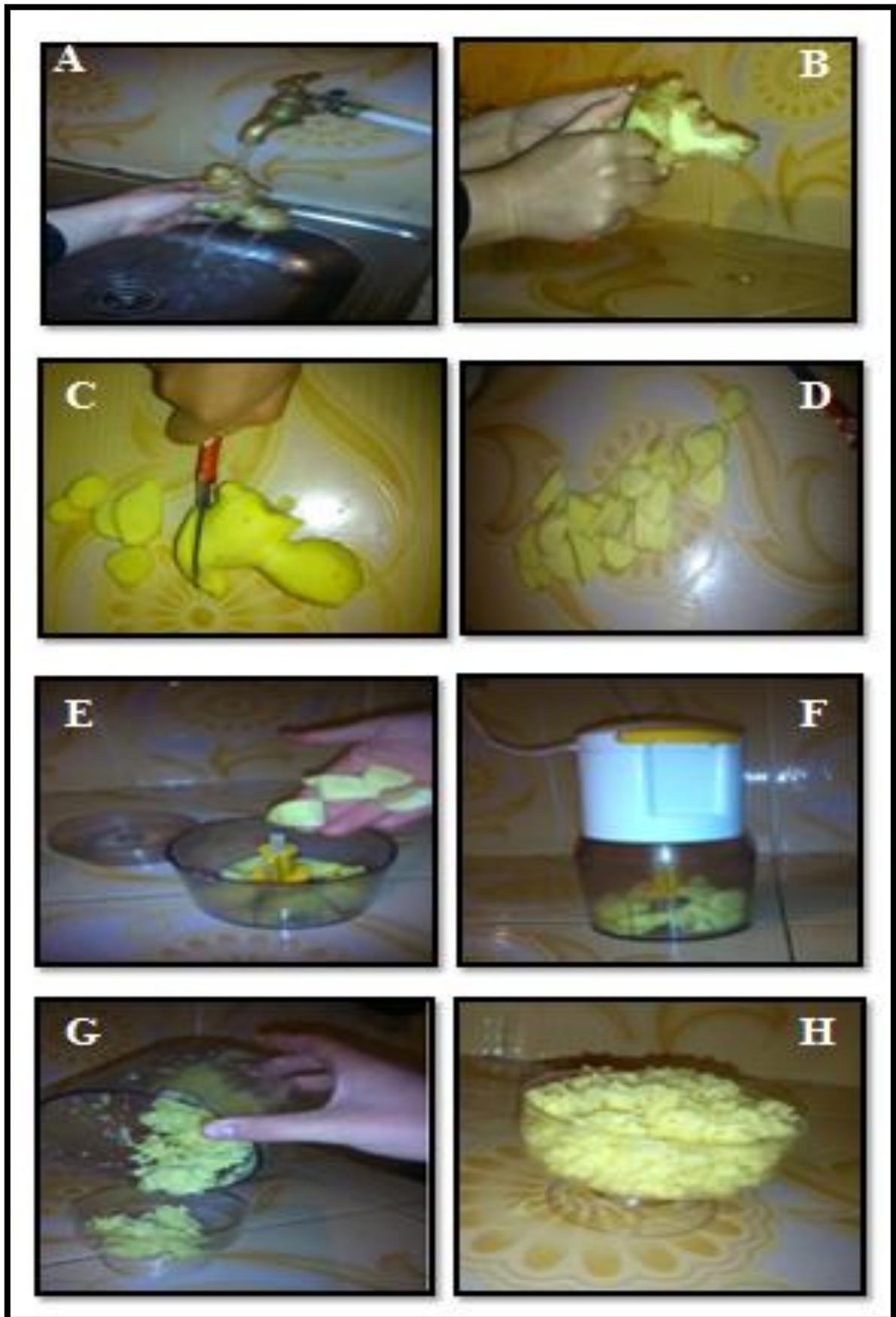


Figure 7. Etapes photographiques de la préparation d'un homogenat du *Zingiber officinale*.

2.2. Extraction et fractionnement de l'huile de *Zingiber officinale*

L'extraction et le fractionnement de l'huile de *Zingiber officinale* sont réalisés selon la méthode de Modified Bligh–Dyer (Kim, 1992).

Cette méthode consiste à peser 50 g de l'homogénat du gingembre précédemment préparée et les mettre dans un mélange de solvants (50 ml Chloroforme + 100 ml Méthanol) (Figure 8A) puis on a soumis le mélange à une agitation pendant 2 min à l'aide d'un agitateur. Ensuite, 50 ml de chloroforme sont ajoutés à ce mélange (Figure 8B) sous agitation pendant 1 min (Figure 8C). Finalement, 50 ml d'eau distillé sont ajoutés et soumis à l'agitation pendant 1min (Figure 8D), le mélange est filtré à travers le papier filtre (diamètre : 15 cm) (Figure 8E). Le filtrat obtenu est transféré dans une ampoule à décanter et laissé pendant quelques minutes pour la séparation complète et l'apparition de deux phases (Figure 8F). La phase chloroformique est récupérée (Figure 8G) et elle est soumise à l'évaporation à l'aide d'un rotavapeur sous pression réduite à 40°C (Figure 8H). L'extrait résultant constitue l'huile totale de *Zingiber officinale* caractérisée par une couleur jaune (Figure 8I).

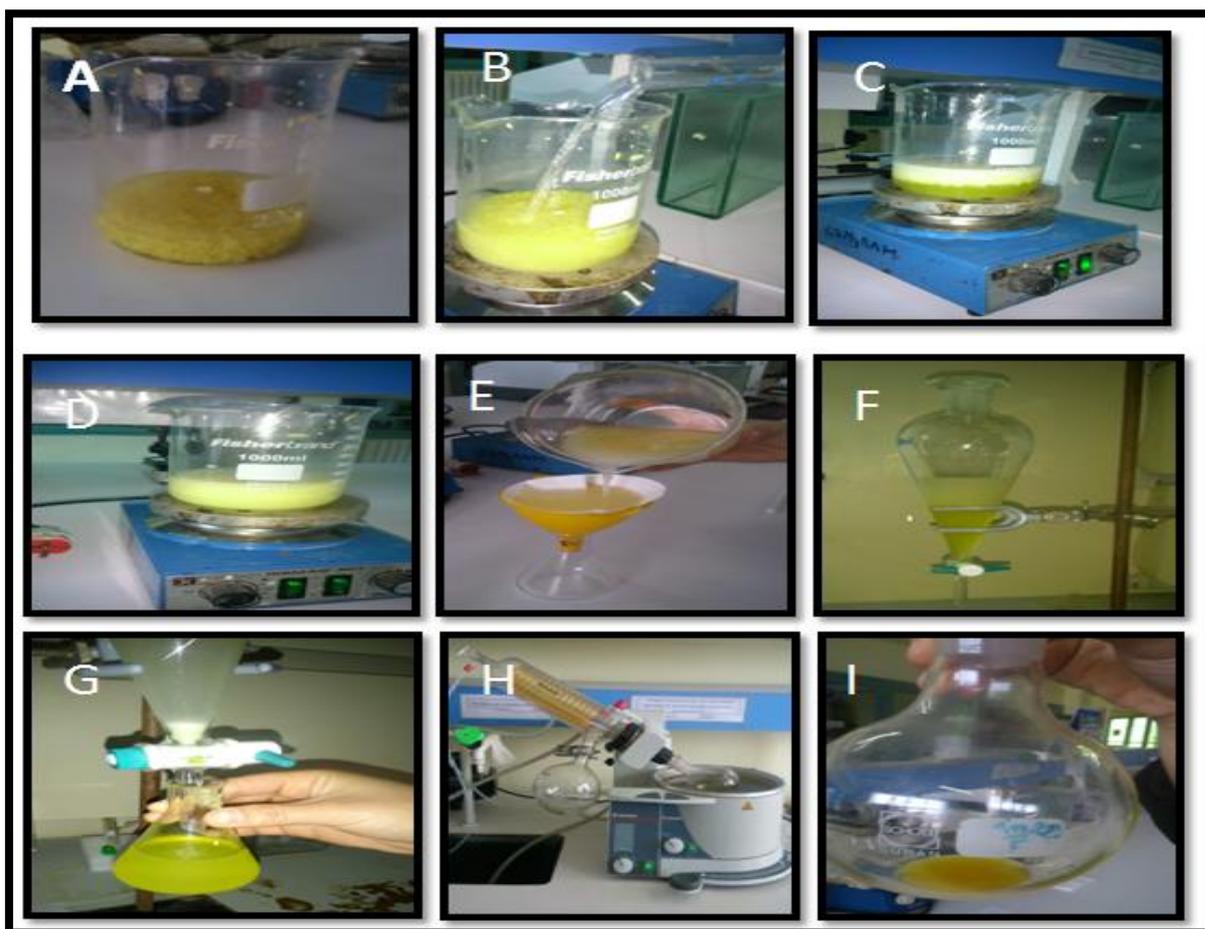


Figure 8. Etapes photographiques de l'extraction et le fractionnement de l'huile de *Zingiber officinale*.

2.3. Tests phytochimiques

2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu rapportée par (Li et *al.*, 2007). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin du mélange phosphotungstique (WO_4^{2-})- phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation d'un produit de couleur bleu-vert. Ce produit présente un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé et *al.*, 2005).

Brièvement, 1 ml du réactif de Folin (dilué 10 fois) est ajouté à 200 μl d'échantillon ou standard avec des dilutions convenables. Après 4 min d'incubation, 800 μl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation, à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0,5-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (μg EAG/g d'extrait).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour le dosage des flavonoïdes (Bahorun et *al.*, 1996). À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans l'éthanol) est ajouté 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est calculée à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) comme standard et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (μg EQ/g d'extrait).

2.4. Activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante des fractions de *Zingiber officinale* a été réalisée suivant deux mécanismes: la capacité de piéger un radical libre (DPPH) et la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} .

2.4.1. Test du DPPH

Cette méthode utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits (Mansouri et *al.*, 2005). Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, (Fig. 9) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

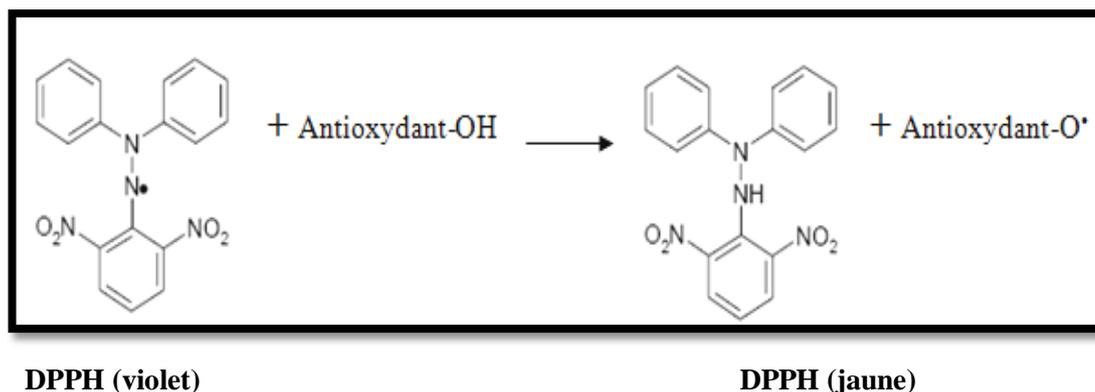


Figure 9. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Pour la préparation de la solution de DPPH ; 2,4 mg de ce dernier est solubilisé dans 100 ml de méthanol. Ensuite, 25 μ L de l'échantillon ou standard (quecétine) sont ajoutés à 975 μ L DPPH, le mélange est incubé pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \left[\frac{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}}{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle}} \right] \times 100.$$

2.4.2. Test du pouvoir réducteur

Le test de pouvoir réducteur est déterminé par la méthode décrite par Prasad et ses collaborateurs (2009). Le principe de cette méthode consiste à évaluer l'aptitude de l'échantillon à donner un électron pour convertir le Fe^{3+} en Fe^{2+} , cette forme est quantifiée par la mesure de la couleur bleu du complexe (bleu de Pruss $\text{Fe}_4 [\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$) qui absorbe à 700 nm. Une absorbance élevée indique que l'échantillon possède un grand pouvoir réducteur (Barros et *al.*, 2007).

Brièvement, 700 μ l du tampon phosphate (0,2M, pH=6,6) et 700 μ l de 1% de potassium ferricyanide sont ajoutés à 25 μ l des différentes concentrations de l'huile totale. Après 20 min d'incubation à 50 °C, 700 μ l d'une solution aqueuse de TCA à 10% sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 10 min d'incubation à température ambiante, 700 μ l d'eau distillée et 125 μ l de 0,1% FeCl_3 sont ajoutés à 1,25 ml du surnageant, puis l'absorbance est déterminée à 700 nm contre un blanc contenant tous les réactifs en absence de l'échantillon. Les résultats sont exprimés en concentration effective à 50 % (EC_{50}) qui traduit la concentration d'antioxydant nécessaire pour l'obtention de 0,5 d'absorbance.

Résultats
et
discussion

1. Rendement de l'extraction

L'extraction de l'huile totale à partir des rhizomes de *Zingiber officinale* d'origine chinoise, a été effectuée selon la méthode de (Modified Bligh–Dyer) (Kim, 1992). Dans cette étude, le rendement de l'huile totale est de 6,810 g par 50 g de poids des rhizomes (13,62%) (Tableau III).

Tableau III. Rendement de l'extrait chloroformique de *Zingiber officinale*.

Extrait	Rendement %
Huile totale	13,62

Les résultats obtenus montrent que l'extrait chloroformique des rhizomes de *Zingiber officinale* présente un rendement de 13,62% d'huile totale par rapport au poids totale des rhizomes (50g des rhizomes frais).

Ces résultats sont différents à ceux trouvés par Amari Sihem (2016) (2,29% par rapport au 25g de poudre) et ceux de Ogudo et *al.*, (2014) (1,62 % par rapport au 25g de poudre). Cela pourrai être lié à l'origine géographique, les conditions agronomiques, et si les rhizomes sont frais ou sec (Mishra et *al.*, 2012) .

2. Tests phytochimiques

2.1. Dosage des polyphénols totaux

Afin de déterminer la teneur en polyphénols dans l'huile totale de *Zingiber officinale* un dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode de folin-ciocalteu. La réaction donne une couleur bleu et nous avons utilisé la gamme d'étalonnage d'acide gallique ($y = 0,491 x + 0,094$, $R^2 = 0,996$).

Les résultats sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique μg (EAG) / g d'extrait et sont représentés dans le (Tableau IV) et la gamme d'étalonnages dans la (Figure 10). Les résultats obtenus ont montrés que la teneur en polyphénols totaux est 3,56 μg (EAG)/g d'extrait.

Tableau IV. Dosage des polyphénols totaux de l'extrait chloroformique de *Zingiber officinale*.

Extrait	Teneur en acide gallique μg EAG/g d'extrait
Huile totale	3,56

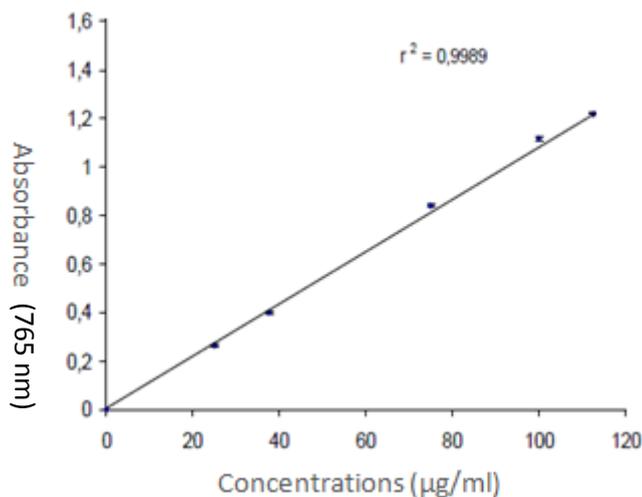


Figure 10. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

2.2. Dosage des flavonoïdes

Pour la détermination quantitative des flavonoïdes de l'huile totale de *Zingiber officinale*, selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Baharun *et al.*, 1996), on a utilisé comme standard la quercétine dont la gamme d'étalonnage est ($y = 0,001 x + 0,290$, $R^2 = 0,705$) (Figure 11). Les résultats sont exprimés en μg équivalent de quercétine μg (EQ) / g d'extrait (Tableau V). Les résultats obtenus ont montrés que la teneur en flavonoïdes est 5 μg (EQ) /g d'extrait.

Tableau V. Dosage des flavonoïdes dans l'extrait chloroformique de *Zingiber officinale*.

Extrait	Teneur en quercétine μg (EQ /g d'extrait)
Huile totale	5

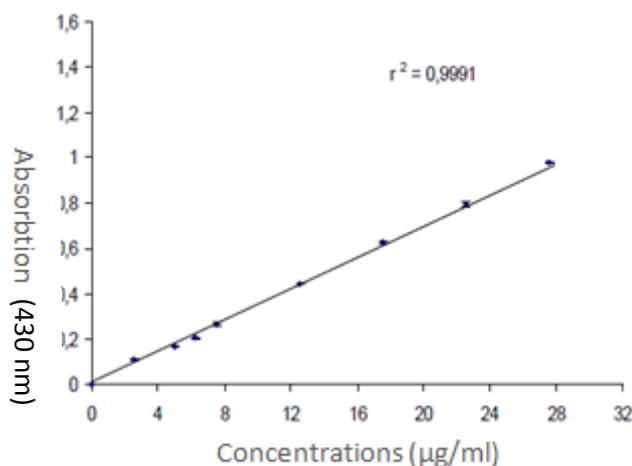


Figure 11. Droite d'étalonnage de la quercétine.

Nos résultats montrent que la teneur de l'huile en polyphénols et flavonoïdes est de 3,56 µg (EAG)/g d'extrait et 5 µg (EQ)/g d'extrait respectivement.

Ces résultats sont similaires à ceux réalisés par Amari Sihem (2016) et Bhargava et al., (2012) sur l'extrait de cette plante, ils ont montrés que l'huile totale en polyphénols et flavonoïdes.

Les rhizomes de *Zingiber officinale* ont été soumis à une extraction en utilisant des solvants de polarité différente (le méthanol/ eau et le chloroforme). Cette différence de polarité permet d'extraire une large gamme de métabolites secondaires de la plante (Green, 2004). La composition, ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait, peuvent être influencée par plusieurs facteurs tel que le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et extraire les composés de polarité similaire au solvant (Green, 2004 ; Ncube et al., 2008) .

3. Activité antioxydante *in vitro*

3.1. Test de DPPH

Pour estimer l'activité antioxydante de l'huile totale de *Zingiber officinale in vitro*, l'effet scavenger du radical DPPH à été évaluée spectrophotométriquement suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm .

Tableau VI. IC₅₀ de l'huile totale de *Zingiber officinale*.

Extrait	IC₅₀ (mg /ml)
Huile totale	0,04

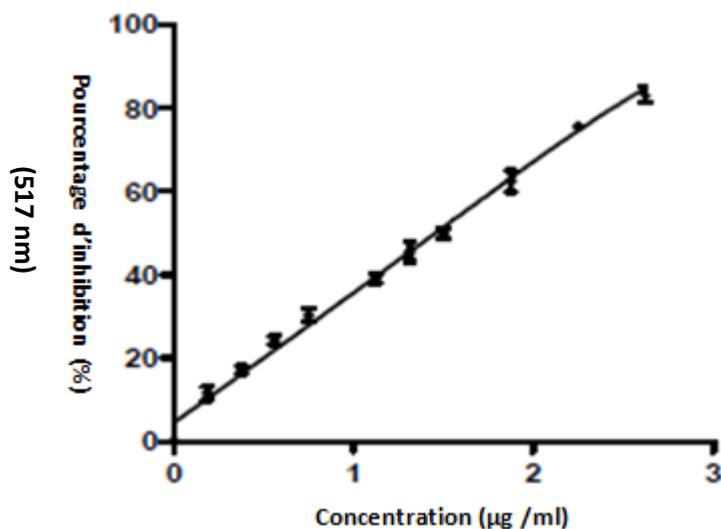


Figure 12. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par différentes concentrations de la quercétine.

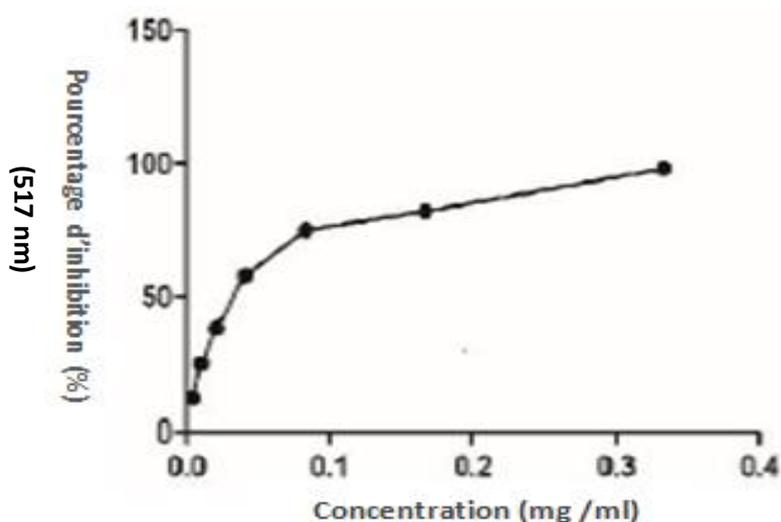


Figure 13. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile de *Zingiber officinale*.

Les résultats montrent que le radical DPPH présente une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons suivie de l'apparition de la coloration jaune.

Ce changement met en évidence le pouvoir antioxydant d'huile de *Zingiber officinale* par sa capacité à piéger le radical libre. Aussi ces résultats, montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile totale ce qui a permis l'obtention des courbes logarithmiques (Figures 12 et 13), cela indique que l'huile totale possède une activité antioxydante importante avec une IC_{50} de 0,04 (mg/ml) (Tableau VI).

Notre résultat est similaire à ceux trouvés par Amari Sihem (2016) et qui montrent que le *Zingiber officinale* possède une activité antioxydante considérable avec une IC₅₀ de 1,29 mg/mL, localisée principalement dans l'huile totale de leurs rhizomes.

3.2. Test du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur de l'huile totale de *Zingiber officinale* se manifeste avec le changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au bleu-vert. Ce changement évalue l'aptitude d'échantillon à donner un électron et la réduction de Fe³⁺ qui reflète leur pouvoir antioxydant. Le pouvoir réducteur est exprimé par la concentration effective à 50 % (EC₅₀) (Tableau VII) (figure 14 et 15). EC₅₀ est la concentration qui permet d'obtenir une absorbance de 0,5 à 700 nm.

Tableau VII. EC₅₀ de l'huile totale de *Zingiber officinale*.

Extrait	EC ₅₀ (mg /ml)
Huile totale	1,74

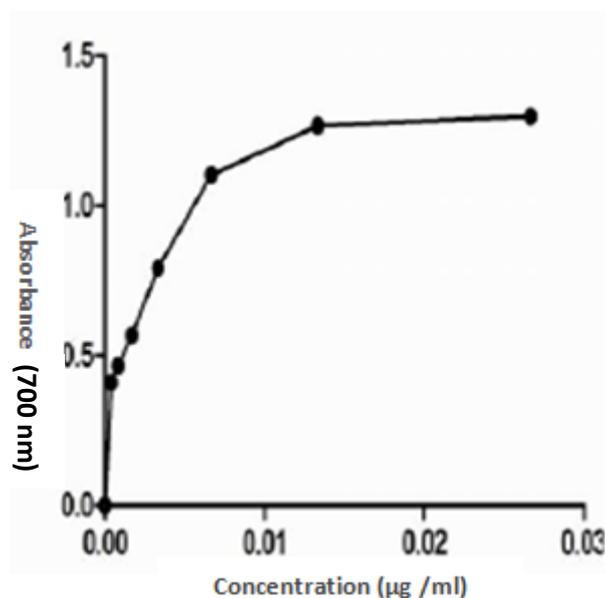


Figure 14. Pouvoir réducteur de la quercétine.

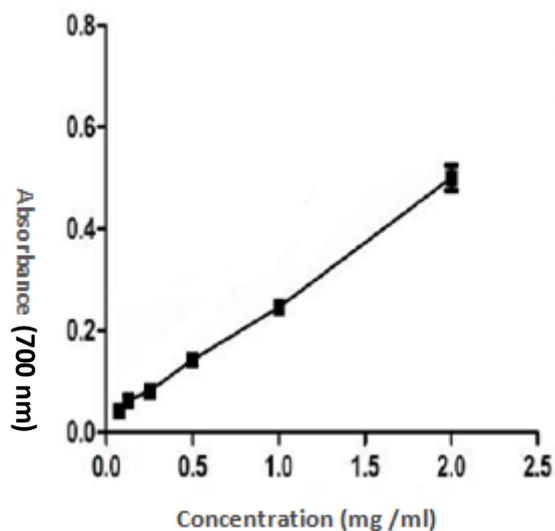


Figure 15. Pouvoir réducteur de l'huile totale de *Zingiber officinale*.

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a un changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au bleu-vert, ce qui montre que l'huile totale de *Zingiber officinale* présente une capacité antioxydante avec une EC_{50} de 1,74 mg/ml.

4. Discussion générale

L'activité antioxydante exprime le pouvoir de réduction des ROS. La capacité antioxydante de l'extrait chloroformique du gingembre est réalisée par le test du DPPH, ce radical libre est caractérisé par une coloration violette intense, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la couleur vire vers le jaune, l'intensité de coloration témoigne de la puissance de la substance anti-radicalaire.

Nos résultats montrent que le gingembre présente un très bon pouvoir antioxydant de DPPH, ceci est confirmé par la bibliographie, en effet, Stoilova et ses collaborateurs (2007) ont trouvés que les oléorésines qui sont présentés dans l'extrait du gingembre possèdent une très bonne capacité scavenger de 90% avec une IC_{50} de 0,64 mg/ml. Un autre test est utilisé pour évaluer l'effet antioxydant qui est le pouvoir réducteur, ce test a permis de vérifier l'aptitude de échantillon à donner un électron et la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} , l'effet antioxydant se caractérise par une diminution de l'intensité de la couleur

La capacité antioxydante du gingembre est principalement due à la présence des huiles essentielles et d'oléorésines. Plusieurs études confirment que les groupes phénoliques présents dans les huiles essentielles et les oléorésines tels que l'eugenol, les shogaols, le zingerone, les gingerdiols, les gingerols, le diacetoxy-[6]-gingerdiol jouent un rôle scavenger très important envers le radical DPPH (Sekiwa et *al.*, 2000 ; Singh et *al.*, 2008). Le pouvoir antioxydant des polyphénols est du a leurs capacités de donner l'hydrogène (Stoilova et *al.*, 2007).

Conclusion

et

perspectives

Dans cette étude, la propriété anti-oxydante de l'huile des rhizomes de *Zingiber officinale* est évaluée *in vitro* et cette activité est limitée à deux tests ; la capacité de piéger le radical libre DPPH et la capacité à réduire Fe^{+3} en Fe^{+2} .

Dans une première étape, nous avons procédé à l'extraction de l'huile totale à partir des rhizomes de *Zingiber officinale* puis a dosé les polyphénols et les flavonoïdes. Ensuite, on a terminé par l'évaluation de l'activité antioxydante.

Le pouvoir antioxydant de l'huile de gingembre est intéressant comparativement aux antioxydants standard qui est capable de réduire les radicaux libres responsable en leurs donnant des atomes d'hydrogènes. Egaleme nt elle est dotée d'un pouvoir réducteur des métaux.

Au vue des effets obtenus *in vitro*, les perspectives médicinales de l'huile de *Zingiber officinale* sont donc très prometteuses mais les essais *in vivo* et d'autres tests cliniques manquent. Cette étude pourrait être complétée par d'autres essais afin de développer des approches appropriées dans le but d'une éventuelle application chez l'homme.

*Références
bibliographiques*

- Abreu I.A. et Cabelli D.E. (2010). Superoxide dismutases-a review of the associated mechanistic variations. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804: 263-274 p.
- Aggarwal BB et Shishodia S. (2005). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* May 14, 71(10):1397-421 p.
- Al-Nahain A, Jahan R, Rahmatullah M. (2014). *Zingiber officinale*: A Potential Plant against Rheumatoid Arthritis. *Arthritis*, 89-159 p.
- Amari Sihem (2016). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de deux extraits de la plante *Zingiber officinale*. Mémoire Master En Sciences Biologiques, 40-43 p.
- Antwerpen P. V. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène / Clilorure. Thèse de Doctorat en Science Pharmaceutiques Bruxelles.
- Atamer, A. (2008). The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J. Int. Med. Res*, 36: 771-776 p.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46: 1086-1089 p.
- Banerjee S, Mullick H I, Banerjee J. (2011). *Zingiber officinale*: a natural gold. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*; 2: 0975-6299 p.
- Baobab des saveurs. (2011). Fiche technique de la poudre gingembre. Sénégal
- Beagehold MA. (1998). Heterogeneity of endothelial function within the circulation. *Curr Opin Nephrol Hypert*, 7:71-8 p.
- Barouki R. (2006) Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22: 266-72 p.
- Barros L, Ferreira MJ, Queiros B, Ferreira ICFR and Baptista (2007). Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 103: 413-419 p.
- Bhargava S., Dhabhai K., Batra A., Sharma A. et Malhotra B. (2012). *Zingiber Officinale*: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(1): 360-364 p.
- Bode AM et Dong I F F, Wachtel-Galor S. (2011). *Herbal Medicine-Biomolecular and chemical Aspects*. 2ed Edition CRC Press. Citer dans le Mémoire Master (2015) : Etude de l'effet d'un régime irrégulier du *Zingiber officinale* sur le réarrangement de

- la matrice extracellulaire de différents segments de l'aorte chez les rats Albinos Wistar traité par une dose cytotoxique du DL-Méthionine, 20 p.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris, 317 p.
 - Braga M.E.M., Moreschi S.R.M., Meireles M.A.A. (2006). Effects of Supercritical Fluid Extraction on *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* R. Starches, Carbohydrate Polymers, 63: 340-346 p.
 - Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} édition .Technique et Documentation .Paris, 1269 p.
 - Carr A., Frei B. (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? The FASEB Journal, 13(9) :1007-1024 p.
 - Chang J.S., Wang K.C., Yeh C.F., Shieh D.E., Chiang L.C. (2013). Fresh Ginger (*Zingiber officinale*) has Anti-viral Activity Against Human Respiratory Syncytial Virus in Human Respiratory Tract Cell Lines, Journal of Ethnopharmacology, 145: 146-151 p.
 - Chen K., Suh J., Carr A.C., Morrow J.D., Zeind J., Frei B. (2000). Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. Am J Physiol Endocrinol Metab, vol , 279(6) : 1406-1412 p.
 - Chun O.K., Kim D O., Moon H Y., Kang H G., Lee C Y. (2003).Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums .J. Agric . Food Chem, 51: 7240 -7245 p.
 - Delattre J., Beaudoux J. L., Bonnefont D. et Rousselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques, 87-108 p.
 - Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A. et Lemhadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, 5(4) : 194-203 p.
 - Efthimiou P, et Kukar M. (2010). « Complementary and alternative medicine use in rheumatoid arthritis: proposed mechanism of action and efficacy of commonly used modalities » Rheumatol Int , 571-586 p.
 - Faivre Cl., Lejeune L., Staub H., Goetz P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe, Phytothérapie, 2 : 99-102 p.

- Favier A.(1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Ann. Bio. Clin, 55(1): 9-16 p.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel dans la compréhension des mécanismes et potentiel thérapeutique. Act. Chim, novembre-décembre, 108-115 p.
- Favier .A. (2006). [Oxidative stress in human diseases]. Ann.Pharm.Fr, 64: 390-396 p.
- Finaud J., Lac G., Filaire E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. Sports med, 36(4): 327-358 p.
- Gardès-Albert M. et Jore D. (2005). "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène." Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, 1-23 p.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1370-1373 p.
- Ghasemzadeh A., Jaafar H.Z.E., Rahmat A. (2010) .Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) Varieties, Molecules, 15: 7907-7922 p.
- Gião M.S., Pastana D., Faria A., Guimarães J.T., Pintado M.E., Calhau C., Azevedo I. et Malcata F.X. (2010). Effects of extracts of selected medicinal plants upon hepatic oxidative stress. Journal of Medicinal Food, 13(1): 131-136 p.
- Gigon. F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. Phéto, 10:87-91 p.
- Gil Del Valle L., Hernández R.G. and Ávila J.P. (2013) Oxidative Stress Associated to Disease Progression and Toxicity during Antiretroviral Therapy in Human Immunodeficiency Virus Infection. Journal of Virology and Microbiology, DOI: 10.5171/2013, 279685: 15 p.
- Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazaw K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-déoxythymidine. Free Radical Biology and Medicine, 45: 1318-1325 p.
- Green R.J. (2004). Antioxydant activity of peanut plant tissues. Master's Thesis. Department Of Food Science. Faculty of North Carolina State University (USA).
- Grzanna .R, Lindmark .L et Frondoza .CG.(2005). «Ginger an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions,» Journal Medical of Food, 125-132 p.

- Gutteridge J., Halliwell B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences* 899, (1): 136–147 p.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th edition. Oxford University Press, USA, 704 p.
- Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, 44-61 p.
- Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M. et Kihara, Y. (2009). Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J.*, 73: 411-418 p.
- Huang, T.T. (2001). Genetic modification of prenatal lethality and dilated cardiomyopathy in Mn superoxide dismutase mutant mice. *Free Radic. Biol. Med* 31: 1101-1110 p.
- Hughes I. (2002). Isoprenoid compound and phenolic plant constituents. *Journal Of Pharmacology*, 37 (1): 26-29 p.
- Iqbal Z., Lateef M., Akhtar M.S., Ghayur M.N., Gilani A.H. (2006). *In vivo* Anthelmintic Activity of Ginger Against Gastrointestinal Nematodes of Sheep. *Journal of Ethnopharmacology*, 106: 285-287 p.
- Jolad SD, Lantz RC, Chen G.J., Bates RB, Timmermann BN. (2005). Commercially Processed dry ginger (*Zingiber officinale*) : composition and effects on LPS-stimulated PGE2 Production. *Phytochemistry*, 66 (13):1614-35 p.
- Karna P ,Chagani S ,Gundala SR, Rida PC , Asif G, Sharma V,Gupta MV,Aneja R, Br J Nutr. (2012).Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. Feb, doi: 10.1017 / S0007114511003308. Epub 2011 Aug 18, 107(4):473-84 p.
- Kim LL. (1992). Extraction of lipids. In: *Laboratory manual of analytical methods and procedures for fish and fish products*, ed. Katsutoshi Miwa and Low Su Ji (eds) C-2. Singapore: Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center. Citer dans: *Physicochemical Characteristics of Nigella Seed (Nigella sativa L.) Oil as Affected by Different Extraction Methods*, 534 p.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006) Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20: 165-177 p.

- Kubra IR, Rao LJ. (2012). An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). Crit Rev Food Sci Nutr, 52(8): 651-88 p.
- Lambert J., Heath S., Even G., Campion D., Slegers K., Hiltunen M., Combarros O., *et al.* (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. Nature Genetics, 41: 1094–1099 p.
- Lee J., Koo N. et Min D.B. (2006) – Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 3 (1): 21-33 p.
- Lee H.S., Kim S.-S., Kim G.J., Lee J.-s., Kim E.-J., Hong K.J. (2008). Antiviral Effect of Ingenol and Gingerol during HIV-1 Replication in MT4 Human T Lymphocytes, Antiviral Research, 78 : 44 p.
- Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F and Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry, 102: 771-776 p.
- Loft, S., Møller, P., Cooke, M.S., Rozalski, R. & Olinski, R. (2008). Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker? Eur J Nutr 47 Suppl 2:19- 28 p.
- Mahdi HJ, Andayani R, Aziz I. (2013). Determination of Phylogenetic and Molecular Characteristics of Three Malaysian Ginger Cultivars (*Zingiber officinale Roscoe*) Using Microsatellite DNA. Trop Life Sci Res. Dec, 24(2):65-76 p.
- Malhotra S et Singh A P. (2003). Medicinal proprieties of Ginger (*Zingiber officinale Rosc*). Natural Product Radiance; 2(6):296-301 p.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry; 89: 411-420 p.
- Mishra R K, Kumar A, Kumar A. (2012). Pharmacological Activity of *Zingiber officinale*. *ijpcs*, 1(3):1422-1427 p.
- Mobasseri M, Mahluji S1, Attari VE, Payahoo L, Ostadrahimi A, Golzari SE. (2013). Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on plasma glucose level, HbA1c and insulin sensitivity in type 2 Diabetic patients. Int J Food Sci Nutr. Sept, 64(6):682-6 p.
- Mozaffari-Khosravi H1, Talaei B2, Jalali BA3, Najarzadeh A2, Mozayan MR4 (2014). The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and

- glycémie indices in patients with type 2 diabetes : a randomized , double-blind, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med*. Feb, 22(1):9-16 p.
- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367: 36-47.
 - Neveu V, Perez-Jiménez J, Vos F, Crespy V, du Chaffaut L, Mennen L, Knox C, Eisner R, Cruz J, Wishart D, Scalbert A. (2010) Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. Database, doi: 10.1093/database/ Full text (free access), 24 p.
 - Ncube N.S., Afolayan A.J. et Okoh A.I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, 7(12): 1797-1806 p.
 - Ogudo B.U., Lawal T.O. et Adeniyi B.A. (2014). Extracts of *Zingiber officinale* Rosc. (Ginger) and *Curcuma longa* Linn. (Turmeric) Rhizomes inhibited *Nontuberculous Mycobacteria in vitro*. *Biology, Agriculture and Healthcare*, 12 (4): 95-103 p.
 - Paredi P., Kharitonov S.A., Barnes P.J. (2002). Analysis of expired air for oxidation products. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 166, (supplement 1), 31–37 p.
 - Picchi A. (2006). Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ. Res*, 99: 69-77 p.
 - Pincemail J. et Defraigne J.O. (2004) .Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation» institut Danone. 23/10/2004. Cité dans le Mémoire de Doctorat (2015) Etude chimique et bibliographique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte D'ivoire, 17-18 p.
 - Platel K et Srinivasan K. (2004). Digestive stimulant action of species: a myth or reality? *Indian J Med Res May*, 119(5):167-79 p.
 - Powers S. K., Jackson M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4): 1243-1276 p.
 - Prasad KN, Yang B, Dong X, Jiang G, Zhang H, Xie H and Jiang Y .(2009). Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 627-632 p.

- Raman, Arjun V., and Marla J. Berry. (2011). Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*, 195-208 p.
- Ramirez DC. Gomez-Mejiba SE. Corbett JT., Deterding LJ. Tomer KB. Mason RP. (2008). Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper- and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society*, 10: 1-25 p.
- Rashidian A, Mehrzadi S, Ghannadi AR, Mahzooni P, Sadr S, Minaiyan M. (2014). Protective effect of ginger volatile oil against acetic acid-induced colitis in rats: a light microscopic evaluation. Cité dans le site internet ([https:// www.vitaality.fr](https://www.vitaality.fr)).
- Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A., Goff L.K.L et Had-aissouni L. (2005). Stress oxydatif cérébral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate. Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24: 502-509 p.
- Rock E., (2003) . Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition Clermont- Fenand, 37-42 p.
- Sanchez-Moreno, C. (2002) Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 8: 121-137 p.
- Schnitzler P., Koch C., Reichling J. (2007) .Susceptibility of Drug-Resistant Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop, and Sandalwood, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51: 1859-1862 p.
- Sekiwa Y, Kubota K et Kobayashi A. (2000). Isolation of Novel Glucosides Related to Gingerdiol from Ginger and Their Antioxidative Activities. *J Agric Food Chem.* 48, 373 -377 p.
- Sharma C., Ahmed T., Sasidharan S., Ahmed M., Hussain A. (2009). Use of Gemcitabine and Ginger Extract Infusion May Improve the Efficiency of Cervical Cancer Treatment, *African Journal of Biotechnology*, 8: 7087-7093 p.
- Singh G, Kapoor IPS, Singh P, Heluani CSD, Lampasona MPD and Catalan CAN (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem Toxicol*, 46: 3295 -3302 p.

- Speck B. Fotsch U. Fotsch C. (2014). Connaissance des herbes, Gingembre *Zingiber officinale*. E GK-caisse de santé. Siège principale Brislachstrasse 2 /4242 Laufon, 4 p.
- Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P and Gargova S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extracts (*Zingiber officinale*). *Food Chem*, 102: 764 -770 p.
- Uz Zaman S., Mirje M.M., Ramabhimaiah S. (2014). Evaluation of the Anti-Ulcerogenic Effect of *Zingiber officinale* (Ginger) Root in Rats, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3: 347- 354 p.
- Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic and M. Mazur. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1): 1-40 p.
- Valko M., Omova K.J. (2011). Free Radicals, Signal Transduction, and Human Disease. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*, 17-32 p.
- Van Wyk B.E. et Wink M. (2004). *Medicinal Plants of the World*. Briza Publication, Pretoria (South Africa), 43: 349 p.
- Vertuani, S., Angusti, A. et Manfredini, S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Curr. Pharm. Des* 10: 1677-1694 p.
- Villasante A., Araneda O.F., Behn C., Galleguillos M., Adarmes H. (2010). Antioxidant capacity and oxidative damage determination in synovial fluid of chronically damaged equine metacarpophalangeal joint. *Veterinary Research Communications*, 34 (2): 133–141p.
- Wassmann, S., Wassmann, K. et Nickenig, G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 44: 381-386 p.
- Wolters M., Hermann S., Golf S., Katz N., Hahn A. (2005). Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *Eur J Clin Nutr* , 24 p.
- Zadeh J B et Kor M M. (2014). Physiological and pharmaceutical effects of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as a valuable medicinal plant. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1): 87-90 p.

Site électronique

- [https:// www.vitaality.fr/](https://www.vitaality.fr/). Consulté le 12/05/2004.

Résumé

Le gingembre ou bien *Zingiber officinale*, est une plante qui appartient à la famille des *Zingibéracées* et représente l'une des plantes médicinales les plus anciennes connues par l'être humain. Notre travail de recherche a été initialement consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile totale des rhizomes de gingembre.

Dans la première étape, nous avons procédé à l'extraction de l'huile totale de *Zingiber officinale* en utilisant des solvants de polarité différente (méthanol/eau et chloroforme), après l'évaporation de l'extrait chloroformique nous avons obtenu l'huile de la plante avec une couleur jaune. Par la suite nous avons réalisé un dosage des polyphénols et des flavonoïdes de l'huile totale et finalement nous avons terminé avec l'évaluation de l'activité antioxydante de cette huile à travers deux tests ; le test de DPPH et le test du pouvoir réducteur.

Les résultats montrent que l'huile totale présente un rendement de 13,62%. Le dosage des composés phénoliques indique que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est de 3,56 μg (EAG) /g d'extrait et 5 μg (EQ) /g d'extrait respectivement. Par la suite les résultats obtenus de l'activité antioxydante vis-à-vis les deux tests ont montré un pouvoir antioxydant significatif de l'huile de cette plante avec une IC_{50} de 0,04 (mg/ml) et une EC_{50} de 1,74 (mg/ml).

Ces résultats suggèrent que *Zingiber officinale* pourrait servir comme une source alternative d'agents antioxydants pour la protection des êtres humains contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres.

Mots clés : *Zingiber officinale*, huile totale, polyphénols, flavonoïdes et activité antioxydante.

Summary

Ginger or *Zingiber officinale* is a plant that belongs to the family of Zingiberaceae and it represents one of the oldest medicinal plants known to humans. Our research work was initially devoted to the evaluation of the antioxidant activity of the total oil of its rhizomes.

In the first step, we have extracted the oil of *Zingiber officinale* by using a solvents with different polarity (methanol / water and chloroform) after evaporation of the chloroform from the extract we obtained the yellow oil of the plant. The following step consisted in the determination of polyphenols and flavonoids amount in total oil, and finally we finished with the evaluation of the antioxidant activity of this oil through two tests; the DPPH test and the reducing power test.

The results show that the yield of total oil yields is 13.62%. The estimation of polyphenols and flavonoids contents indicate that the total oil is rich in polyphenols and flavonoids with amount of 3.56 μg (EAG) / g extract and 5 μg (EQ) / g of extract respectively. Thereafter the results obtained of the antioxidant activity showed a significant antioxidant power of the oil of this plant with IC_{50} of 0,04 (mg /ml) and EC_{50} of 1,74 (mg/ml).

These results suggest that *Zingiber officinale* could serve as an alternative source of antioxidant agents to protect human beings against oxidative damage caused by free radicals.

Key words: *Zingiber officinale*, total oil, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity.

الملخص

الزنجبيل أو أيضا *Zingiber officinale* ، هو نبات ينتمي إلى العائلة الزنجبيلية ويعتبر واحدا من أقدم النباتات الطبية المعروفة لدى الإنسان . وخصص بحثنا العلمي لتقييم النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الإجمالي لجذور الزنجبيل .

في المرحلة الأولى قمنا باستخلاص جذور الزنجبيل باستخدام عدة انواع من المذيبات ذات قطبية مختلفة (الميثانول / الماء والكلوروفورم) , بعد تبخير مستخلص الكلوروفورم تحصلنا على زيت النبتة ذو لون أصفر . المرحلة التي بعدها تعتمد على التقدير الكمي للبوليفينولات والفلافونويدات للزيت الإجمالي , وفي الأخير قمنا بتقييم النشاطية المضادة للأكسدة لهذا الزيت من خلال اختبارين ; اختبار DPPH و اختبار القدرة الاختزالية .

و أظهرت النتائج أن مردود الزيت الاجمالي هو 13.62% . وقد بين التقدير الكمي للبوليفينولات و الفلافونويدات أن الزيت الإجمالي يحتوي على كمية قدرت ب 3.56 ميكروغرام (مكافئ حمض الغاليك) / الغرام مستخلص و 5 ميكروغرام (مكافئ الكرسيتين) / الغرام مستخلص على التوالي . بعدها أظهرت النتائج المتحصل عليها للنشاطية المضادة للأكسدة تجاه الاختبارين قدرة مضادة للأكسدة معتبرة لزيوت هذه النبتة مع قيمة IC_{50} مقدرة ب 0,04 (مغ / مل) و EC_{50} مقدرة ب 1,74 (مغ / مل).

تشير هذه النتائج إلى أن نبات الزنجبيل بإمكانه أن يكون بمثابة مصدر بديل لهضادات الأكسدة لحماية الإنسان من الضرر التأكسدي الذي تسببه الجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية : *Zingiber officinale* , الزيت الإجمالي , البوليفينولات , الفلافونويدات و النشاطية المضادة للأكسدة .

Etude de l'activité antioxydante de gingembre « *Zingiber officinale* ».

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé.

Résumé

Le gingembre ou bien *Zingiber officinale*, est une plante qui appartient à la famille des *Zingibéracées* et représente l'une des plantes médicinales les plus anciennes connues par l'être humain. Notre travail de recherche a été initialement consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile totale des rhizomes de gingembre.

Dans la première étape, nous avons procédé à l'extraction de l'huile totale de *Zingiber officinale* en utilisant des solvants de polarité différente (méthanol/eau et chloroforme), après l'évaporation de l'extrait chloroformique nous avons obtenu l'huile de la plante avec une couleur jaune. Par la suite nous avons réalisé un dosage des polyphénols et des flavonoïdes de l'huile totale et finalement nous avons terminé avec l'évaluation de l'activité antioxydante de cette huile à travers deux tests ; le test de DPPH et le test du pouvoir réducteur.

Les résultats montrent que l'huile totale présente un rendement de 13,62%. Le dosage des composés phénoliques indique que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est de 3,56 µg (EAG) /g d'extrait et 5 µg (EQ) /g d'extrait respectivement. Par la suite les résultats obtenus de l'activité antioxydante vis-à-vis les deux tests ont montré un pouvoir antioxydant significatif de l'huile de cette plante avec une IC₅₀ de 0,04 (mg/ml) et une EC₅₀ de 1,74 (mg/ml).

Ces résultats suggèrent que *Zingiber officinale* pourrait servir comme une source alternative d'agents antioxydants pour la protection des êtres humains contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres.

Mots clés : *Zingiber officinale*, huile totale, polyphénols, flavonoïdes et activité antioxydante.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Chaaba et de Biochimie.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : MAAMRI Zaineb (MCB - UFM Constantine).
Rapporteur : MOSBAH Asma (MCB- UFM Constantine).
Co-rapporteur : SEMRA Ilhem (MAA- UFM Constantine).
Examinatrice : HALMI Sihem (MCB- UFM Constantine).

Date de soutenance : 02/07/2017

