
Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent



Institut des sciences

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Biochimie

Présenté par :

M^{elle} BOURAS Hanane

M^{elle} BEIKREIRA Ghizlane Nardjess

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire, *in vitro*,
des extraits et l'huile de gingembre « *Zingiber officinale* » sur la stabilité
membranaire du globule rouge**

Encadrant : M^{me} BENTABET N

Maitre de conférence "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le 29 juin 2020

Devant le jury composé de :

Président : M^e BENNABI. F «MCB» C.U.B.B.A.T

Examinatrice: M^{me} BENAHBIB. O «MCB» C.U.B.B.A.T

Encadrant : M^{me} BENTABET. N «MCB» C.U.B.B.A.T

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

Tout d'abord, nous rendons grâce à Dieu créateur de l'univers et maître des destinées, pour nous avoir donné la volonté et la patience pour mener dans la bonne voie notre mémoire de fin d'étude.

*En premier lieu, nous remercions de tout notre cœur **Mme. BENTABET Nesrine**, maître de conférence classe B au **Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain - Temouchent**, d'avoir accepté de nous encadrer et de diriger ce travail avec sa disponibilité, sa patience, sa compréhensibilité, son courage, ses conseils durant la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimons aussi nos sincères remerciements à **monsieur BENNABI Farid**, maîtres de conférences classe B au **Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain - Temouchent**, de nous avoir fait l'honneur de présider notre soutenance.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à madame **BENAHBIB Ouassila**, maître de conférence classe B au **Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain - Temouchent**, d'avoir accepté d'examiner et de discuter ce travail.*

Nous tenons à remercier tous nos enseignants pour leurs efforts, leurs savoirs, leurs acquis scientifiques durant toute la durée de nos études universitaires.

*Nous remercions aussi les ingénieurs du laboratoire pédagogique de biologie **Mme. Meftahi chokria, M. Rahmani khaled, M. Mhamedi walid et M. Rachid** pour leur soutien, leur aide durant toute notre pratique.*

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers nos parents et nos familles pour leur encouragement et leur instruction.

A tous les étudiants du master 2 biochimie de la promotion 2019/2020.

A tous nos proches et tout ce qui de près et loin, nous ont apporté leur sollicitude pour accomplir ce diplôme.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents (fatima zahra et boumedienne), pour votre éducation, vos encouragements, votre disponibilité et affection, durant tous mes études ; Que Dieu vous protège.

*A mes frères **ilyes** et **mohamed naim eddine** pour leur soutien moral et disponibilité.*

*A ma grande sœur **Narimene** pour ses conseils depuis notre enfance.*

A mes grandes - mères pour leurs prières et bénédictions.

Que Dieu les garde.

*A toute la famille **Beikreira** et **Mouedeb Merabet**.*

*A notre promotrice **Mme. BENTABET Nesrine**, qui a été toujours avec nous.*

*A mon très cher binôme **Bouras Hanane** pour sa compréhension et sa gentillesse.*

*A ma très chère amie **HENNACHE Fatima** pour son encouragement.*

A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin.

Beikreira Ghizlane Nardjess

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes très chers parents **Nacera et Saïd**, pour votre éducation, encouragement, disponibilité et affection, durant tous mes études ; Que Dieu vous protège.*

*A mon frère **Kada** et sa femme **Asmaa** pour leur soutien moral et leur disponibilité.*

*A ma petite sœur **Bouchra**.*

A ma grande - mère pour ses prières et bénédictions, Que Dieu la garde.

*A toute la famille **Bouras et Bendella**.*

*A notre promotrice **Mme. BENTABET Nesrine**, qui a été toujours avec nous.*

*A mon très cher binôme **Beikreira nardjess ghizlan** pour sa compréhension et sa gentillesse.*

*A mes très chère amies **Belkaddar rania et Benhammou asmaa** pour leurs encouragements.*

A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin.

Bouras Hanane

Résumé

Le gingembre « *Zingiber officinale* » est une plante herbacée vivace et rhizomateuse appartenant à la famille des « zingibrecées » et atteignant jusqu'à 3 m de hauteur en culture. Cette plante est largement répandue au sud de la Chine, de l'Asie du Sud-est et de l'Inde possédant diverses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antiémétiques.

Notre méthode de recherche est basée sur l'utilisation de différents extraits obtenus par macération à savoir l'extrait brut aqueux, l'extrait brut eau/méthanol, l'extrait brut eau/acétone et l'huile totale par extraction au soxhlet.

Le criblage phytochimique qualitatif de ces extraits a révélé la richesse de ces rhizomes en métabolites secondaires où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des quinones libres et des composés réducteurs.

D'autre part le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux marque des teneurs variables dans les extraits avec des taux élevés estimés à 4 mg EAG/g et 0.26 mg EAG/g respectivement pour l'extrait aqueux.

L'étude de l'analyse de la toxicité de *Zingiber officinale* a démontré un taux d'hémolyse moyen qui ne dépasse pas le pourcentage d'hémolyse de 50% pour les trois extraits bruts et un très faible pourcentage d'hémolyse ne dépassant pas les 10,2 % pour l'huile totale à la concentration maximale de 30 mg/mL.

En revanche, l'activité anti-inflammatoire vis -à-vis des érythrocytes humains a été prouvé par le calcul du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse très élevé dans tous les extraits. Finalement, ces résultats suggèrent que le *Zingiber officinale* est une plante médicinale très riche en composants bioactifs possédant un pourcentage de cytotoxicité moindre et une très bonne activité anti-inflammatoire.

Les mots clés : *Zingiber officinale*, Extraits, Huile totale, Métabolites secondaires, Toxicité, Activité anti-inflammatoire.

Abstract:

The ginger "*Zingiber officinale*" is a perennial and rhizomatous herb belonging to the family of "Zingiberaceae" and reaching up to 3 m in height in culture. It is widely distributed in southern China, Southeast Asia and India with various anti-inflammatory, antioxidant and antiemetic properties.

Our research method is based on the use of different extracts obtained by maceration, namely the aqueous crude extract, the crude water / methanol extract, the crude water / acetone extract and oil by soxhlet extraction.

The qualitative phytochemical screening of these extracts revealed the richness of this plant in secondary metabolites where we noted the presence of flavonoids, tannins, terpenoids, alkaloids, free quinones and reducing compounds.

On the one hand, the dosage of total polyphenols and flavonoids marks variable contents in the extracts with levels of 4 mg EAG / g and 0.26 mg EAG / g for the aqueous extract respectively.

The study of the analysis of the toxicity of *Zingiber officinale* demonstrated an average rate which does not exceed a percentage of hemolysis of 60% for the three crude extracts and a very low percentage of hemolysis not exceeding 10,2% for total oil at the maximum concentration of 30 mg / mL.

On the other hand, the anti-inflammatory activity vis-à-vis human erythrocyte has been proven by the calculation of the percentage of inhibition of hemolysis very high in all the extracts.

Finally, these results suggest that *Zingiber officinale* is one of the medicinal plants richest in bioactive components and the most important with a lower percentage of cytotoxicity and a very good anti-inflammatory activity.

The key words: *Zingiber officinale*, Extracts, Total oil, Secondary metabolites, Toxicity, Anti-inflammatory activity.

ملخص

الزنجبيل "Zingiber officinale" هو عشب معمر وجزمي ينتمي إلى عائلة "zingibracees" ويصل ارتفاعه إلى 3 أمتار في الثقافة. يتم توزيعه على نطاق واسع في جنوب الصين وجنوب شرق آسيا والهند مع خصائص مضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة ومضادة للقيء.

تعتمد طريقة البحث لدينا على استخدام مستخلصات مختلفة تم الحصول عليها عن طريق النقع ، وهي المستخلص الخام المائي ، ومستخلص الماء الخام / الميثانول ، ومستخلص الماء الخام / الأسيون و I النفط عن طريق استخراج سوكلية.

كشف الفحص الكيميائي النباتي النوعي لهذه المستخلصات عن ثراء هذا النبات في المستقلبات الثانوية حيث لاحظنا وجود مركبات الفلافونويد والتانينات والتيربينويد والقلويدات والكينونات الحرة وتقليل المركبات.

من ناحية ، تحدد جرعة البوليفينول والفلافونويد الكلية محتويات متغيرة في المستخلصات بمستويات 4 مغ EAG / غ و 0.26 مغ EAG / غ للمستخلص المائي على التوالي.

أظهرت دراسة تحليل سمية Zingiber officinale معدلاً متوسطاً لا يتجاوز نسبة انحلال الدم بنسبة 60 ٪ للمستخلصات الخام الثلاثة ونسبة منخفضة جداً من انحلال الدم لا تتجاوز 10.2 ٪ إجمالي الزيت بتركيز أقصى 30 مغ / مل.

من ناحية أخرى، تم إثبات النشاط المضاد للالتهابات تجاه كريات الدم الحمراء البشرية من خلال حساب النسبة المئوية لتثبيط انحلال الدم عالية جداً في جميع المستخلصات. وأخيراً ، تشير هذه النتائج إلى أن Zingiber officinale هي واحدة من النباتات الطبية الأكثر ثراءً في المكونات النشطة بيولوجياً والأكثر أهمية مع انخفاض نسبة السمية الخلوية ونشاط جيد جداً مضاد للالتهابات.

الكلمات الرئيسية: Zingiber officinale ، مستخلصات ، الزيت ، المستقلبات الثانوية ، السمية ، النشاط المضاد للالتهابات.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Première partie : Synthèse bibliographique.....3

Chapitre 01 : Généralité sur les plantes médicinales

1.1. Définition de la plante médicinale.....4

1.2. Principe actif de la plante médicinale.....4

Chapitre 02 : La plante *Zingiber officinale*

2.1. Historique.....9

2.2. Habitat et distribution géographique.....9

2.3. Plantation, récolte et floraison.....10

2.4. Description botanique.....10

 2.4.1. Aspect général.....10

 2.4.2. Partie aérienne.....11

 2.4.3. Partie souterraine.....11

2.5. Taxonomie et classification botanique.....11

2.6. Les principaux constituants de gingembre.....12

 2.6.1. Les composants bioactifs du gingembre.....12

 2.6.2. Composants nutritionnels du gingembre.....13

2.7. Les forme de gingembre.....14

 2.7.1. En infusion14

 2.7.2. En décoction14

 2.7.3. En l'intégrant.....15

2.8. Les propriétés de gingembre.....15

 2.8.1. Action anti- inflammatoire.....15

 2.8.2. Action antioxydant.....16

 2.8.3. Action antiémétique.....16

2.9. Posologie et précaution d'emplois.....16

2.10. La toxicité et les effets indésirables.....	17
---	----

Chapitre 3 : Activité anti-inflammatoire

3.1. Définition de l'inflammation.....	18
3.2. Étiologie.....	18
3.3. Les symptômes.....	19
3.4. La pathologie de l'inflammation.....	19
3.5. Les cellules et les médiateurs de l'inflammation.....	19
3.5.1 Les cellules de l'inflammation	19
3.5.2. Les médiateurs de l'inflammation.....	19
3.6. Les type d'inflammation.....	21

Deuxième partie : matériel et méthodes.

1. Matériel végétal.....	23
2. Méthode.....	23
2.1. Préparation des différents extraits de <i>Zingiber officinale</i>	23
2.1.1. Extrait brut aqueux.....	23
2.1.2. Extraits bruts eau/Méthanol et eau /Acétone	23
2.2. Extraction et fractionnement de l'huile de <i>Zingiber officinale</i>	24
2.3. Le rendement des extraits secs.....	24
2.4. Le rendement de l'huile fixe.....	24
2.5. Tests phytochimiques.....	25
2.6. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	26
2.6.1. Préparation de l'extrait pour les dosages	26
2.6.2. Dosage des polyphénols totaux.....	26
2.6.3. Dosage des flavonoïdes totaux	27
2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, <i>in vitro</i> , des extraits et de l'huile du rhizome de <i>Zingiber officinale</i>	28
2.7.1. Echantillons de sang humain.....	28
2.7.2. Préparation de la suspension des globules rouges humains.....	29
2.7.3. Evaluation de la toxicité des extraits et de l'huile du rhizome de <i>Zingiber officinale</i> vis-à-vis des globules rouges.....	29
2.7.4. Evaluation de l'effet des extraits et l'huile de <i>Zingiber officinale</i> sur la stabilisation de la membrane des globules rouges.....	30

2.7.5. Traitement statistique.....	30
<u>Troisième partie : Résultats et discussion</u>	31
1. Etude phytochimique	32
1.1. Rendement d'extraction.....	32
1.1.1. Rendement en extraits secs	32
1.1.2. Rendement d'extraction de l'huile.....	32
1.2. Criblage phytochimique.....	32
1.3. Analyse phytochimique quantitative.....	34
1.3.1. Estimation quantitative des polyphénols totaux.....	34
1.3.2. Estimation quantitative des flavonoïdes.....	36
2. Analyse biologique.....	37
2.1. Evaluation de la toxicité des extraits du rhizome de <i>Zingiber officinale</i> vis-à-vis des globules rouges	37
2.2. Evaluation de la toxicité de la toxicité d'huile du rhizome de <i>Zingiber officinale</i> vis-à-vis des globules rouges.....	40
2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, <i>in vitro</i> , des extraits du rhizome de <i>Zingiber officinale</i>	41
2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, <i>in vitro</i> , de l'huile totale du rhizome de <i>Zingiber officinale</i>	44
Conclusion et prescriptive	46
Référence bibliographique	49
Annexe	55

Liste des figures

<u>Figure N°01 :</u>	Structure de base des flavonoïdes.....	5
<u>Figure N°02 :</u>	Les classes des alcaloïdes.....	5
<u>Figure N°03 :</u>	Les classes de tanins.....	6
<u>Figure N°04 :</u>	Les classes des acides phénoliques.....	7
<u>Figure N°05 :</u>	La structure de base des coumarines.....	7
<u>Figure N°06 :</u>	Les rhizomes de <i>Zingiber officinale</i> frais.....	9
<u>Figure N°07 :</u>	Aspect générale de <i>Zingiber officinale</i>	10
<u>Figure N°08 :</u>	Structure chimique des principaux composés bioactifs du gingembre	12
<u>Figure N°09 :</u>	Propriétés médicinales de <i>Zingiber officinale</i>	15
<u>Figure N°10 :</u>	La poudre des rhizomes de gingembre.....	23
<u>Figure N°11 :</u>	Rendements des extraits des rhizomes de <i>Z. officinale</i>	31
<u>Figure N°12 :</u>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	35
<u>Figure N°13 :</u>	Teneur en polyphénols totaux (TPT) dans les différents extraits du rhizome de <i>Zingiber officinale</i>	35
<u>Figure N°14 :</u>	La poudre des rhizomes de gingembre.....	36
<u>Figure N°15 :</u>	Teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits du rhizome de <i>Zingiber officinale</i>	36
<u>Figure N°16 :</u>	Evolution du pourcentage d'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations des extraits de <i>Zingiber officinale</i> à 560 nm	38

<u>Figure N°17 :</u>	Evolution du pourcentage d'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations de l'huile de <i>Zingiber officinale</i> à 560nm	40
<u>Figure N°18 :</u>	Evolution des pourcentages d'inhibitions de l'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations en extraits des rhizomes de <i>Zingiber officinale</i> à 560 nm.....	42
<u>Figure N°19 :</u>	Evolution du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations de l'huile de <i>Zingiber officinale</i> à 560nm.....	44

Liste des tableaux

<u>Tableau N°01</u> : Les principaux composants de la plante médicinale.....	4
<u>Tableau N°02</u> : La classification botanique du gingembre.....	11
<u>Tableau N°03</u> : Quelques constituants du gingembre et les moyens possibles de bio-actions	13
<u>Tableau N°04</u> : Les principaux composants nutritionnels du gingembre.....	14
<u>Tableau N°05</u> : Étiologie de l'inflammation.....	18
<u>Tableau N°06</u> : Les médiateurs représentatifs de l'inflammation.....	20
<u>Tableau N°07</u> : Les caractéristiques physiques des trois extraits préparés.....	30
<u>Tableau N°08</u> : Résultats des tests phytochimiques des différents extraits de <i>Zingiber officinale</i>	33

Liste des abréviations

C° : Température en degrés Celsius

DA : Dalton

FeCl₃ : Trichlorure de fer

g : Gramme

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Hcl : Chlorure d'hydrogène

HE : Huile Essentielle

Hgcl₂ : Chlorure de mercure

IL-6/ : Interleukine 6

KI : Iodure de potassium

Mg : Milligramme

Mg.EAG/g : mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

Mg/EC/g : mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche

Mn : Minute

Nacl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NH₄OH : L'hydroxyde d'ammonium

NK : Naturel killer

nm : Nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : Phosphate buffered saline (le tampon phosphat salin)

PR : Polyarthrite rhumatoïde

Rdt : Rendement

TH17: Lymphocyte T auxiliaire 17

TNFα: Tumor necrosis factorα

Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie est un pays riche en plantes médicinales. Ces dernières constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives. Aujourd'hui, la recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant les plantes médicinales dans différents domaines : pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique. De nombreuses plantes exploitées en médecine peuvent être regroupées en fonction de leurs activités anti-inflammatoires, antioxydantes et en fonction de leurs propriétés astringentes, cicatrisantes, amincissantes et antiseptiques. Elles sont nombreuses à être de plus en plus utilisées pour leurs principes actifs (Allaert, 2011).

En raison des diverses applications biotiques et thérapeutiques des ingrédients actifs, la phytothérapie a pris une croissance exponentielle qui gagne en popularité dans les pays en développement et développés et accroît en raison de ses effets secondaires minimes (Abd El-Salam et al., 2017).

La nature a doté notre pays d'une énorme richesse en plantes médicinales parmi ces plantes nous retrouvons le *Zingiber officinale* qui est un composant alimentaire naturel utilisé dans le monde entier, aux propriétés antioxydantes et anti-cancérogènes. Il est utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle comme remède contre certaines maladies, notamment les maladies inflammatoires. Le gingembre contient des composés phénoliques actifs comme le gingérol, le paradol et le shogoal qui possèdent des activités antioxydantes, anticancéreuses et anti-inflammatoires (Abd El-Salam et al., 2017).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche dont l'objectif consiste à réaliser une étude de l'activité anti-inflammatoire, *in vitro*, des extraits de rhizomes de gingembre « *Zingiber officinale* » sur la stabilité membranaire du globule rouge. Notre étude est structurée en trois parties :

- La première partie propose une mise au point bibliographique concernant les métabolites secondaires de la plante médicinale et leurs caractéristiques biologiques, accompagnée d'une description botanique de la plante et de ses différentes propriétés biologiques, puis quelques notions sur l'inflammation.
- La seconde comporte la partie expérimentale ou nous avons réalisé : la préparation des différents extraits bruts et de l'huile du rhizome de gingembre, ainsi que des tests phytochimiques. Nous avons aussi évalué l'activité anti-inflammatoire de cette plante médicinale, en déterminant aussi la toxicité de ces extraits vis-à-vis des globules rouges.
- La troisième partie présentera les résultats obtenus qui seront suivis d'une discussion et d'une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

Depuis la nuit des temps les hommes ont toujours utilisé les plantes pour se prévenir, se nourrir, et se soigner (Iserin, 2001). Au fil des siècles, l'homme apprend à distinguer le comestible du mortel, à reconnaître les vertus curatives et analgésiques des plantes cachées dans leur environnement naturel dont leur utilisation était une des premières pratiques thérapeutiques dans l'histoire de l'humanité (Iserin, 2001 ; Eddouks et al., 2007).

1.1. Définition de la plante médicinale :

D'après la pharmacopée française, les plantes médicinales sont définies comme des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou partiellement, soit à l'état frais, ou le plus souvent desséché. Ces plantes possèdent des propriétés médicamenteuses et sont utilisées dans les domaines alimentaires, condimentaires ou hygiéniques et ceci dépend de la composition de la plante (Iserin, 2001 ; Cardenas, 2014).

1.2. Principe actif de la plante médicinale :

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques utilisées dans la phytothérapie qui connaissent un succès considérable dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe (Iserin, 2001). Depuis quelques décennies l'homme s'intéresse à connaître les propriétés pharmacologiques de ces métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les coumarines car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (Iserin, 2001 ; Najjaa et al., 2011). Les principaux composants des plantes médicinales ainsi que leurs propriétés thérapeutiques sont résumés dans le tableau N°01.

Tableau N°01 : Les principaux composants de la plante médicinale.

Les composants	Les caractéristiques
Les flavonoïdes	<p>-Ce sont des métabolites secondaires qui appartiennent à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006 ; Gonzales et al., 2015).</p> <p>-Ces composants ont des pigments jaunâtres appelés flavone qui permettent de colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc (Iserin, 2001).</p> <p>-Ils ont une structure de type benzo-γ-pyrone. Ils comportent un squelette à 15 atomes de carbone composé de deux noyaux benzéniques fixés via un cycle pyrane hétérocyclique, marqués par les anneaux A, B et C, dans un arrangement C6-C3-C6 (Gonzales et al., 2015) (Figure N°01).</p>

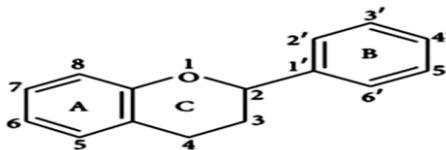


Figure N°01 : Structure de base des flavonoïdes

(Gonzales et al., 2015).

- Ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : les flavones, les isoflavandiols, les flavanols, les flavandiols, les aurones, les chalcones et les anthocyanines (Leonard et al., 2005).
- Ils possèdent plusieurs propriétés antioxydantes, anti- inflammatoires et antivirales (Iserin, 2001).

- Se sont des métabolites secondaires, d'origine naturelle et contenant de l'azote qui représente plus de 20 % de la plante (Singla et al., 2010).
- Les différentes classes des alcaloïdes sont : les alcaloïdes vrais (Nicotine) (a), les pseudo-alcaloïdes (Coniine) (b) et les proto-alcaloïdes (Mescaline) (c) (Jaber, 2017) (Figure N°02).

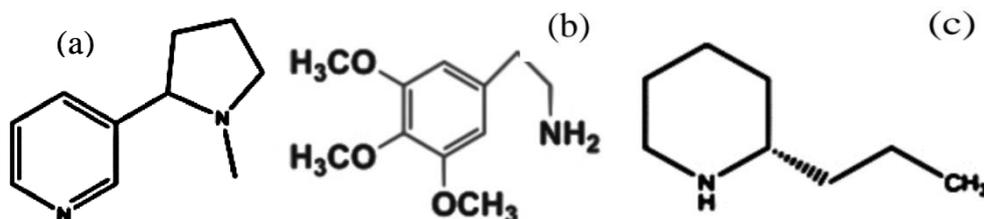
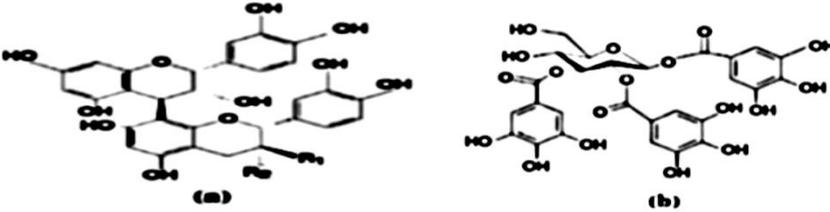


Figure N°02 : Les classes des alcaloïdes

(Jaber, 2017).

- En médecine, les alcaloïdes sont le plus souvent utilisés comme des médicaments par exemple analgésique dans le cas de la morphine. Ils sont très importants, car ils peuvent agir comme des stimulateurs, des inhibiteurs, des terminateurs de croissance. (Singla et al., 2010)
- Ils jouent un rôle essentiel sur les effets des troubles nerveux par exemple sur la maladie de Parkinson (Iserin, 2001).

Les alcaloïdes

<p>Les huiles essentielles (HE)</p>	<p>-C'est un mélange de substances aromatiques volatiles et odoriférantes, tiré à partir des plantes (Aboughe et al., 2014).</p> <p>-Elles sont présentes en faible quantité dans le végétale (Aboughe et al., 2014).</p> <p>- Leur composition chimique est d'une grande complexité, ce qui les rendent inimitables car chaque HE regroupe en réalité plusieurs substances aromatiques très élaborées et très différentes, et qui varient selon les conditions climatiques (Aboughe et al., 2014).</p> <p>-Les HE sont obtenus par différents procédés tels que : l'expression à froid, ou bien par enfleurage et par la distillation ou hydrodistillation à vapeur d'eau. Cette technique est la plus répandue car elle permet d'obtenir des HE complètes et très riches (Aboughe et al., 2014).</p> <p>- Elles possèdent une propriété antiseptique contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (Billerbeck, 2007).</p>
<p>Les tanins</p>	<p>-C'est un groupe des substances phénoliques polymériques, caractérisé par une masse moléculaire qui varie entre 500 et 3000 Da (Sereme et al., 2008).</p> <p>- Ils sont subdivisés en deux classes : les tanins condensés (a) et les tanins hydrolysables (b) (Sereme et al., 2008).</p> <div style="text-align: center;">  <p>The figure shows two chemical structures. Structure (a) is a condensed tannin, specifically a flavan-3-ol, consisting of multiple phenolic units linked by C-C bonds. Structure (b) is a hydrolysable tannin, specifically a gallic acid derivative, consisting of a central core linked to multiple gallic acid units via ester bonds.</p> </div> <p>Figure N°03 : Les classes de tanins (Cowan, 1999).</p> <p>-Ils contiennent une propriété spéciale telle que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et d'autres protéines (Sereme et al., 2008).</p> <p>-Ces substances peuvent être utilisées pour tanner le cuir (Cowan, 1999).</p> <p>-Sur le plan thérapeutique, les tanins sont utilisés sous deux formes : en usage externe (traitement d'ulcères variqueux), et en usage interne (traitement de la diarrhée) (Sereme et al., 2008).</p>

Les saponines	<p>-Ce sont des métabolites secondaires dérivés des plantes. Ils sont utilisés principalement comme des détergents en raison de leur nature amphiphile (Köse et Bayraktar, 2016).</p> <p>-Ils comportent deux groupes: les glycosides triterpénoïdes et les stéroïdes (Köse et Bayraktar, 2016).</p> <p>-Ils ont une activité hormonale moindre et facilitent l'absorption des aliments (Iserin, 2001).</p>
----------------------	--

2.1. Historique

Le gingembre ou rhizome de *Zingiber officinale* est l'une des épices et des condiments les plus utilisés dans la cuisine et l'un des remèdes en phytothérapie traditionnelle (Jia et al., 2011) (Figure N°06). Il est très répandu dans le monde, en particulier en sud de la Chine, de l'Asie du Sud-est et de l'Inde. Traditionnellement, il est employé dans la médecine ayurvédique indienne comme un traitement de l'indigestion, des maux de gorge, des rhumatismes et de l'hypertension (Vijayan et al., 2020), et en médecine traditionnelle Chinoise comme un traitement de la polyarthrite rhumatoïde, des douleurs musculaires, des nausées, de la constipation, de l'indigestion et de la fièvre (Haiping, 2020). Le gingembre contient plusieurs constituants bioactifs intéressants. Ces dernières années, la demande de gingembre a augmenté en Amérique du Nord (Gunathilake et Rupasinghe, 2015).



Figure N°06 : Les rhizomes de *Zingiber Officinale* frais
(photo original, 2020)

2.2. Habitat et distribution géographique

Le gingembre est une grande herbe tropicale qui pousse bien dans des conditions chaudes et humide dans les régions subtropicales en particulier au Sud de la Chine, de l'Asie du Sud-Est et de l'Inde. La plante est aussi cultivée au Népal, aux États-Unis, en Inde, au Bangladesh, à Taiwan, en Jamaïque et au Nigéria (Kumar et al., 2011), au Japon, en Australie et dans d'autres pays du monde (Haiping, 2020). L'Inde est considérée comme le plus grand producteur de *Zingiber Officinale* au monde (Kumar et al., 2011).

2.3. Plantation, récolte et floraison

La plantation du gingembre se fait dans des conditions pluviales et irriguées, au début de la saison d'hiver (Vijayan et al., 2020). Cela se fait en coupant le rhizome en petits morceaux, où il est planté dans des trous ou des tranchées d'une profondeur de 10 à 15 cm et à un emplacement ensoleillé et recouverts de fumier ainsi que d'une couche des feuilles pour favoriser la croissance de la plante (Botineau, 2010). Après 10 jours de plantation, les premières poussées aériennes sont levées et les feuilles apparaissent après 1 à 2 mois (Euring, 2016). La floraison est un phénomène courant, mais elle ne fleurit que dans des conditions climatiques spécifiques et ne se produit pas toujours (Vijayan et al., 2020). Pour améliorer la croissance des rhizomes, il est fréquent de couper les tiges des fleurs, afin que toute l'énergie soit concentrée dans les parties inférieures (les parties souterraines). Leur récolte se fait manuellement, en commençant par le séchage des parties vertes, qui indiquent l'arrivée de la maturation du rhizome (Euring, 2016). La superficie totale de récolte de gingembre dans le monde est de plus de 21 000 ha avec une production totale de plus de 200000 tonnes et un rendement moyen de 10 000 kg par ha (Vijayan et al., 2020).

2.4. Description botanique

2.4.1. Aspect général

Le gingembre est une plante tropicale herbacée vivace, qui peut atteindre 3 m de hauteur (Gigon, 2012). La partie consommée de la plante de gingembre est le rhizome, souvent appelé «racine de gingembre» (Haiping, 2020) (Figure N°07).



Figure N°07: Aspect générale du *Zingiber officinale*
(Gigon, 2012)

2.4.2. Partie aérienne

Les feuilles sont vertes, simples, alternées, avec des bases gainantes, sessiles, acuminées à l'apex, glabres, de 15 à 20 cm de long, étroites, linéaires et pointues, avec une nervure médiane proéminente et une nervure parallèle (Vijayan et al., 2020). Leur inflorescence se présente en court épis très serrés (Gigon, 2012) et une tige dressée jusqu'à 75 cm de hauteur couverte d'écailles (Vijayan et al., 2020) avec des fleurs parfumées de couleurs blanches à jaunâtres (Gigon, 2012).

2.4.3. Partie souterraine

Le rhizome se propage sous terre (Agrahari et al., 2015) et se divise dans un seul plan, constitué de tubercules globuleux ramifiés (Gigon, 2012), d'un lobe épais, de nœuds charnus (Kumar et al., 2011). Il est recouvert de cicatrices en forme d'anneau. Sa peau est beige pâle et sa chair jaune pâle juteuse. La cassure est granuleuse avec une saveur chaude et piquante (Gigon, 2012).

2.5. Taxonomie et classification botanique

Zingiber officinale est l'une des herbes et des agents aromatisants alimentaires les plus utilisés (Kumar et al., 2011). Cette plante appartient à la famille des Zingiberaceae qui comprend environ 50 genres et 1 300 espèces de gingembre (Haiping, 2020).

La classification botanique du gingembre est la suivante (Gigon, 2012).

Règne	: Plantae
Sous- règne	: Trachéobionta
Division	: Angiospermes
Classe	: Monocotylédones
Sous- classe	: Zingibéracées
Ordre	: Zingibérales
Famille	: Zingibéracées
Sous famille	: Zingibéroïdées
Genre	: <i>Zingiber</i>

2.6. Les principaux constituants de gingembre

2.6.1. Les composants bioactifs du gingembre

Le gingembre est une excellente source de molécules et des composés bioactifs importants (Kunedeb Sowley et Kankam, 2019). Les principaux composants des rhizomes de gingembre sont les glucides (50 à 70%), les lipides (3 à 8%) (Teles et al., 2019), les glycosides, les protéines, les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes, les stéroïdes, les tanins, les terpènes et les composés phénoliques. Ces deux derniers constituent les deux principales classes de composés phytochimiques du gingembre. Les composés phénoliques du gingembre sont également appelés les composants non volatils. Ils sont constitués de gingérols et de ses dérivés 6, 8 et 10 (ghogaol, zingérone, et paradol) qui ont été décrits comme les responsables du goût et de l'odeur piquante du gingembre. Les composants terpéniques du gingembre, de ses quiterpènes et des monoterpènes seraient les fractions volatiles. Les sesquiterpènes sont des contributeurs majeurs à la saveur du gingembre, tandis que les monoterpènes sont les terpènes les plus abondants dans l'huile de gingembre frais. Les principaux sesquiterpènes sont le zingibérène et le β -bisabolène, qui sont responsables de son parfum aromatique.

Autres études obtenues sur les rhizomes de gingembre ont montré qu'ils contiennent des huiles volatiles représentant environ 1 à 4%, ainsi que d'autres composés extraits au moyen d'éthanol ou d'acétone représentaient par l'oléorésine. Le géranol est la principale huile essentielle dérivée du gingembre (Balogunet al., 2019) (figure N°08) (Tableau N°02).

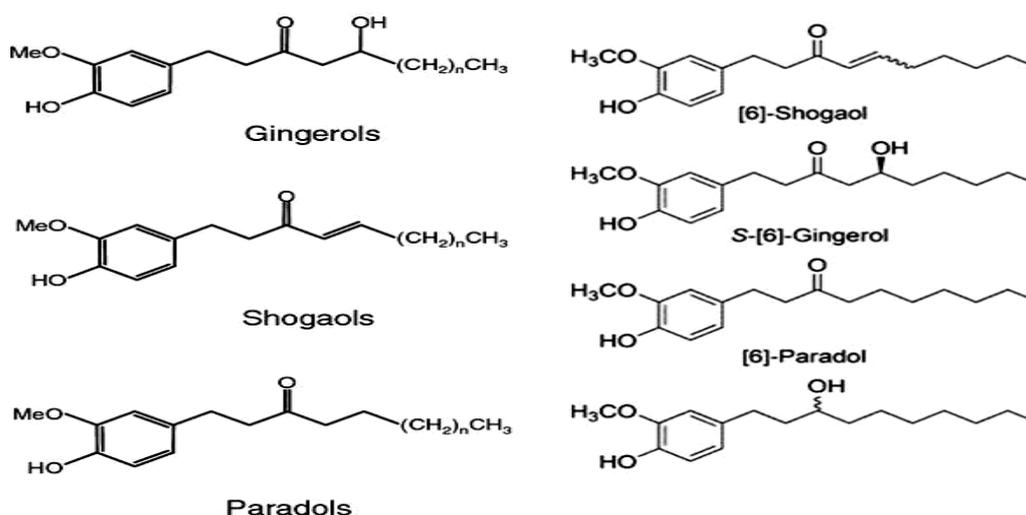


Figure N°08 : Structure chimique des principaux composés bioactifs du gingembre (Kunedeb Sowley et Kankam, 2019).

Tableau N°02: Quelques constituants du gingembre et les moyens possibles de bio-actions (Kunedeb-Sowley et Kankam, 2019).

Constituant du gingembre	Mécanisme d'action
Zingerone	-Agit contre l'inflammation des cellules et la modération de la synthèse des prostaglandines.
10-Gingerol	-Inhibe l'expression cellulaire et fait baisser le taux de multiplication cellulaire.
Paradol	-Contrôle la glycémie et améliore la récupération et la résistance des cellules contre le cancer.
8-Gingerol	-Inhibe de la croissance des cellules cancéreuses et la génération de vaisseaux sanguins.
Flavonoïde	-Protège les cellules contre les risques de dommages dus aux déséquilibres liés à l'oxydation.
Oléorésine	-Possède des actions antimicrobiennes contre la croissance des plantes et des micro-organismes pathogènes d'origine animale comme, <i>Escherichia coli</i> .
6-Gingerol	Cause l'arrêt des actions du cycle cellulaire dans la phase G0 / G1.
Acide phénolique	- inhibe la génération réactive d'azote et d'oxygène dans les plantes et les cellules animales, avec sa capacité à empêcher certaines enzymes d'agir. - Elimine l'oxygène et l'azote réactifs des cellules.
6-Shogaol	Supprime la production de prostaglandine E2 et d'oxyde nitrique.
Huiles essentielles	- Possède des actions inhibitrices contre les microbes. - Assure des réactions antioxydantes.

II .6.2. Composants nutritionnels du gingembre

Le gingembre est largement utilisé dans divers aliments traditionnels et manufacturés en raison de sa richesse en nutriments essentiels. Le rhizome, qui est la principale partie économique de la plante de gingembre possède une bonne quantité de fibres alimentaires, d'acides gras insaturés (acide palmitoléique, acide linoléique et acide oléique) et d'acides aminés essentiels (leucine et lysine), ainsi que des minéraux y compris le fer (F), le calcium

(Ca), le phosphore (P), le magnésium (Mg), le potassium (K), le soufre (S) et il contient également des vitamines telles que la thiamine, la riboflavine, la niacine et la vitamine C (**Tableau N°03**). Les rhizomes de gingembre possèdent également une puissante enzyme protéolytique appelée zingibain (**Kunedeb-Sowley et Kankam, 2019**).

Tableau N°03 : Les principaux composants nutritionnels du gingembre (**Kunedeb-Sowley et Kankam, 2019**)

Composant	Teneur moyenne (mg/100g)
Calcium	775 mg
Phosphore	286 mg
Magnésium	327 mg
Potassium	1589 mg
Soufre	167 mg

2.7. Les formes de gingembre

2.7.1. En infusion

D'abord, le gingembre frais est congelé pendant la nuit. Ensuite, il suffit de râper quelques morceaux de gingembre ou de déposer un peu de poudre séchée dans l'eau chaude pendant 10 minutes dans une casserole pour infuser puis filtrer avant de déposer dans une tasse (**Pramono, 2019**).

2.7.2. En décoction

La décoction de gingembre frais se prend par voie orale pour soigner les nausées et les vomissements (**Pramono, 2019**). Cette fois, les rhizomes découpés en de fines tranches sous forme de rondelles (5 tranches ou 3 g de gingembre) sont mis dans de l'eau froide que l'on porte à ébullition durant 10 minutes. Après filtration avec un entonnoir, un truc sucré (cuillère de miel) est ajouté (**Giraud, 2016 ; Pramono, 2019**). La tisane de gingembre frais, avec une tranche de citron bio et du miel, est idéale le matin pour remplacer le café et tonifier le système nerveux (**Giraud, 2016**).

2.7.3. En l'intégrant :

Le gingembre est très populaire dans l'industrie alimentaire en tant qu'additif au soda, aux bonbons, aux pâtisseries (pain d'épices, sablés) et aux gâteaux (Haiping, 2020). Il est utilisé aussi principalement dans la salade, les mélanges de thé, les sauces soit sous forme de poudre ou se forme fraîche (Vijayan et al., 2020).

2.8. Les propriétés du gingembre

Z.officinale est l'une des herbes les plus utilisées de la famille des Zingiberaceae. Dans l'histoire récente, cette plante est signalée pour diverses propriétés biologiques à savoir anti-inflammatoires, antioxydantes, antivirales, antimicrobiennes, anti- tumorales et antifongiques (Kumar et al., 2011 ; Teles et al ., 2019) (Figure N°09).

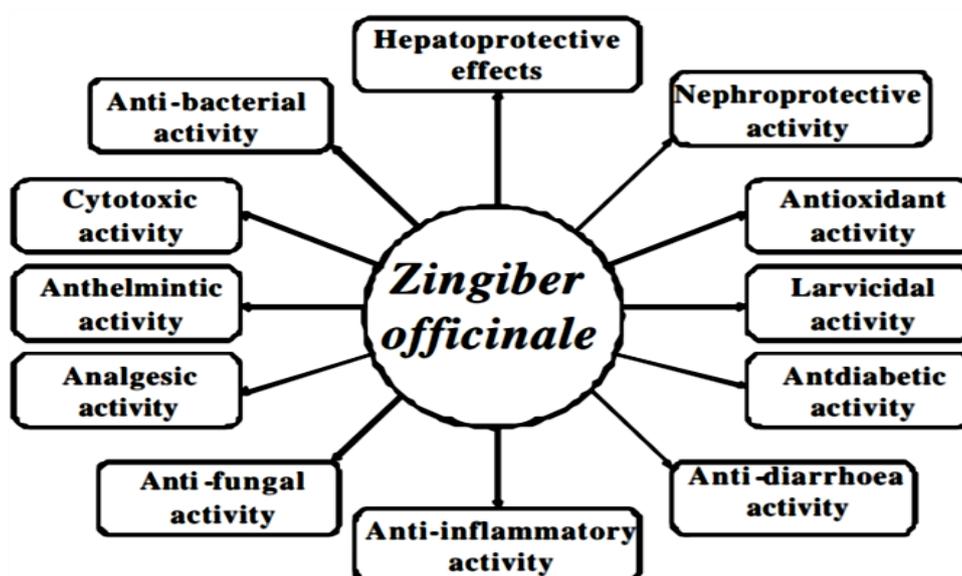


Figure N°09 : Propriétés médicinales de *Zingiber officinale*

(Kumar et al., 2011).

2.8.1. Action anti - inflammatoire

Depuis l'Antiquité, dans diverses populations du monde, les troubles inflammatoires et les maladies apparentées comme les affections rhumatismales ont été traitées avec du gingembre ou ses dérivées en raison de ses larges actions anti-inflammatoires (Gunathilake et Rupasinghe, 2015). Il a été démontré que le gingembre partage des propriétés pharmacologiques avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), car il supprime la synthèse des prostaglandines par l'inhibition de la cyclooxygénase1 et de la cyclooxygénase2.

Cependant, le gingembre peut être distingué des AINS en raison de sa capacité à supprimer la biosynthèse des leucotriènes en inhibant la 5-lipoxygénase. La caractérisation d'une nouvelle phase d'extrait de gingembre inhibe l'induction de plusieurs gènes impliqués dans le codage des protéines de réponse inflammatoire telles que les cytokines, les chimiokines et les enzymes inductibles de cyclooxygénase-2 indiquant que le gingembre module les voies biochimiques qui sont activées en raison d'une inflammation chronique (Agrahari et al., 2015).

2.8.2. Action antioxydante

Le gingembre possède une partie du rhizome riche en plusieurs composés antioxydants tels que : les flavones, les isoflavones, les flavonoïdes, les anthocyanes, les coumarines, les lignines et le (6) gingérol .Ce dernier protège les cellules HL-60 du stress oxydatif et pourrait être un protecteur dominant contre les dommages d'ADN induits par le H₂O₂ et également, il peut agir comme un piègeur des radicaux d'oxygène (Agrahari et al., 2015).

2.8.3. Action antiémétique

Cette propriété antiémétique s'est confirmée dans la prévention des patients en chirurgie postopératoire (gynécologie, laparoscopie), en prévention du mal des transports et en complément des chimiothérapies anticancéreuses. Les composants du gingembre qui sont responsables de l'effet antiémétique sont les 6, 8 et 10 gingérols et le 6- shogaols qui agissent sur les nausées par l'intermédiaire des récepteurs canaux 5-HT(3) à la sérotonine (Gigon, 2012). Ces composants jouent un rôle important dans l'étiologie des nausées et vomissements postopératoires (Kumar et al., 2011). D'autres études ont montré que chez les femmes enceintes, le gingembre était significativement plus efficace que la vitamine B6 (Gigon, 2012).

2.9. Posologie et précaution d'emploi

La consommation du gingembre peut être à n'importe quel moment et même plusieurs fois dans la journée, à condition de respecter les dosages thérapeutiques compris entre 2 à 4 g de gingembre frais ou poudre. D'après L'OMS, les enfants de plus de 6 ans peuvent prendre 1 à 2 g de poudres de rhizome. D'autres études ont révélé que pour les adultes plus de 18 ans, il peut être pris 1 à 2g de poudre oralement. On déconseille la consommation de gingembre avant une opération à cause de ses propriétés anticoagulantes. Il y a une possibilité d'augmentation du risque de saignements (Cardenas, 2017).

Chez les femmes enceintes, il n'est pas contre-indiqué mais ne pas le consommer sur une trop longue période surtout au début de grossesse. Il faut consommer 2 g de gingembre par jour comme une limite supérieure pour les nausées et les vomissements pendant la grossesse (Cardenas, 2017).

2.10. La toxicité et les effets indésirables

Des études récentes ont indiqué que le gingembre et ses constituants possèdent des toxicités aiguës ou chroniques lorsque la prise de gingembre se fait à haute doses. En effet, ce surdosage peut provoquer des irritations de la bouche, des allergies de peau et peut aussi déclencher des maux de ventre, des crampes d'estomac avec blocage de son activité et une diarrhée ainsi que des crampes intestinales (Gigon, 2012 ; Cardenas, 2017).

Le corps humain est soumis à des attaques constantes qui stimulent la réponse inflammatoire. Une fois que l'homéostasie est perturbée et en réponse à certains stimuli, notre corps peut lancer un processus appelé l'inflammation (Chen et al., 2018).

3.1. Définition de l'inflammation

À la suite d'un traumatisme ou d'une infection, l'inflammation est une réponse biologique du système immunitaire qui peut être déclenchée au niveau cellulaire local par divers facteurs, notamment des agents pathogènes, des cellules endommagées et des composés toxiques. Ces facteurs peuvent induire des réponses inflammatoires aiguës et / ou chroniques dans le cœur, le pancréas, le foie, les reins, les poumons, le cerveau, le tractus intestinal et le système reproducteur ...etc. L'inflammation comprend un certain nombre de médiateurs cellulaires et moléculaires tels que des cytokines comme le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et l'interleukine-6 (IL-6), qui sont libérés par les macrophages et les monocytes. Ils sont responsables de la progression de la réponse à un niveau systémique englobant plusieurs organes. La cascade inflammatoire est conçue pour détruire les agents pathogènes microbiens, initier des processus de réparation tissulaire et favoriser un retour à l'homéostasie physiologique (Chen et al., 2018).

3.2. Étiologie

Les étiologies de l'inflammation peuvent être infectieuses ou non infectieuses. Le tableau N°04 regroupe les différents types d'origine de l'inflammation.

Tableau N°04 : Étiologie de l'inflammation (Chen et al., 2018).

Facteurs non infectieux	Facteurs infectieux
<ul style="list-style-type: none"> - Physique: brûlure, engelure, blessure physique, corps étrangers, traumatisme, rayonnement ionisant. - Produits chimiques: glucose, acide gras, toxine, alcool, irritants chimiques. - Biologique: cellules endommagées. - Psychologique: excitation. 	Virus, bactéries, et autres micro-organismes

3.3. Les symptômes

Au niveau des tissus, l'inflammation est caractérisée par des rougeurs, des gonflements et peu de chaleur, de la douleur et une perte de la fonction tissulaire, qui résultent des réponses cellulaires immunitaires vasculaires et inflammatoires locales dues à l'infection ou à la blessure (Chen *et al.*, 2018).

3.4. La pathologie de l'inflammation

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune inflammatoire chronique qui présente diverses manifestations cliniques, notamment une inflammation synoviale et une perte osseuse. Les cellules immunitaires telles que les cellules Th17, les cellules B, les macrophages, les neutrophiles, les mastocytes et les synoviocytes de type fibroblastique sont responsables pour induire et maintenir une inflammation synoviale dans la pathologie de la polyarthrite rhumatoïde (Adamopoulos, 2018).

3.5. Les cellules et les médiateurs de l'inflammation

3.5.1. Les cellules de l'inflammation

La défense immunitaire innée pendant l'inflammation implique plusieurs types de cellules. Il s'agit notamment des leucocytes tels que les granulocytes polymorphonucléaires (neutrophiles, éosinophiles, basophiles) et les agranulocytes (monocytes, macrophages), les cellules épithéliales ou endothéliales pulmonaires, les mastocytes, les cellules NK et les cellules dendritiques. Ces cellules peuvent influencer la fonction de d'autres types de cellules comme les cellules lymphoïdes innées et les lymphocytes (Robb *et al.*, 2016).

3.5.2. Les médiateurs de l'inflammation

Un médiateur inflammatoire est un messenger chimique qui agit sur les vaisseaux sanguins et / ou sur les cellules pour contribuer à une réponse inflammatoire. Ces messagers peuvent être endogènes ou bien exogènes (Larsen et Henson, 1983). Parmi les exemples des médiateurs chimiques, certains sont répertoriés dans le **tableau N°05**.

Tableau N°05: Les médiateurs représentatifs de l'inflammation (Larsen et Henson, 1983 ; Robb et *al.*, 2016 ; Rankin, 2004).

Médiateur	Source	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles	Augmente la perméabilité vasculaire et la contraction des muscles lisses.
C3a, C5a	Protéine de complément C3 et C5	Dégranulation des mastocytes et la contraction des muscles lisses.
Interféron	Lymphocytes T	Activation des macrophages et la modulation des réactions immunitaires.
IL-1	Monocytes / macrophages, lymphocytes T, lymphocytes B et cellules dendritiques.	Inhibe spécifiquement l'activité de l'IL-1 α et IL-1 β pro-inflammatoire.
TNFα	Monocytes, macrophages, cellules T, cellules B, fibroblastes, neutrophiles, cellules NK.	Paracrine et médiateur endocrinien de l'inflammation Cellule B, cellule T, macrophage, neutrophiles, cellules NK et régule la croissance cellulaires.
IL-6	Cellules T, lymphocytes B, neutrophiles, monocytes / macrophages, leucocytes et fibroblastes.	Stimule la synthèse des glucocorticoïdes.
IL-22	Cellules T, cellules NK et cellules dendritiques.	Induit des voies prolifératives et anti-apoptotiques ainsi que la production d'AMP qui servent à bloquer la destruction des tissus pendant l'inflammation intestinale.

3.6. Les type d'inflammation

La réponse inflammatoire aiguë débute par un stimulus antigénique ou une blessure de l'hôte suivie de la libération d'une pléthore de médiateurs tels que l'histamine, l'interleukine...etc. (**Rankin, 2004**). Leur rôle est bien défini car elle permet de protéger le corps des agents pathogènes qui perturbent l'homéostasie.

L'inflammation aiguë se divise en deux phases dont la phase d'initiation occupe des signes cardinaux pour l'inflammation connus depuis longtemps comme la chaleur, la douleur et l'enflure avec un déficit des fonctions éventuelles qui sont contrôlées pour la plupart par des protéines notamment les cytokines, les chimiokines et les dérivés des lipides qui fabriquent des gradients chimiques pour la régulation des leucocytes dans les tissus (**Spite et Serhan, 2018**). Alors que la phase de résolution sert à limiter l'inflammation et restaurer l'homéostasie tissulaire une fois que le signal de danger est éliminé.

En revanche, l'inflammation chronique provoque un dérèglement des systèmes immunitaires grâce à des néopitopes endogènes causants la fibrose et le dysfonctionnement des tissus (**Spite et Serhan, 2018**).

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les rhizomes utilisés dans ce travail sont achetés au niveau du marché d'Ain Témouchent. Ces rhizomes sont frais d'origine chinoise et leur genre est « *Zingiber* » (**Figure N°10**).

Le rhizome de la plante a été séché à l'ombre et à l'abri de l'humidité à température ambiante pendant quelques jours. Une fois séché, ce dernier a été réduit en poudre en utilisant un broyeur automatique puis soumis à l'extraction.



Figure N°10: La poudre des rhizomes de gingembre.

2. Méthodes:

2.1. Préparation des différents extraits de *Zingiber officinale* :

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante du gingembre, différents extraits bruts des rhizomes de gingembre sont préparés.

2.1.1. Extrait brut aqueux

40 g de la matière végétale sont mises en contact avec 200mL d'eau distillée froide. L'ensemble est laissé macérer durant 24 h sous agitation continue. L'opération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les trois fractions sont réunies et filtrées puis évaporées à sec dans une étuve à une température de 45°C. Le produit est récupéré sous forme de solide de couleur marron.

2.1.2. Extraits bruts eau/Méthanol et eau /Acétone

Selon la méthode de **Upson et coll. (2000)**, 5 g de la matière végétale séchée sont placées dans un récipient en verre couvert de 100 mL de méthanol aqueux 70% ou acétone aqueux 70% ; le tout est chauffé à 70°C pendant 5 minutes (ce procédé tue le tissu végétal et empêche l'oxydation ou l'hydrolyse enzymatique). L'échantillon est laissé macérer durant 24h, et l'opération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant.

Matériel et méthodes

Après filtration des fractions sur du papier filtre, elles sont réunies et évaporées à sec en utilisant un rotavapeur à température 45-50°C.

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) 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 sous agitation pendant 1 min. Finalement, 50 ml d'eau distillé sont ajoutés et soumis à l'agitation pendant 1min. Le mélange est filtré à travers le papier filtre (diamètre : 15 cm). 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. La phase chloroformique est récupérée et elle est soumise à l'évaporation à l'aide d'un rotavapeur sous pression réduite à 40°C. L'extrait résultant constitue l'huile totale de *Zingiber officinale* caractérisée par une couleur jaune.

2.3. Le rendement des extraits secs

Nous avons déterminé le rendement en extrait sec, en calculant le rapport entre le poids de l'extrait sec (poudre) en gramme, et le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme ; selon l'équation suivante:

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

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation ;

P3: poids de la matière végétale initial.

2.4. Le rendement de l'huile fixe

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile totale obtenue et la masse de la matière végétale à traiter (**Belyagoubi, 2014**) :

$$\text{R H} = \text{MH} / \text{Mvs} \cdot 100$$

R H: Rendement en huile totale.

MH : Masse d'huile récupérée en g.

Mvs : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

2.5. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits des rhizomes de *Zingiber officinale*.

- **Les tanins (Karumi et al., 2004)**

On ajoute 3 gouttes de FeCl_3 1% à 1 mL d'extraits. Après deux minutes d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue ou verte foncée.

- **Les flavonoïdes (Karumi et al., 2004)**

2 mL de chaque extrait végétal sont traités avec quelques gouttes d' HCL 37%, et avec 0.5 g de tournure de magnésium (Mg). Le test positif est marqué par l'apparition d'une couleur rouge ou orange qui caractérise les flavonoïdes.

- **Les terpénoïdes**

On ajoute 1 mL de chloroforme et 1.5 mL de H_2SO_4 concentrée à 2.5 mL de nos extraits. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

- **Les stérols: réaction de Libermann-Burchard**

On traite 1 mL d'extrait avec 2.5 mL d'anhydride acétique et 10 gouttes d' H_2SO_4 concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée virant au vert.

- **Les coumarines**

A 1 mL de chaque extrait, on ajoute 1 mL d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont la première représente un témoin et la deuxième est traitée avec 0.5 mL de NH_4OH à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines (Bruneton, 2000).

- **Les alcaloïdes**

2.5 mL d'HCl à 1 %, sont ajoutés à 0.1 mL d'extrait, et incubés au bain- marie pendant 10 min. La solution obtenue est divisée en deux parties. On ajoute à l'une le réactif de Mayer et à l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Matériel et méthodes

Réactif de Mayer: Dissoudre 1.358g d' HgCl_2 dans 60 mL d'eau distillée puis 5g de KI dans 10 mL d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100mL.

Réactif de Wagner: Dans 75mL d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I_2 . Le volume obtenu est ajusté à 100 mL avec l'eau distillée.

- **Les quinones libres**

A un volume de 1mL de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

- **Les saponosides**

On ajoute 1 mL d'eau distillée à 2 mL de chaque extrait, puis la solution est agitée pendant 1 minute. La présence des saponosides est confirmée par l'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes. Le test est considéré comme positif si l'épaisseur de la mousse dépasse 1cm.

- **Les composés réducteurs**

On ajoute à 1 mL de nos extraits 0.5 mL de Liqueur de Fehling A et B puis on chauffe les tubes au bain marie à 100°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Trease et Evans, 1987).

2.6. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

2.6.1. Préparation de l'extrait pour les dosages

Les trois extraits bruts : aqueux, hydrométhanoliques et hydroactéoniques du rhizome de la plante *Zingiber officinale* sont solubilisés dans le méthanol à une concentration de 1,25 mg/mL pour le dosage des flavonoïdes totaux et des polyphénols totaux.

2.6.2. Dosage des polyphénols totaux

a- Principe

La méthode est celle utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite dont l'absorption maximum est

Matériel et méthodes

comprise entre 700 et 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

b- Mode opératoire

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Wang et al., (2006)**:

➤ 0.1 mL de l'échantillon est mélangé avec 2.5 mL d'une solution de Folin ciocalteu (10 fois dilué).

➤ Agitation au vortex

➤ Laisser reposer 5 minutes

➤ Addition de 2.5 mL d'une solution de Carbonate de sodium Na_2CO_3 à 2%

➤ Laisser reposer pendant 30 minutes à la température ambiante

➤ La lecture est faite à 725 nm contre un blanc

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,018-0,037-0,075-0,15-0,31-0,625-1,25 mg/mL).

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique /g d'extrait et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de polyphénols} = a .f/b$$

a : Concentration en polyphénols en mg/mL déterminée à partir de la courbe d'étalon

f : Facteur de dilution (x50)

b : Concentration initiale de l'extrait (1,25 mg/mL)

2.6.3. Dosage des flavonoïdes totaux

a- Principe

Les flavonoïdes sont dosés par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

b- Mode opératoire

- 500 µL de l'échantillon sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée
- Addition de 150 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15 %
- Laisser reposer pendant 6 minutes
- Addition de 150 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 6 H₂O) à 10%
- Laisser reposer pendant 6 autres minutes
- Addition de 2 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4%
- Le volume total est complété à 5 mL d'eau distillée
- Agiter et laisser reposer pendant 15 minutes

La lecture est faite à 510 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0.0045, 0.018, 0.037, 0.075, 0.15, 0.31, 0.625, 1.25 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait, selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de flavonoïdes} = a \cdot f / b$$

a : Concentration des flavonoïdes en mg/mL déterminée à partir de la courbe étalon

f : Facteur de dilution (x10)

b : Concentration initiale de l'extrait (1,25 mg/mL).

2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, *in vitro*, des extraits et l'huile du rhizome de *Zingiber officinale*

2.7.1. Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 6 mL) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à l'université Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires (20-45 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

2.7.2. Préparation de la suspension des globules rouges humains

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min. Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10 % (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.

2.7.3. Evaluation de la toxicité des extraits et de l'huile du rhizome de *Zingiber officinale* vis-à-vis des globules rouges

Avant d'entreprendre le test de l'activité anti-hémolytique des extraits des rhizomes de *Zingiber officinale*, un test de toxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser. En effet, 1,6 mL de différentes concentrations des trois extraits à tester, ainsi que diclofenac, pris comme molécule anti-inflammatoire de référence, ont été mélangées avec 0.4 mL de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 min, puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été effectuée à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 0.4 mL de la suspension de globules rouges et 1.6 mL d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement.

Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (A_t / A_c) * 100 \text{ (Shobana et Vidhya, 2016).}$$

A_t : absorbance de l'échantillon (test)

A_c : absorbance de control (100 % d'hémolyse)

2.7.4. Evaluation de l'effet des extraits de *Zingiber officinale* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test se base sur l'effet des extraits de la plante étudiée sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de (Ganesh *et al.*, 2013).

Matériel et méthodes

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 mL d'extraits de rhizome de gingembre, 1.5 mL du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 mL de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %) ont été mélangés et incubés, à 37 °C pendant 20 min. Par la suite, un volume de 0.5 mL de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56 °C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, Le contrôle consiste en un mélange de 2 mL de la solution hyposaline, 2 mL du tampon PBS, 0.5 mL de la suspension de globules rouges et 0.5 mL d'eau physiologique.

Le diclofenac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = [(Ac - At) / Ac] * 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test)

2.7.5. Traitement statistique

Tous les résultats sont exprimés comme une moyenne \pm l'erreur standard de la moyenne de 4 échantillons de sang de volontaires différents. L'analyse statistique a été effectuée, en utilisant Excel 2007.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Dans cette partie, nous exposons les résultats obtenus dans l'étude phytochimique et le calcul des rendements des différents extraits bruts (aqueux, eau / méthanol, eau / acétone) et l'huile préparés. Nous avons déterminé aussi la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes et nous avons évalué la toxicité et l'activité anti-inflammatoire des différents extraits et de l'huile de gingembre « *Zingiber officinale* » qui ont été réalisées selon des méthodes basées sur le calcul du pourcentage d'inhibition d'hémolyse vis-à-vis des globules rouges.

1. Etude phytochimique

1.1. Rendement d'extraction

1.1.1. Rendement en extraits secs

Après séchage, on a obtenu une poudre de rhizomes de *Z. officinale* qui a été soumise à une extraction par macération, en utilisant des solvants de polarité différente (eau/Méthanol, aqueux et eau/acétone). Après évaporation, nous avons obtenu des extraits bruts pour déterminer le poids sec résultant. Leur rendement a été défini par rapport aux poids du matériel végétal sec. Les résultats ont été mentionnés dans l'histogramme suivant, exprimés en pourcentage. **Le tableau N°06** ci-dessous montre les caractéristiques physiques de chaque extrait sec.

Tableau N°06 : Les caractéristiques physiques des trois extraits préparés.

L'extrait	Aspect	Couleur	Rendement(%)
aqueux	Pâteux	Marron foncé	28,2
méthanol	Pâteux	Marron foncé	20
acétone	Pâteux	Marron claire	16,8

Après évaporation, nous remarquons que l'aspect général des extraits préparés était généralement semblable c'est à dire de nature pâteuse avec des couleurs variant entre le marron foncé pour l'extrait aqueux et hydro-méthanolique et le marron clair pour l'extrait hydro-acétonique.

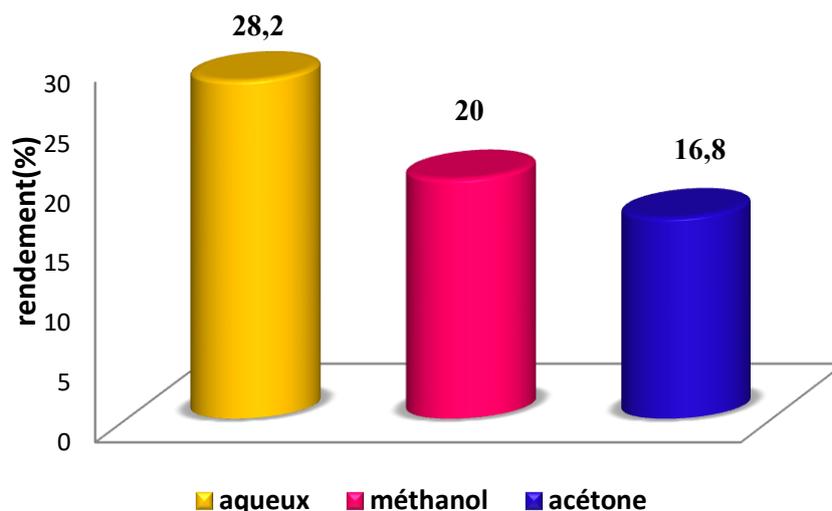


Figure N° 11 : Rendements des extraits des rhizomes de *Z. officinale*

D'après les résultats mentionnés dans l'histogramme de **la figure N°11**, nous remarquons que le rendement d'extraction des rhizomes de *Zingiber officinale* le plus élevé est celui de l'extrait aqueux estimé à 28,2% par rapport au poids total des rhizomes suivi par l'extrait méthanolique avec un taux égale à 20% et l'extrait acétonique dont la teneur est de 16.8%.

Nos résultats enregistrés sont différents de ceux obtenu par **Poonkuil et al., en 2017** qui ont trouvé un rendement en extrait aqueux égale à 1,4% suivi de l'extrait méthanolique (3,7%) et l'extrait acétonique (2,2%). Dans une autre étude faite par **Arawande et ses collaborateurs (2018)**, un pourcentage de 16,62% pour l'extrait aqueux et 10,14% pour l'extrait acétonique ont été obtenus. **Ziaur et al., (2003)** ont enregistré des rendements de 15,61% et 9,88% pour l'extrait méthanolique et l'extrait acétonique respectivement.

Selon plusieurs études, la différence des rendements varient d'une plante à une autre selon plusieurs facteurs : géographiques, physicochimiques ou biologiques, la période de récolte, les types de sols, la topographie, la lumière, la saison, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction, les types de solvants utilisés et la partie de la plante étudiée (**EL-Haoud et al., 2018**).

Finalement, nous pouvons conclure que l'eau s'est révélée parmi les meilleurs solvants extractibles testés. Par ailleurs, le méthanol est recommandé aussi et il est fréquemment employé dans l'extraction. De plus, le mélange méthanol/eau est deux fois plus efficace que le méthanol pur pour l'extraction.

1.1.2. Rendement d'extraction de l'huile

Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à 10 g de la matière végétale sèche. Le poids de l'huile totale est calculé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

D'après les calculs effectués, nous constatons que les rhizomes de la plante de *Zingiber officinale* possèdent un bon rendement en huile fixe estimé à 4,46% ;

Nos résultats des rendements obtenus sont supérieurs de ceux trouvés dans l'étude d'**Arifuddin et al., en 2017**, qui ont travaillé sur la même plante et qui ont obtenu un rendement égale à 2,9%.

La différence de ces résultats peut être due à plusieurs facteurs tels que : l'origine géographique, le processus de séchage, la température et la méthodologie analytique (**EL-Haoud et al., 2018**).

1.2. Criblage phytochimique

Les médicaments à base de plantes sont considérés comme le principal remède dans le système traditionnel de la médecine. Elles ont été utilisées dans les pratiques médicales depuis l'antiquité. Le *Zingiber officinale* est utilisé dans plusieurs systèmes de médecine pour une variété de maladies. L'objectif de cette étude est de détecter la présence de diverses substances chimiques par le criblage phytochimiques qui nous renseignera sur les composants chimiques produites par ce rhizome (**Mungole et al., 2010**).

Le criblage phytochimique est une technique réalisée à l'aide de méthodes standards pour mettre en évidence la présence des métabolites secondaires d'une plante tels que : les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes.... etc (**Nguyen et al., 2020**). Ce criblage facilite l'estimation quantitative et la séparation qualitative des composés chimiques (**Bhandary et al., 2012**) en se basant soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions basées sur le phénomène de précipitation ou bien sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions spécifiques de coloration ,soit par un examen sous la lumière UV (**El-Haoud et al., 2018**).

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique a été réalisée sur les trois extraits aqueux, hydro-méthanolique et hydro-acétonique du *Zingiber officinale*. Cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelque groupe chimique. Les résultats obtenus dans cette étude sont mentionnés dans **le tableau N°07**.

Tableau N°07 : Résultats des tests phytochimiques des différents extraits de *Zingiber officinale*.

Métabolite secondaire Extrait		Aqueux	Eau/méthanol	Eau/acétone
Tanins		++	+++	+++
Flavonoïdes		++	++	++
Terpénoides		++	+	+++
Stérols		-	-	-
Coumarines		-	-	-
Alcaloïdes	<i>Réactif de Mayer</i>	+	+	+
	<i>Réactif de Wagner</i>	++	++	++
Quinones libres		++	++	+++
Saponosides		-	-	-
Composés réducteurs		++	++	++

+ : Présence en quantité faible

- : Absence total

++ : Présence en quantité moyenne

+++ : Présence en quantité abondante

Les résultats du criblage phytochimique qualitatif préliminaire des extraits aqueux, hydro-méthanolique et hydro-acétonique rapportés dans le **tableau N°07** révèlent que le rhizome de *Zingiber officinale* présente une diversité moléculaire en métabolites secondaires. Nous remarquons que les tanins et les quinones libres sont présents avec une forte intensité dans l'extrait eau/méthanol et eau/acétone. Cependant, les classes des flavonoïdes et des composés réducteurs sont détectées dans chaque extrait mais en quantité moyenne. Concernant les terpénoides, ils sont abondamment présents dans l'extrait eau/acétone, et moyennement présents dans l'extrait aqueux. D'autre part, nous remarquons une faible précipitation blanche des alcaloïdes au contact avec le réactif de Mayer et une moyenne précipitation brune au contact avec le réactif de Wagner et ceci dans les trois extraits. En revanche, une absence totale des stérols, des coumarines et des saponosides a été enregistrée dans tous les trois extraits testés.

Les résultats des tests phytochimiques des différents extraits de *Zingiber officinale* obtenus dans notre étude sont différents de ceux trouvés par **Arawande et al., en 2018** qui ont rapporté la présence de plusieurs métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols, les saponines en faible quantité et aucune présence des tanins dans l'extrait aqueux. Néanmoins, les travaux conduits par **l'équipe d'Iostor en 2019** ont mis en évidence la présence des flavonoïdes en forte quantité et une présence moyenne des saponines et des triterpènes avec une absence totale des tanins, des alcaloïdes et des stérols dans l'extrait méthanolique.

La différence des résultats trouvés comparée à d'autres recherches peut être due à plusieurs facteurs tel que : la variété du fruit, le statut de maturité et le traitement après la récolte, la nature du solvant, le lieu géographique, la période de récolte et aussi la méthode d'extraction qui peuvent contribuer à cette différence.

1.3. Analyse phytochimique quantitative

1.3.1. Estimation quantitative des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des différents extraits bruts de *Zingiber officinale* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols dans nos trois extraits (aqueux, eau/méthanol, eau/acétone) a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage élaborée avec différentes concentrations (0,018-0,037-0,075-0,15-0,31-0,625-1,25 mg/mL) d'une solution standard d'acide gallique.

Notre courbe d'étalonnage comprend une équation de la régression linéaire ($y = 0,6601x - 0,0032$) et un coefficient de corrélation de ($R^2 = 0,9945$) et qui sont représentés sur **la figure N°12**.

Les résultats de la teneur en polyphénols de nos trois extraits obtenus à partir de l'équation de la régression linéaire de notre courbe d'étalonnage sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique (mg EAG) par g d'extrait, après une analyse quantitative par spectrophotomètre en utilisant la méthode du Folin-Ciocalteu (**Figure N°13**).

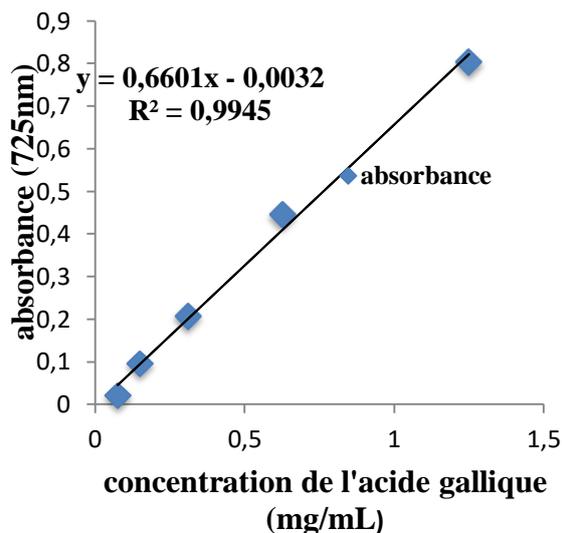


Figure N°12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

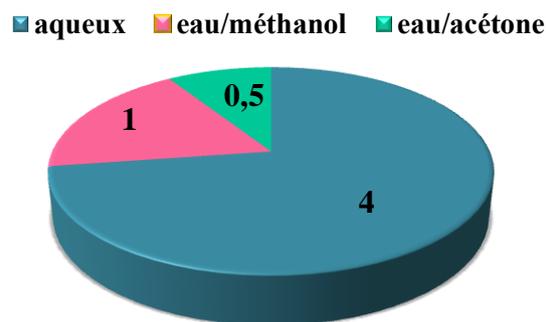


Figure N°13: Teneur en polyphénols totaux (TPT) dans les différents extraits du rhizome de *Zingiber officinale*

D'après les résultats mentionnés dans la **figure N°12**, nous remarquons qu'il y a une variation considérable entre les teneurs en phénols totaux dans les trois extraits du rhizome de la plante étudiée variant entre 0.5 à 4 mg EAG/g. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux et qui est estimée à 4mgEAG/g d'extrait suivi par l'extrait eau/méthanol avec une teneur égale à 1mgEAG/g. Tandis que l'extrait hydro-actéonique a révélé la teneur la plus faible en composés phénoliques équivalente à 0.5 mg EAG /g.

D'après les résultats obtenus dans l'étude d'**EL-Sayed et al., en2013**, l'extrait aqueux des rhizomes de *Zingiber officinale* possède une quantité moyenne de polyphenols estimée à 11,6 mg EAG/g. Cependant, ils ont montré que l'extrait acétonique de la plante contient un taux en polyphenols très élevé estimé à 63,79 mg EAG/g. **Abd El-Salam et ses collaborateurs en 2017**, ont constaté que l'extrait méthanolique possède un faible taux en polyphenols égale à 2,51mgAGE/g.

D'autre part, en **2013 EL-Sayed et al.**, ont constaté que l'extrait acétonique des rhizomes de *Zingiber officinale* est caractérisé par des teneurs élevées en polyphenols.

1.3.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits bruts a été déterminée selon la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium en utilisant la catéchine comme un contrôle positif pour tracer une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait

La teneur en flavonoïdes dans nos trois extraits a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage élaborée avec différentes concentrations (0.0045, 0.018, 0.037, 0.075, 0.15, 0.31, 0.625 mg/mL) d'une solution standard de catéchine.

Notre courbe d'étalonnage comprend une équation de la régression linéaire ($y = 2,0944x + 0,0275$) et un coefficient de corrélation de ($R^2 = 0,9933$) qui sont reportés sur la **figure N°14**.

Les résultats de la teneur en flavonoïdes de nos trois extraits obtenus à partir de l'équation de la régression linéaire de notre courbe d'étalonnage sont exprimés en mg équivalents catéchine (mg EC) par g d'extrait, après une analyse quantitative par spectrophotomètre par la méthode au trichlorure d'aluminium (**Figure N°15**).

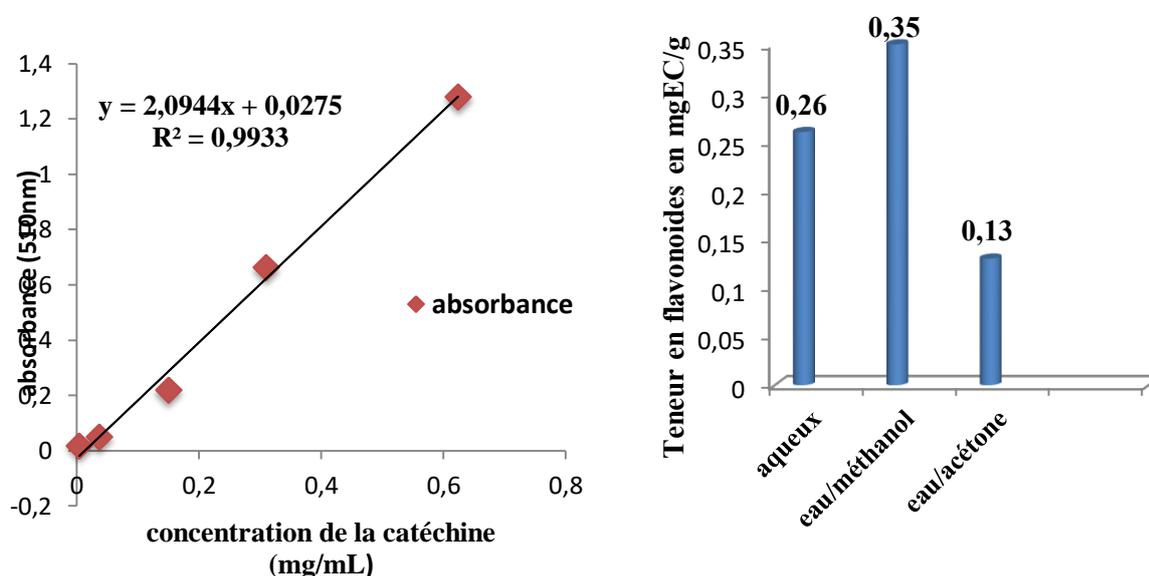


Figure N°14 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Figure N°15 : Teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits du rhizome de *Zingiber officinal*.

Le dosage des flavonoïdes obtenu dans **la figure N°15** a révélé des concentrations très variables entre les extraits testés et que les extraits hydro-méthanolique et aqueux sont les fractions les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs égales à 0.35 mg EC/g et 0.26 mg EC/g respectivement. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans le dosage des polyphénols. Ceci peut être expliqué par la diversité structurelle et les propriétés physico-chimiques des flavonoïdes.

Nos résultats obtenus sont soutenus par les résultats d'une étude faite par **Abd El-Salam et al., (2017)** où un taux très faible en flavonoïdes estimé à 1,67 mg AGE/g dans l'extrait méthanolique a été enregistré.

La différence des résultats des quantités en polyphénols et en flavonoïdes est due probablement à des processus tels que : l'emplacement, les conditions environnementales, les différentes méthodes d'extraction (**Abd-Ghafa et al., 2010**), les différents types de solvants organiques utilisés, l'effet de la température et la concentration. (**Li et al., 2006**)

Finalement le rhizome de la plante *Zingiber officinale* est très important pour la santé humaine car les polyphénols et les flavonoïdes qu'il contient sont des molécules bioactives recommandées en biothérapie.

2. Analyse biologique

2.1. Evaluation de la toxicité des extraits du rhizome de *Zingiber officinale* vis-à-vis des globules rouges

Les plantes médicinales possèdent leurs propres résidus bioactifs qui sont les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces derniers présentent des activités anti-inflammatoire et antioxydante. Pour cela ces plantes jouent un rôle très important dans le système de soin de santé et sont utilisées comme une source thérapeutique dans la médecine traditionnelle (**Kumar et al., 2011**).

Dans cette étude, nous avons traité la toxicité des extraits des rhizomes de *Zingiber officinale* vis-à-vis des globules rouges humains qui sont des sacs limités par une membrane hémiperméable renfermant une solution riche en hémoglobine. Après, nous avons testé l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de ces extraits préparés en les comparant au Diclofenac qui est considéré comme une molécule anti-inflammatoire de référence. La toxicité a été testée à différentes concentrations d'extraits comparée à un contrôle incluant une suspension érythrocytaire et l'eau distillée. La quantification de la toxicité a été suivie par un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 560 nm et les résultats obtenus sont représentés sur **la figure N°16** et sont exprimés en pourcentage d'hémolyse.

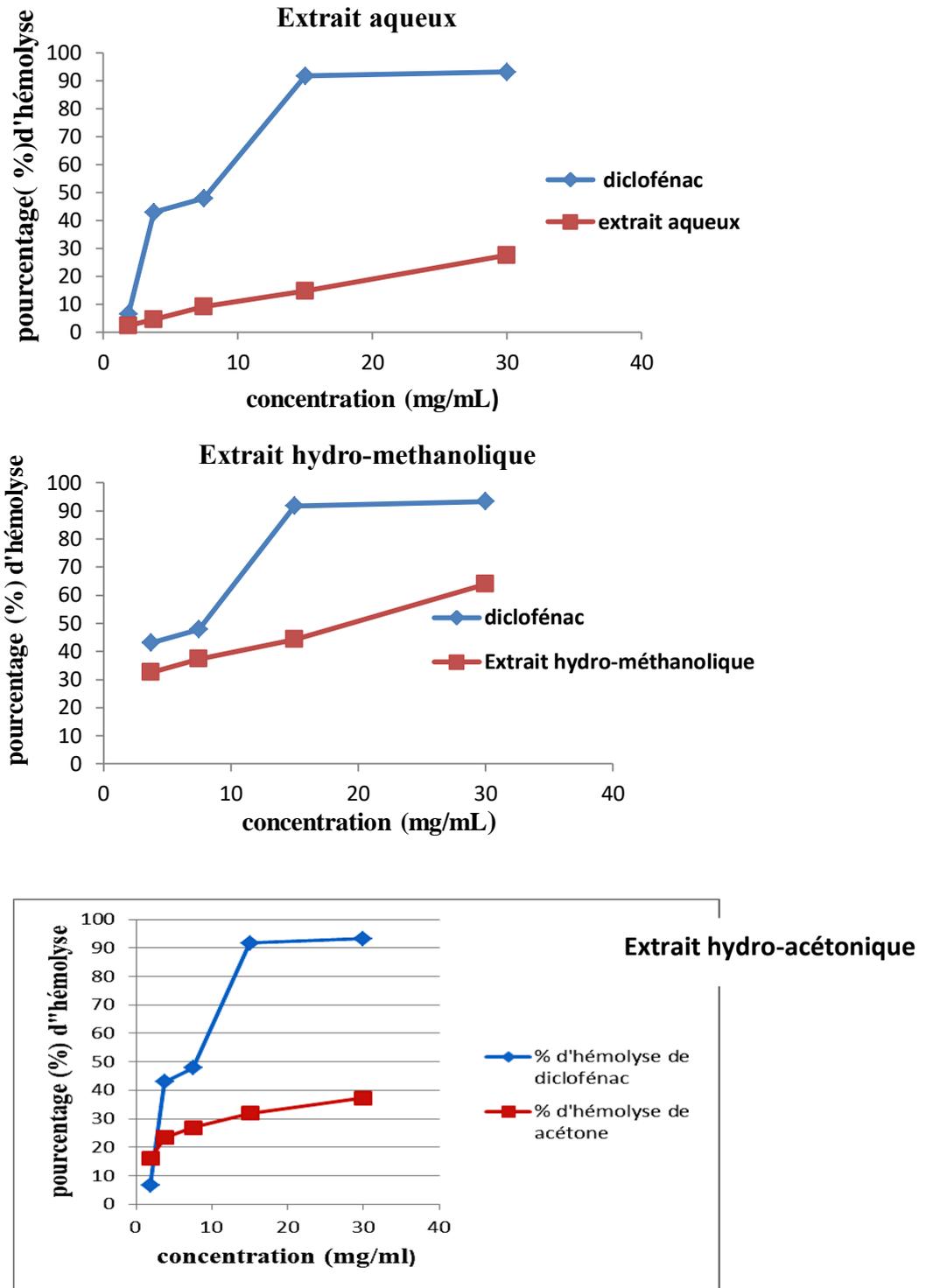


Figure N°16: Evolution du pourcentage d'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations des extraits des rhizomes de *Zingiber officinale* à 560 nm.

Résultats et discussion

A partir des résultats enregistrés dans la **figure N°16**, nous remarquons que les taux d'hémolyse obtenus dans les extraits augmentent en fonction des concentrations d'extrait utilisé pour le traitement des globules rouges humains donc le pourcentage d'hémolyse à une relation proportionnelle avec les concentrations.

Nos résultats obtenus révèlent qu'après le traitement des globules rouges par les différentes concentrations en anti-inflammatoire de référence 'le diclofenac', une augmentation en pourcentage d'hémolyse très importante est notée et qui reste supérieure à ceux des trois extraits testés.

D'autre part, l'extrait méthanolique montre un taux élevé du pourcentage d'hémolyse variant entre 63,93 % et 22,66% aux concentrations allant de 30 à 1,875mg/mL. En ce qui concerne l'effet de l'extrait hydro-acétonique, il est moins toxique comparé à l'extrait hydro-méthanolique. Tandis que l'extrait aqueux est considéré comme le moins toxique de tous les extraits testés avec un pourcentage d'hémolyse ne dépassant pas les 27% à une concentration élevée estimée à 30mg/mL.

Nos résultats obtenus concordent avec l'étude menée par **Ayodele et ses collaborateurs, en 2015**, qui ont trouvé que l'extrait aqueux à différentes concentrations allant de 1000 à 31,3 mg/mL possède un taux de pourcentages d'hémolyse vis-à-vis des globules rouges humains faiblement toxiques qui varie de 5,2% à 1,3% respectivement, ce qui indique que le rhizome de gingembre est relativement non toxique sur le plan thérapeutique pour les humains. En effet, le mécanisme biochimique des érythrocytes ressemblent à d'autres cellules. Donc on peut conclure que l'efficacité de cet extrait agit comme un indicateur de la toxicité.

Nos taux d'hémolyse restent inférieurs à ceux obtenus une autre étude menée par **Asnani et ses collaborateurs en 2006**, qui ont évalué l'extrait aqueux à différentes concentrations variant entre 100 et 0.5 mg/mL et ont utilisé en parallèle le parabène aux mêmes concentrations comme un témoin pour détecter son effet dans l'extrait aqueux de *Zingiber officinale*. Ainsi, ils ont noté des pourcentages d'hémolyse différents allant de 78,18% à 22,52% et qui restent très supérieurs à ceux trouvés dans notre étude.

D'après les travaux d'**Asnani et ses collaborateurs (2006)**, ces derniers ont constaté que l'addition simultanée d'extrait aqueux de gingembre dans le parabène retarde considérablement le pourcentage d'hémolyse. Egalement, le parabène a provoqué un gonflement et éventuellement l'éclatement des cellules. Cela pourrait être dû à l'action directe

Résultats et discussion

du parabène sur la membrane plasmique qui agit sur la peroxydation lipidique, et provoque l'altération de la perméabilité membranaire et la lyse cellulaire.

On peut donc conclure que l'extrait aqueux de gingembre est un réducteur efficace pour la réduction des pourcentages de l'hémolyse.

L'équipe de **Bilto en 2015**, ont évalué l'effet cytotoxique de l'extrait méthanolique du rhizome de la plante *Zingiber officinale* et ceci à partir des concentrations de 0,2 mg/mL, 0,4mg/mL, 0,6mg/mL et 0,8 mg/mL et en utilisant le H₂O₂ comme un témoin. Donc, ils ont obtenu divers pourcentages d'hémolyse d'érythrocytes correspondants aux valeurs 5%, 1,7%, 1,7% et 1,7% respectivement. La présente étude *ex vivo* sur des érythrocytes normaux a montré que la pré-incubation de ces derniers avec l'extrait méthanolique de gingembre exposé au H₂O₂ a diminué les pourcentages d'hémolyse.

2.2. Evaluation de la toxicité d'huile du rhizome de *Zingiber officinale* vis-à-vis des globules rouges

L'extraction de l'huile totale à partir des rhizomes de *Zingiber officinale* a été effectuée selon la méthode de **Kim (1992)**. Dans cette étude, nous avons traité la toxicité de l'huile totale vis-à-vis des érythrocytes humains. Les résultats obtenus sont mentionnés dans la **figure N°17**.

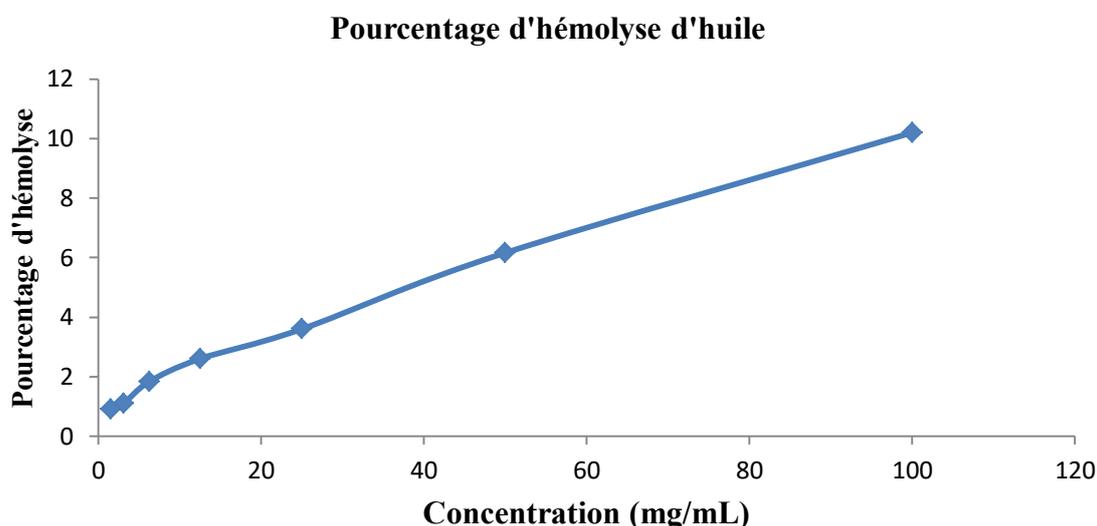


Figure N°17 : Evolution du pourcentage d'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations de l'huile de *Zingiber officinale* à 560nm.

Résultats et discussion

Selon les résultats enregistrés dans la **figure N°17**, et à partir des concentrations allant de 100mg/mL à 1,56mg/mL, nous distinguons un faible pourcentage d'hémolyse ne dépassant pas 10% pour la concentration en huile la plus forte (100mg/mL).

Finalement, nous pouvons classer l'effet cytotoxique des trois extraits et de l'huile testés à différentes concentrations qui sont mises en contacts avec les globules rouges humains selon un ordre décroissant comme suit : extrait hydro-méthanolique> extrait hydro-acétonique> extrait aqueux> l'huile.

2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, *in vitro*, des extraits du rhizome de *Zingiber officinale*

L'activité anti-inflammatoire a un large éventail de médiateurs chimiques car elles stimulent rapidement d'autres cellules au site de l'inflammation ce qui contribue à une réponse inflammatoire très efficace.

L'objectif de notre présente étude est de rechercher le mécanisme du potentiel anti-inflammatoire des trois extraits aqueux, hydro-méthanolique et hydro- acétonique ainsi que l'huile du rhizome de gingembre à travers un protocole de fractionnement utilisant une expérience anti-inflammatoire *in vitro*. Les résultats obtenus sont mentionnés dans la **figure N°18**.

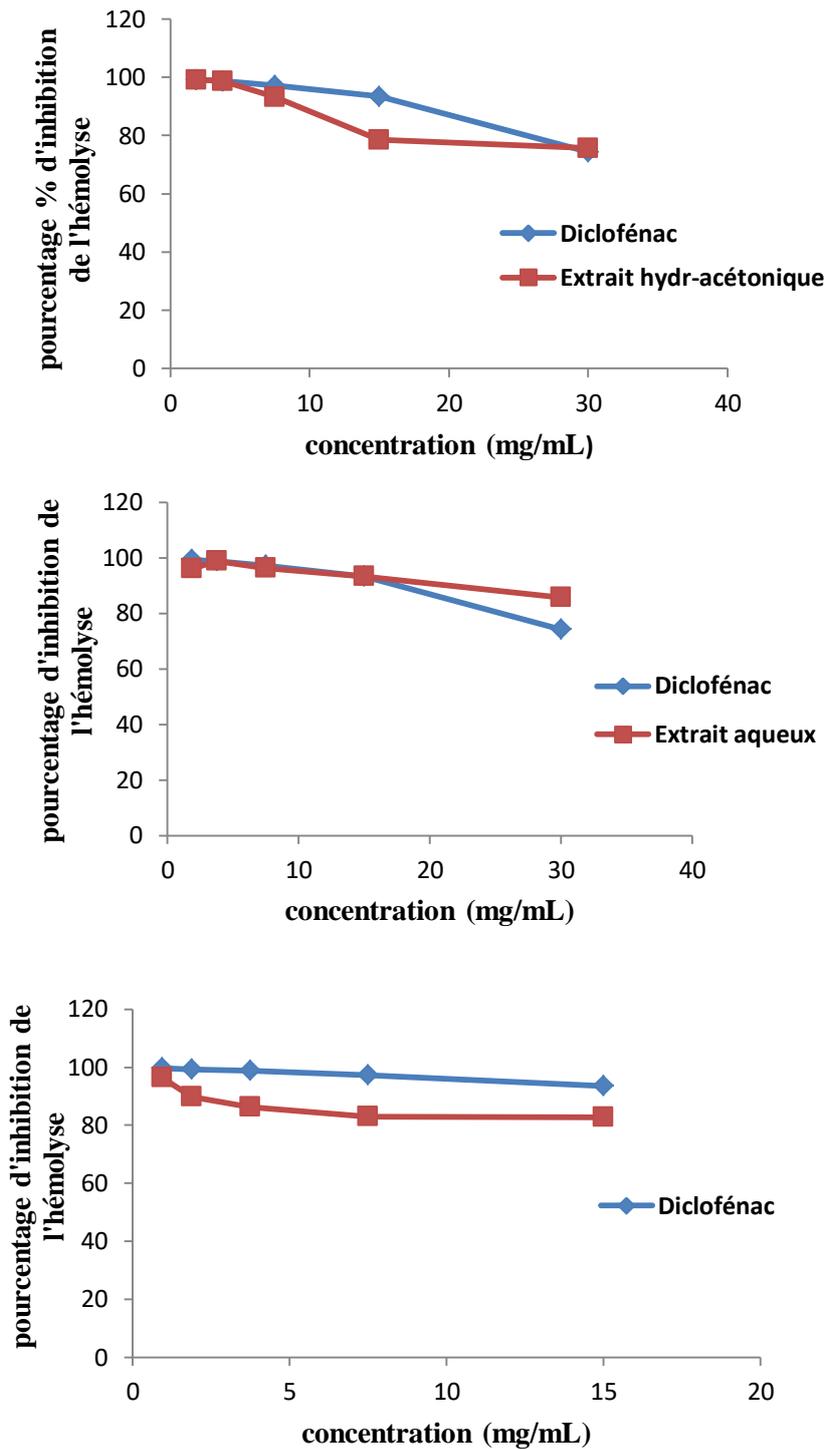


Figure N°18: Evolution des pourcentages d’inhibitions de l’hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations en extraits des rhizomes *Zingiber officinale* à 560 nm.

Résultats et discussion

A partir des courbes représentées sur la **figure N°18**, nous remarquons que lorsque la concentration en extrait diminue, le pourcentage d'activité anti-inflammatoire augmente donc les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse est inversement proportionnelle à l'augmentation des concentrations.

Aux concentrations d'extrait aqueux testées allant de 30 à 0,058 mg/mL, nous avons enregistré un fort pourcentage d'inhibition d'hémolyse qui varie entre 85,7 % et 100% comparativement aux concentrations précédentes. Le diclofenac marque aussi un pourcentage d'inhibition d'hémolyse très important variant entre 74,26% et 99,83%. D'autre part, nous avons noté que l'extrait hydro-méthanolique aux concentration testées présente des pourcentages d'inhibitions d'hémolyse très pertinents compris entre 82,8% et 98,1 % et qui restent légèrement supérieurs à ceux de l'anti-inflammatoire de référence.

Nos résultats sont contradictoires avec ceux obtenus par **Padmanabhan et al., (2012)** qui ont analysé l'activité de l'extrait méthanolique et ont utilisé l'acetyl-salicylic comme étalon qui offrait également une protection significative de la membrane contre les effets nocifs induits par la solution hypotonique pour prouver l'activité anti-inflammatoire. Aux concentrations 100, 200 ,300 ,400 et 500 mg/mL, **Padmanabhan et ses collaborateurs** ont obtenu un pourcentage d'inhibition d'hémolyse moyen et qui est égale à 16,52 %, 18,26 %, 27,56%, 28,99% et 30,72 % respectivement. Tandis que l'acétyl-salicylic a présenté un pourcentage d'inhibition d'hémolyse compris entre 32,75 % et 39,13 % pour les mêmes concentrations d'extrait méthanolique testé.

Dans l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, la stabilisation de la membrane est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des composants lysosomiques de neutrophiles activés tels que les enzymes bactéricides et les protéases, qui causent une inflammation des tissus et des dommages supplémentaires.

2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, *in vitro*, de l'huile totale du rhizome de *Zingiber officinale*

L'extraction des rhizomes de *Zingiber officinale* a fourni une huile totale ayant de fortes et persistantes odeurs. L'étude de l'activité anti-inflammatoires a permis d'obtenir les résultats représentés dans la **figure N°19**.

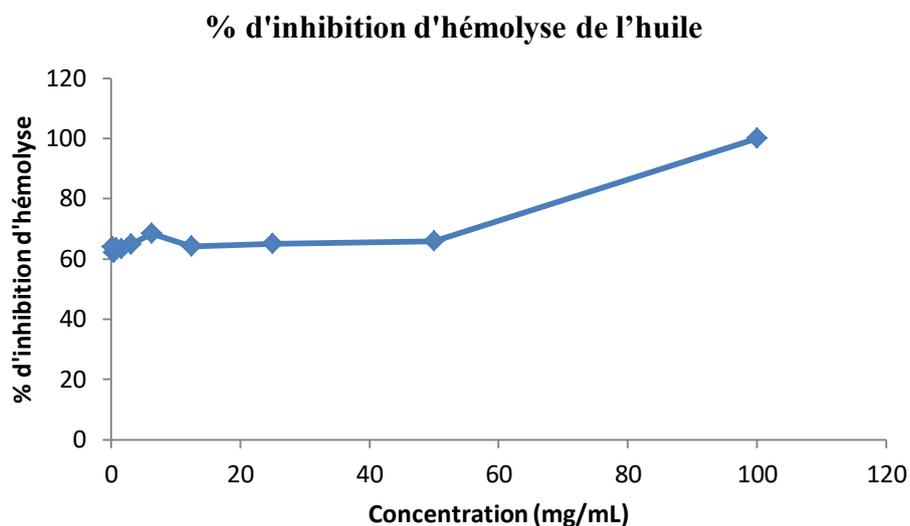


Figure N°19 : Evolution du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en fonction des différentes concentrations de l'huile de *Zingiber officinale* à 560nm

D'après les résultats obtenus dans le graphes ci-dessous, nous pouvons constaté que les huiles de rhizomes de *Zingiber officinale* aux concentrations testées possèdent un très haut pourcentage d'inhibition d'hémolyse variant entre 64% et 100%.

Nos résultats sont en accords avec ceux trouvés par **Aafreen et al., en 2019**. Dans leur étude, ils ont utilisé des nanoparticules après leur extraction de l'huile qui ont servis comme témoin pour révéler la présence de l'activité anti-inflammatoire des huiles totales de gingembre.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le *Zingiber officinale* est une source thérapeutique, qui recèle plusieurs propriétés médicales grâce à ses composants bioactifs qui résident dans le rhizome.

Dans le cadre de la recherche, nous étions curieuses et attirées par cette étude scientifique qui porte sur l'étude phytochimique et évaluation de la toxicité et de l'activité anti-inflammatoire des extraits et huile total des rhizomes de la plante *Zingiber officinale*, connue pour sa capacité à traiter plusieurs maladies.

Pour cela, nous avons préparé nos extraits avec trois solvants de polarités différentes à savoir : aqueux, hydro-méthanolique et le hydro-acétonique. Le meilleur rendement a été obtenu à partir de l'extrait aqueux estimé à 28,2% par rapport au poids total des rhizomes. Le criblage phytochimique réalisé sur ces trois extraits a révélé la richesse de cette plante en métabolites secondaires où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des quinones libres et des composés réducteurs.

L'étude de l'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a confirmé les résultats trouvés dans le criblage phytochimique. Le dosage des polyphénols totaux des trois extraits a été effectué par la méthode colorimétrique au Folin Ciocalteu et les résultats obtenus montrent que qu'il y a une variation considérable entre les teneurs en phénols totaux dans les trois extraits du rhizome de la plante étudiée variant entre 0.5 à 4 mg EAG/g. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux et qui est estimé à 4mgEAG/g.

En revanche, le dosage des flavonoïdes réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), a révélé des concentrations très variables entre les extraits testés et que les extraits hydro-méthanolique et aqueux sont les fractions les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs égales à 0.35 mg EC/g et 0.26 mg EC/g respectivement.

Afin d'étudier l'activité anti-inflammatoire du *Z.officinale*, nous avons tout d'abord évalué la toxicité de cette plante en utilisant les trois extraits bruts et l'huile préparés. Pour cela, nous avons constaté que notre plante est faiblement toxique. Par contre l'activité anti-inflammatoire a enregistré un pourcentage d'inhibition de l'hémolyse très élevé et important qui varie entre 65% et 100% pour chaque extrait brut ainsi que pour l'huile.

Finalement, les résultats de cette étude confirment encore que le rhizome de *Zingiber officinale* est une source riche en molécules anti-inflammatoires naturelles utilisées dans la médecine.

Conclusion et perspectives

Cette étude ouvre des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'avancer vers une meilleure connaissance et ceci en :

- Réalisant une extraction avec d'autres solvants à différentes polarités, et d'utiliser d'autres modes d'extraction.
- isolant et en identifiant les principes actifs responsables des activités anti-inflammatoires.
- testant les molécules isolées *in vivo*, *in vitro* sur différents modèles biologiques (être humain, rat,.....).
- Développant un modèle *in silico* d'une molécule bioactive des rhizomes de *Zingiber officinale*.
- étudiant d'autres activités biologiques (antioxydant, antidiabétique, anticancéreuse, antifongique,.....).
- Réalisant une extraction des huiles essentielles de gingembre par différentes méthodes, ainsi qu'une évaluation de leurs activités biologiques.

Références bibliographiques

- ✓ **Abd El-Salam H.S., A. A,Hassan.(2017).** Phytochemicals Boost Anti-inflammatory Effect Against Gamma Radiation: Activities of Ginger and Coriander Extracts. Arab Journal of Nuclear Science and Applications, 50 (2), 278-291.
- ✓ **Aboughe. S., Angone , R.R.R., Aworet, Samseny ., C, Eyele., Mve,Mba.(2014).** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. Phytothérapie ,DOI 10.1007/s10298-014-0905-z
- ✓ **Adebayo Ayub,Eniola Ayodele1a.,Haruna, Baba., Adelowo Kayode, Adekunle., Halima ,Idris., Fatima, Baba Sanda., Maryam ,Yusuf Musa.(2015).** In Vitro Human Red Blood Cell Membrane Stabilizing Potentials and Phytochemical Screening of Water Extract of Zingiber Officinale (Ginger) Rhizome. International Journal of Research, 2(3).
- ✓ **Agrahari Priyanka,, Prabhudutta,Panda., Navneet, Kumar. Verma.,Wajahat ,Ullah., Khan Sandeep ,Darbari. (2015).** A brief study on zingiber officinale. Journal of Drug Discovery and Therapeutics, 3, 20-27.
- ✓ **Allaert FA, Pillon F (2011).** Face au soleil, quels compléments alimentaires conseiller Actual Pharm 506:40–1
- ✓ **Ameha, Seyoum., Kaleab, Asres ., Fathy,Kandeel El-Fiky.(2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry ,67,2058–2070. doi:10.1016/j.phytochem.2006.07.002
- ✓ **Arvind ,Mungole.,Ravi, Awati., Alka ,Chaturvedi.,Prakash .Zanwar. (2010).** Preliminary Phytochemical screening of Ipomoea obscura (L) -A hepatoprotective medicinal plant. International Journal of PharmTech Research, 2(4), 2307-2312.
- ✓ **Balakrishna, M., Shanker Kaki, S., S. L,Karuna., M, Sarada., S, Ganesh Kumar., Prasad, R.(2016).**Synthesis and in vitro antioxidant and antimicrobial studies of novel structured phosphatidylcholines with phenolic acids. Food Chemistry, 8146(16),319-707. doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.121
- ✓ **Békro Yves-Alain .,Guy Roger,Mida Kabran .,Alain Hugues, Olivier N’guessan .,Ahmont Landry,Claude Kablan ., Janat Akhanovna, Mamyrbekova-Békro .,(2019).** Analyse phytochimique d’un extrait coumarinique de feuilles de Zanthoxylum gillettii de Côte d’Ivoire. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie,47 ,26 – 31.
- ✓ **Belyagoubi-Benhamou N., Belyagoubi, L., Bekkara, F. (2014).** Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants. Journal of medical plant research, 8(40), 1198-1207 ;

- ✓ **Billerbeck. VG, (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapies* , 5249–253 ,DOI 10.1007/s10298-007-0265-z
- ✓ **Botineau. M, (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier Ed, 1403 p.
- ✓ **Cardenas Jesus (2014).** Révision médicale , Directeur médical de Doctissimo .
- ✓ **Cardenas Jesus, (2017).** Gingembre
.https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/gingembre.htm
- ✓ **Chen Linlin,,Huidan, Deng., Hengmin ,Cui.,Jing ,Fang., Zhicai,Zuo., Junliang, Deng., Yinglun ,Li.,Xun,Wang.,Ling ,Zhao. (2018).** Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget journal* , 9(6),7204–7218. Doi: 10.18632/oncotarget.23208
- ✓ **Cowan marjorie murphy,(1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents, *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*,12(4), 564–582.doi : 0893-8512/99/\$04.0010
- ✓ **Deepak, Singla.,Arun, Sharma., Jasjit, Kaur., Bharat, Panwar., Gajendra PS, Raghava. (2010).** A curated database of benzylisoquinoline alkaloids. *BMC Pharmacology*, 10(4), doi :1471-2210/10/4
- ✓ **Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A.,Lemhadri, A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytotherapie*, 5(4) ,194-203.
- ✓ **Effendi, Leonard.,Yajun ,Yan., Mattheos A.G, Koffas.(2005).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*, 8, 172–181. doi:10.1016/j.ymben.2005.11.001
- ✓ **EL-Haoud Hamid,, Moncef, Boufellous ,Assia ,Berrani ., Hind,Tazougart ,Rachid,Bengueddour .(2018).** SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: *Mentha spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*,2429-5396.
- ✓ **Elias Nortaa, Kunedeb Sowley., Frederick, Kankam. (2019).** Harnessing the Therapeutic Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) for the Management of Plant Diseases. *Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials*, DOI: 10.5772/intechopen.90464
- ✓ **EL-Sayed. S.M,, SaadiyaM,Said .,Medhat M, Abozid.,Abdel Nasser ,El Gendy.(2013).** Evaluation of antioxidant and insecticidal effects of different ginger

Références bibliographiques

- extrats. International journal of academic research, 5(1), 107-113. DOI: 10.7813/2075-4124.2013/5-1/A.17
- ✓ **Euring, A (2016).** Le gingembre – Plante médicinale et plante à épices . abergol.e-monsite.com/medias/files/ginger1.doc.
 - ✓ **Fatai Oladunni, Balogun., Esther Tayo ,AdeyeOluwa ., Anofi Omotayo ,Tom Ashafa.(2019).** Pharmacological Potentials of Ginger, Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials .DOI: 10.5772/intechopen.88848
 - ✓ **Ganesh, G., Saurabh, M. & Sarada, N.C. (2013).** Antioxidant and Antiinflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Use do Medicinal Plant Mimusopselengi L. Pharm. Sci. & Res. Vol.5(6), 2013, 125 –130
 - ✓ **Gary L,Larsen., Peter M, Henson. (1983).** MEDIATORS OF INFLAMMATION. Anaa. Rev Lmmunol, 1,335-59.
 - ✓ **Gaurav, Kumar., L, Karthik., Bhaskara ,Rao. (2011).** Pharmacological and Phytochemical Properties of Zingiber officinale Roscoe (Zingiberaceae). Journal of Pharmacy Research ,4(9) ,2963-2966.
 - ✓ **Gigon. F (2012).** Le gingembre une épice contre la nausée. Phytothérapie clinique, 10,87–91. DOI 10.1007/s10298-012-0695-4
 - ✓ **Giraud, Nathalie, (2016).** Épices et santé. Dossier Sur la route des épices,24-25.
 - ✓ **Gonzales Bryan Gerard,, Guy,Smagghe., Charlotte,Grootaert., Moises ,Zotti.,Katleen,Raes.,John Van, Camp. (2015).** Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution andmetabolism a sequential structure–activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity. Drug Metab Rev, 1–16. DOI: 10.3109/03602532.2014.1003649
 - ✓ **Gunathilake ., Rupasinghe.(2015).**A brief study on zingiber officinale,Journal of Drug Discovery and Therapeutics.
 - ✓ **Iannis E, Adamopoulos. (2018).** Inflammation in bone physiology and pathology HHS Author Manuscripts journal, 30(1), 59–64. doi: 10.1097/BOR.0000000000000449
 - ✓ **Iotsor, B. I., Iseghohi, F., Oladoja, O.E.,Raji, O.R., Yusuf, Z.,Oyewole, O.A.(2019).** Antimicrobial activities of garlic and ginger extracts on some clinical isolates. The International Journal of Biotechnology,8(1),59-65 DOI: 10.18488/journal.57.2019.81.59.65
 - ✓ **Iserin, Paul, (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. paris : Dorling Kindersiey Limited

- ✓ **JABER. Ali, (2017).** étude des mécanismes fondamentaux et applications Matrices MALDI bithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes. Université France.
- ✓ **Jacob Olalekan, Arawande., Akinyinka, Akinnusotu., Jacob Olabode, Alademeyin .(2018).** Extractive Value and Phytochemical Screening of Ginger (*Zingiber officinale*) and Turmeric (*curcuma longa*) Using Different Solvents. *International Journal of Traditional and Natural Medicines* 8(1) ,13-22.
- ✓ **James A, Rankin. (2004).** Biological Mediators of Acute Inflammation. *AACN Clinical Issues* , 15(1), 3- 17.
- ✓ **JIA, Yong-liang., ZHAO, Jun-ming., ZHANG ,Lin-hui., SUN ,Bao-shan., BAO, Meng-jing., LI, Fen-fen., SHEN, Jian., SHEN, Hui-jun., ZHAO ,Yu-qing., XIE, Qiang-min. (2011).** Analgesic and Anti-inflammatory Effects of Ginger Oil. *Chinese Herbal Medicines*, 3(2), 150-155. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6384.2011.02.011
- ✓ **Karumi Y., Onyeyili P.A et Oyugbuaja V.O. (2004).** Identification of active principals of *M. Balsamia* (Balsam Apple) leaf extract. *J. Med. Sci*, 4 (3): 179 - 182.
- ✓ **Li., B.B, B, Smith ., Md .M, Hossain. (2006).** Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48, 182–188. doi:10.1016/j.seppur.2005.07.005
- ✓ **Maajida M., Aafreen., Roy, Anitha., Rachel, Christina Preethi., S, Rajeshkumar., T, Lakshmi.(2019).** Anti-Inflammatory Activity of Silver Nanoparticles Prepared From Ginger Oil—An In vitro Approach. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 10(7), 155-1445.
- ✓ **Mara Amanda, Teles., Bianca Araújo, dos Santos., Cleidiane Gomes, Ferreira., Adenilde Nascimento. Mouchreck., Kátia da Silva, Calabrese., Ana Lucia, Abreu.Silva., Fernando Almeida, Souza. (2019).** Ginger (*Zingiber officinale*) Antimicrobial Potential, Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials .DOI: 10.5772/intechopen.89780
- ✓ **Merve Deniz, Köse., Oguz ,Bayraktar.(2016).** Extraction of Saponins from Soapnut (*Sapindus Mukorossi*) and Their Antimicrobial Properties. *World Journal of Research and Review*, 2(5), 89-93
- ✓ **Mohammed Fadlinizal, Abd Ghafar., K. Nagendra ,Prasad., Kong Kin, Weng ., Amin Ismail.(2010).** Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. *African Journal of Biotechnology*, 9(3), 326-330.

Références bibliographiques

- ✓ **Muhammad, Arifuddin Fitriady., Anny ,Sulaswatty., Egi, Agustian.,Salahuddin,Deska., Prayoga, FauziAditama.(2017).** Supercritical Fluid Extraction of Ginger (*Zingiber Officinale Var. Amarum*) : Global Yield and Composition Study. Proceedings of the 3rd International Symposium on Applied Chemistry , doi.org/10.1063/1.5011874
- ✓ **Nagarajan Leebanon, Poonkuil ., J. Dhaveethu, Raja .(2017).** Drying effects on ultrasonic assisted phenolic yields and retentiveness of antiradical properties of common culinary spices ginger (*zingiber officinale*) and turmeric (*curcuma longo*): hptlc and gc - ms profile for their active ingredients assessment. International Journal of Research – GRANTHAALAYAH, 5 (9), 2394-3629.DOI: 10.5281/zenodo.1004499
- ✓ **Najjaa Hanen.,, Sami,Zouari., Ingrid,Arnault., Jacques,Auger., Emna ,Ammar.,Mohamed, Neffati.(2011).**Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Bot Gallica*,158 (1), 111-123. DOI: 10.1080/12538078.2011.10516259
- ✓ **Nayely Leyva.López, Erick P. Gutiérrez Grijalva, Gabriela .VazquezOlivo ,J. Basilio Heredia.(2017).** Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules* .22(989).doi:10.3390/molecules22060989
- ✓ **Nguyen., V T, V M, Le3.,T S .Vo.,L M, Bui., H L T, Anh.,VT,Danh.(2020).** Preliminary phytochemical screening and determination of total polyphenols and flavonoids content in the leaves of *Houttuyniacordata* Thunb. *Energy Security and Chemical Engineering*.736 (062013)
- ✓ **Oloyede O.I. (2005).** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4 : 379-381.
- ✓ **Padmanabhan.,S. P, N,Jangle.(2012).** Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 2 (1) ,109 -116.
- ✓ **Pk,Jain., Himanshu,Joshi.(2012).** Coumarin Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (06),236-240. DOI: 10.7324/JAPS.2012.2643
- ✓ **Prasanna Priyantha, Gunathilake ., vasantha ,Rupasinghe.(2015).** Recent perspectives on the medicinal potential of ginger. *Botanics Targets and Therapy*, 5, 55–63. doi.org/10.2147/BTAT.S68099

- ✓ **Robb, C.T., Regan, K.H., Dorward, D.A., Rossi, A.G. (2016).** Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Springer Journal*, 38(4), 425–448. Doi:10.1007/s00281-016-0560-6
- ✓ **Sandrina A, Heleno.,Anabela,Martins., Maria João R.P,Queiroz., Isabel C.F.R, Ferreira.(2015).** Bioactivity of phenolic acids Metabolites versus parent compound. *Food Chemistry*, 173 ,501–513.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057
- ✓ **Satheesh Kumar. Bhandary ,Suchetha. Kumari ,Vadisha S. Bhat , Sharmila .KP, Mahesh Prasad .Bekal.(2012).** Preliminary phytochemical screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. *NitteUniversity Journal of Health Science*. 2(4), 2249-7110
- ✓ **Sereme ,A.,MILLOGO ,RASOLODIMBY., J, GUINKO., S, NACRO. (2008).** PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES PLANTES A TANINS DU BURKINA FASO. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, 15 ,41 – 49
- ✓ **Shobana, S., et Vidhya R., (2016).** "Evaluation of In Vitro Hemolytic Activity Of Different Parts of *Abutilon indicum* (Linn.)" *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(5): 1182-1196.
- ✓ **Spite Matthew, Charles N. Serhan.(2018).** Roles of Specialized Proresolving Lipid Mediators in Inflammation Resolution and Tissue Repair.1447-1466.
- ✓ **Suwijiyo, Pramono. (2019).** Utilisation and Functional Components Evaluation of Ginger,Department of Pharmaceutical Biology Faculty of Pharmacy. DOI: 10.5772/intechopen.88940.
- ✓ **Trease. G.E et Evans. W.C (1989).** *Pharmacognosy*. 13^{ème} édition Ballière-Tindall.pp.436- 445.
- ✓ **Upson T. M., Grayer R. J., Greenham J. R., Williams C. A., Al-ghamdi F., et Chen F. (2000).** Leaf flavonoids as systematiccharacters in the Generalavandula andSabaudia. *Biochemicalsystemicalsystematic and ecology*, 28: 991-1007.
- ✓ **Veena, Asnani .,ramtej jayram ,verma.(2006).** Aqueous ginger extract ameliorates paraben induced cytotoxicity. *Acta PoloniaePharmaceutica ñ Drug Research*, 63(2) ,117-119
- ✓ **Vijayan, A.K., B.A, Gudade., Ashutosh, Gautam., T.N, Deka., S.S, Bora., K, Dhanapal ., A.B,Remashree.(2020).** Cultivation of Ginger in Sikkim under an Organic System ,Chinese Academy of Agricultural Sciences.DOI: 10.5772/intechopen.87049

Références bibliographiques

- ✓ **Wang Haiping (2020).** Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials. Chinese Academy of Agricultural Sciences. DOI: 10.5772/intechopen.89796
- ✓ **Yousif Y, Bילו., Nessrin G, Alabdallat.(2015).** *Ex vivo and In vivo* Antioxidant Related Effects of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) Extracts in Humans. European Journal of Medicinal Plants ,7(2), 99-108.
- ✓ **Ziaur,Rehman.,AM, Salariya .,Farzana, Habib.(2003).** Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil. Journal of the Science of Food and Agriculture,83, 624–629. DOI: 10.1002/jsfa.1318

ANNEXE

•Le phosphate de tampon Salin

Le PBS nommée phosphate de tampon salin en anglais phosphate buffered saline) c'est un soluté physiologique et très riche en chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium.

Ce soluté est très utilisé en biochimie car il permet le lavage des cellules avant dissociation, le transport de cellules et des tissus, la dilution de cellules pour comptage et la préparation de réactifs

1 litre de PBS (pH=7.4) est préparé à partir :

1. Ajouter Na_2HPO_4 (8Mm), KH_2PO_4 (2Mm), puis KCl (2.7Mm) et NaCl (137Mm).
2. Ajuster le pH à 7,4 avec du HCl.
3. Ajouter de l'eau distillée pour avoir un volume final de 1 litre .
4. Stériliser l'autoclave et mettre la solution à une température égale à 121°C min pour une durée de 20min et l'utiliser après leur refroidissement.