

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

Laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie : synthèse et activité biologique

MÉMOIRE

Présenté par

LARBI KHADIDJA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques (Biochimie appliqué)

Thème

Evaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de Pelargonium graveolens

Soutenu le, devant le jury composé de :

Président BENARIBA Nabila MCA Université de Tlemcen
Encadrant MEDJDOUB Houria MCB Université de Tlemcen
Examinateur CHAOUCHE Farah MCA Université de Tlemcen

الملخص

تأتي هذه الرسالة في إطار تقييم النشاط المضاد للأكسدة لنبتة طبية Pelargonium gravolens ، تنتمي إلى عائلة Pelargonium والتي تم حصادها في مايو 2021 في بلدية عين فزة بولاية تلمسان. تم تقييم القوة المضادة للأكسدة في Pelargonium والتي تم حصادها في المختبر بطريقتين: ارجاع الحديد (FRAP) وتنظيف الجذور الحرة DPPH ، والتي قمنا بإعداد مستخلصين منها من الجزء الجوي الجاف والأرضي. يتم الاستخلاص عن طريق نقع النبتة في خليط الماء - الأسيتون والماء - الإيثانول بشكل منفصل عند 70/30 (V/V) لمدة 30 دقيقة. ثم يتم ا وتجفيف المستخلصات وحفظها لاختبار قوتها المضادة للأكسدة.

أظهر اختبار FRAP أن كلا المستخلصين لهما قدرة على ارجاع الحديد. يحتوي مستخلص الأسيتون المائي (FRAP = 0.569 = 0.569 مجم مل) على قدرة اختزال منخفضة مقارنة بحمض الأسكوربيك (EC50 = 0.049 = EC50 = 0.049 مجم مل).

تعد سعة تنظيف الجذور الحرة DPPH مثيرة جدًا للاهتمام مع IC50 بحوالي 0.12 مجم / مل من مستخلص الإيثانول المائي. يظل الأخير أعلى من مستخلص الأسيتون المائي IC50 = IC50 مجم / مل) بينما يحتوي حمض الأسكوربيك على نسبة تركيز IC50 تساوي 0.0013 تساوي 0.0013 مجم / مل.

من النتائج التي تم الحصول عليها ، نستنتج أن الجزء الجوي من نبات Pelargonium gravolens له نشاط كبير كمضاد للأكسدة ، والذي قد يكون بسبب وجود جزيئات مختلفة في المستخلصات المختبرة.

الكلمات الأساسية: DPPH ،FRAP ،Pelargonium gravolens ، مستخلص الأسيتون المائي ، مستخلص الإيثانول المائي ، مستخلص الإيثانول المائي ، نشاط مضاد للأكسدة

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale *Pelargonium graveolens*, appartenant à la famille des Geraniaceae qui a été récoltée au mois de mai 2021 à la commune de Ain Fezza, willaya de Tlemcen. Le pouvoir antioxydant de *Pelargonium graveolens* a été évalué *in vitro* par deux méthodes : la réduction du fer (FRAP) et piégeage du radical libre DPPH, dont nous avons préparé deux extraits à partir de la partie aérienne séchée. L'extraction se fait par infusion du matériel végétal dans un mélange eau-acétone et eau-éthanol séparément à 30/70 (V/V) pendant 30min. Les extraits filtrés sont ensuite évaporés, séchés et conservés afin de tester leur pouvoir antioxydant.

Le test FRAP a montré que les deux extraits ont un pouvoir réducteur de fer. L'extrait eau-acétone (EC50 = 0,569 mg/ml) présente une capacité réductrice faible par rapport à l'acide ascorbique (EC50 = 0,049 mg/ml) et qui reste proche de celle de l'extrait eau-éthanol (EC50 = 0,63 mg/ml). La capacité de piégeage du radical libre DPPH est très intéressante avec IC50 de l'ordre de 0,12mg/ml de l'extrait eau-éthanol. Cette dernière, reste supérieure à celle de l'extrait eau-acétone (IC50=0,8mg/ml) alors que l'acide ascorbique présente une IC50 égale à 0,0013mg/ml.

D'après les résultats obtenus, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Pelargonium* graveolens a une activité antioxydante importante, qui peut être due à la présence de différentes molécules dans les extraits testés.

Mots clés : *Pélargonium graveolens*, FRAP, DPPH , extrait eau-acétone, extrait eau-éthanol, activité antioxydante

Abstract

This thesis is part of the evaluation of the antioxydant activity of a medicinal plant *Pelargonium graveolens*, belonging to the family Geraniaceae which was harvested in May 2021 in the commune of Ain Fezza, willaya of Tlemcen. The antioxydant power of *Pelargonium graveolens* was evaluated *in vitro* by two methods: fer reduction (FRAP) and DPPH free radical scavenging, of which we prepared two extracts from the dried aerial part. The extraction is done by infusion of the plant material in a water-acetone and water-ethanol mixture separately at 30/70 (V/V) for 30min. The extracts are then evaporated, dried and preserved in order to test their antioxidant power.

The FRAP test showed that both extracts have fer reducing power. The water-acetone extract (EC50 = 0.569 mg/ml) has a low reducing capacity compared to ascorbic acid (EC50 = 0.049 mg/ml) and remains close to that of the water-ethanol extract (EC50 = 0.63 mg/ml).

The scavenging capacity of the DPPH free radical is very interesting with IC50 of about 0.12mg/ml of the water-ethanol extract. The latter, remains higher than that of the water-acetone extract (IC50=0.8mg/ml). Ascorbic acid presents an IC50 equal to 0.0013mg/ml.

From the results obtained, we conclude that the aerial part of the plant *Pelargonium graveolens* has an important antioxydant activity, which may be due to the presence of different molecules in the tested extracts.

Key words: *Pelargonium graveolens*, FRAP, DPPH, water-acetone extract, water-ethanol extract, antioxidant activity.

Remerciement

Tout d'abord, permettez-moi de remercie Dieu Tout-puissant de m'avoir donné la force, la volonté et la patience pour mener à bien mon travail.

Je remercie surtout mes chers parents, ma sœur et mes frères pour leurs sacrifices et pour mon confort, pour leurs amours, leur tendresse et leur soutien tout au long de mes études.

Je remercie particulièrement Mme MEDJDOUB H. Maitre de conférences B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid pour m'avoir guidé tout au long de ces mois, et pour sa patience et sa gentillesse avec moi. Avec toutes ma gratitude.

Je tiens vivement à remercier les membres du jury :

Melle BENARIBA N. Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen., pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Mme CHAOUCHE F. Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie mes amis qui m'ont aidé et qui sont là pour moi tout le temps. En fin et surtout, je me remercie d'être patiente et de gérer tout Cela, je vais réussir je suis heureuse pour moi de rendre les gens que J'aime fiers de moi.

Dédicace

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère Zohra

A ma sœur Zoubida

A mes frères Azzedine et Houssine

A mes meilleurs amies mes sœurs Milouda, Sel-Sabil, Djanet et Rihab

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier monsieur Chakib pour son soutien moral, sa

Patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Liste des Abréviation

102 : Oxygène singulet

ADN: Acide désoxyribonucléique

Cat: Catalase

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EC50: La concentration qui

correspond àune absorbance

de 0,5

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

Fe ³⁺: Fer ferrique

Fe²⁺: Fer ferreux

FeCl3: Chlorure ferrique

FW: Fresh weight (poids frais de la

plante).

GAE: Gallic acid equivalents

(équivalents d'acide gallique).

OH^{*}: Radical hydroxyle

P.graveolens: Pélargonium graveolens

pH: Potentiel hydrogène

RO: Radical alkoxyl

ROOH: Hydroperoxyde organique

ROO': Radical peroxyl

SOD: Superoxydes dimustases

TCA: Acide trichloacétique

UV-VIS: Ultraviolet-Visible

GPx:

Glutathionsperoxydases

GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathionoxydé

HE: Huile essentiel

H2O2: Peroxyde d'hydrogène

IC50 : Concentration inhibitrice de

50 % d'une activité

K3Fe(CN)6: Ferricyanure de

potassium

NADPH: Nicotinamide adénine

dinucliotide phosphate

EOA : espèce oxygéné active

OMS: Organisation mondiale de la

santé

Liste des figures

Figure 1:parties aériennes de pélargonium graveolens (Ghedira & Goetz, 2015) 4 -					
Figure 2:(A)champs de culture de géranium rosat et (B) situation géographique du champs					
(commune de Chiffa, wilaya de Blida, 70km au sud d'Alger, Algérie)(Boukhatem et al., 2011).					
4 -					
Figure 4:Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants d'un					
organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Eddhima, 2019). 9 -					
Figure 5:Origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011) 11 -					
Figure 6: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase (Cotelle, 2001) 11 -					
Figure 7: La complexation métallique par les flavonoïdes 19 -					
Figure 8: Photographie personnelle de la plante après séchage (la partie aérienne) 21 -					
Figure 9: Photographie personnelle des étapes de préparation des extraits eau-acétone et eau-					
éthanol.(A) Rotavapeur, (B) Filtration, (C) extrait après évaporation, (D) Le produit récupéré					
après séchage dans l'étuve.					
Figure 10: Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de Pélargonium graveolens					
- 25 -					
Figure 11: Structure chimique du radicale libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) 26 -					
Figure 12:Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-acétone, de la					
partie aérienne de Pélargonium graveolens 29 -					
Figure 13:Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-éthanol, de la					
partie aérienne de Pélargonium graveolens 30 -					
Figure 14: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique 30 -					
Figure 15:Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait eau-acétone de la					
partie aérienne de Pélargonium graveolens 32 -					
Figure 16: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait eau-éthanol de la					
partie aérienne de Pélargonium graveolens 32 -					
Figure 17: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique 33 -					

Liste des tableaux

Tableau 1:Liste des composé détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans
P.graveolens la technique d'HPLC-SLM
Tableau 2: Molécules médiatrices de stress oxydatif . - 12 -
Tableau 3: Résume quelques facteurs structuraux qui peuvent améliorer le pouvoir antioxydant
des flavonoides 19 -
Tableau 4 :Valeur des EC50 en mg/ml des deux extraitq de Pélargonium graveolens et de l'acide
ascorbique31 -
Tableau 5 : Valeur des IC50 en mg/ml des deux extraits de Pélargonium graveolens et de l'acide
ascorbique - 33 -

TABLE DES MATIERE

INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	1 -
CHAPITRE I : PRESENTATION DE LA PLANTE ETUDIEE	1 -
GENERALITE SUR LES PLANTES MEDICINALES :	- 2 -
1.1. Plantes médicinales :	
Plante etudiee pelargonium	
2.1. Description botanique :	
2.2. Classification botanique :	
2.3. Nomenclature	
2.4. Origine et répartition géographique	
- L'origine:	
- Répartition géographique :	- 4 -
2.5. La toxicité	
2.6. Usages traditionnels	- 5 -
-Utilisation dans la médecine naturelle :	5 -
-Utilisation dans la cuisine :	6 -
3. INTERETS ECONOMIQUES ET THERAPEUTIQUE DE PELARGONIUM GRAVEOLENS	
4. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'EXTRAIT DE P.GRAVEOLEN :	6 -
CHAPITRE II: STRESS OXYDATIF	8 -
1. LE STRESS OXYDANT :	0
2. ORIGINE DU STRESS OXYDANT	
RADICAUX LIBRES	
3.1. Définition	
3.2. Sources des radicaux libres	
- Chaîne respiratoire mitochondriale	
- Cellules phagocytaires:	
- Xanthine oxydase (Xanthine oxydoréductase) (XOR):	11 -
3.2.2. Source de production exogène	
3.3. Les principales espèces réactives de l'oxygène	
3.3.1. L'anion superoxyde (O2)	
3.3.2. Le Radical hydroxyle (OH)	- 13 -
3.3.3. Peroxyde d'hydrogène (H2O2)	- 14 -
3.3.4. Oxygène singulet (IO2):	
4. LES CIBLES BIOLOGIQUES DES AGENTS OXYDANTS	
4.1. Les protéines :	
4.2. Acide désoxyribonucléique (ADN) :	
4.3. Les lipides	15 -
5. CONSEQUENCES BIOLOGIQUES DU STRESS OXYDANT	15 -
6. LA DEFENSE ANTIOXYDANTE	15 -
6.1. Antioxydants endogènes	16 -
6.1.1. Antioxydants enzymatiques	
- La superoxyde dismutase (SOD)	
- Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (GPx/GR)	
- La catalase (CAT)	
6.1.2. Antioxydants non enzymatiques	
6.2. Antioxydants exogenes 6.2.1. Vitamine E (α-tocophérol)	
6.2.2. Vitamine E (d-tocopheror)	- 17 - - 17 -
U. E. E. VILGITINIO O IMONO GOUDIDIUUDI	- / -

7.1. Les Acides phénoliques -17 7.2. Les flavonorides -18 7.2.1. Activité de piègeage -18 7.2.2. Chélation des métaux de transition -18 7.2.3. L'activité inhibitrice d'enzymes -19 CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES 1. OBJECTIF -20 1. OBJECTIF -21 2. MATERIEL VEGETAL -21 3. Préparation DES EXTRAITS -22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: -22 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone -22 4. CALCUL DU RENDEMENT -23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS -23 5.1. Réduction du fer (FRAP) -23 5.1.1. Principe -23 5.1.2. Solutions à préparer -23 5.1.3. Mode opératoire -24 5.2. Piégeage du radical de DPPH -26 5.2.2. Préparation de GP FRAP -29	7. COMPOSES PHENOLIQUES COMME ANTIOXYDANTS	- 17 -
7.2. Les flavonoides -18 7.2.1. Activité de piégeage -18 7.2.2. Chélation des métaux de transition -18 7.2.3. L'activité inhibitrice d'enzymes -19 CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES 1. OBJECTIF -20 1. OBJECTIF -21 2. MATERIEL VEGETAL -21 3. PREPARATION DES EXTRAITS -22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: -22 3.2. Préparation de l'extrait eau-éthanol: -22 4. CALCUL DU RENDEMENT -23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS -23 5.1. Principe -25 5.2. Préparation de DPPH -26 5.2. 1. Principe -26 5.2. 2. Préparation de DPPH -26 5.2. 2. Préparation de DPPH -26 5.2. 3. Mode opératoire -28 7. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT -29 2.1. 1. Effet de l'extrait eau-séchone -29 2.1. 2.		
7.2.1. Activité de piégeage		
7.2.2. Chélation des métaux de transition 7.2.3. L'activité inhibitrice d'enzymes -19 CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES -20 1. OBJECTIF -21 2. MATERIEL VEGETAL -21 3. PREPARATION DES EXTRAITS -22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: -22 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone -22 4. CALCUL DU RENDEMENT -23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS -23 5.1.1. Príncipe -23 5.1.2. Solutions à préparer -23 5.1.3. Mode opératoire -24 5.1.4. Protocole -25 5.2. Plégeage du radical de DPPH -5.2.1. Príncipe -26 5.2.2. Préparation de DPPH -26 5.2.3. Mode opératoire -26 FRESULTATS ET INTERPRETATIONS -28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT -29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.1.3. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.2. Piégeage du radical de DPPH -2.2. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.3. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.2. Piégeage du radical de DPPH -2.2. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.3. Effet de l'extrait eau-ethanol -2.2. Effet de		
CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES -20		
1. OBJECTIF -21 2. MATERIEL VEGETAL -21 3. PREPARATION DES EXTRAITS -22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: -22 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone -22 4. CALCUL DU RENDEMENT -23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS -23 5.1. Réduction du fer (FRAP) -23 5.1.1. Principe -23 5.1.2. Solutions à préparer -23 5.1.3. Mode opératoire -24 5.1.4. Protocole -25 5.2. Piégeage du radical de DPPH -26 5.2.1. Principe -26 5.2.2. Préparation de DPPH -26 5.2.3. Mode opératoire -26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS -28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT -29 2.1. Réduction de fer FRAP -29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone -29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-acétone -30 2.1.3. Effet de l'extrait eau-acétone -31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-acétone -31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol -32	7.2.3. L'activité inhibitrice d'enzymes	19 -
2. MATERIEL VEGETAL - 21 3. PREPARATION DES EXTRAITS - 22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: - 22 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone - 22 4. CALCUL DU RENDEMENT - 23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS - 23 5.1. Réduction du fer (FRAP) - 23 5.1. Principe - 23 5.1. Solutions à préparer - 23 5.1. A. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2. Préparation de DPPH - 26 5.2. 2. Préparation de DPPH - 26 5.2. 3. Mode opératoire - 28 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2.1. Réduction DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1. 2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1. 3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.2. 1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2. 2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2. 3. Effet de l'extrait eau-éthanol <t< td=""><td>CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES</td><td>- 20 -</td></t<>	CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES	- 20 -
2. MATERIEL VEGETAL - 21 3. PREPARATION DES EXTRAITS - 22 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: - 22 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone - 22 4. CALCUL DU RENDEMENT - 23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS - 23 5.1. Réduction du fer (FRAP) - 23 5.1. Principe - 23 5.1. Solutions à préparer - 23 5.1. A. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2. Préparation de DPPH - 26 5.2. 2. Préparation de DPPH - 26 5.2. 3. Mode opératoire - 28 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2.1. Réduction DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1. 2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1. 3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.2. 1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2. 2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2. 3. Effet de l'extrait eau-éthanol <t< td=""><td>1 Objectie</td><td>- 21 -</td></t<>	1 Objectie	- 21 -
3. PREPARATION DES EXTRAITS 3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol: 3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone 4. CALCUL DU RENDEMENT 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS 5.1. Réduction du fer (FRAP) 5.1.1. Principe 6.1.2. Solutions à préparer 7.1.3. Mode opératoire 7.1.4. Protocole 7.1.4. Protocole 7.1.5. Principe 7.1.6. Principe 7.1.7. Principe 7.1.8. Mode opératoire 7.1.9. Préparation de DPPH 7.1.0. Principe 7.1.1. Principe 7.1.2. Solutions à préparer 7.2. Solutions à préparer 8.2. Préparation de DPPH 8.2. Préparation de DPPH 8.2. Préparation de DPPH 8.2. Préparation de DPPH 9.2. Préparation de DPPH 9.3. Provident de l'extrait eau-acétone 9.3. Preparation de DPPH		
3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol:		
3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone -22		
4. CALCUL DU RENDEMENT - 23 5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS - 23 5.1. Réduction du fer (FRAP) - 23 5.1.1. Principe - 23 5.1.2. Solutions à préparer - 23 5.1.3. Mode opératoire - 24 5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.3. Effet de l'extrait eau-acétone - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'ext		
5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS - 23 5.1. Réduction du fer (FRAP) - 23 5.1.1. Principe - 23 5.1.2. Solutions à préparer - 23 5.1.3. Mode opératoire - 24 5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2.1. Réduction DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.3. Effet de l'extrait eau-acétone - 30 2.2.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 35 <		
5.1. Réduction du fer (FRAP) - 23 5.1.1. Principe - 23 5.1.2. Solutions à préparer - 23 5.1.3. Mode opératoire - 24 5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Príncipe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 35		
5.1.1. Principe - 23 5.1.2. Solutions à préparer - 23 5.1.3. Mode opératoire - 24 5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-acétone - 30 2.1.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3		
5.1.2. Solutions à préparer - 23 5.1.3. Mode opératoire - 24 5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-actione - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 CONCLUSION	5.1.1. Principe	- 23 -
5.1.4. Protocole - 25 5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 32 DISCUSSION - 35	5.1.2. Solutions à préparer	23 -
5.2. Piégeage du radical de DPPH - 26 5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 CONCLUSION - 35		
5.2.1. Principe - 26 5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 32 DISCUSSION - 35		
5.2.2. Préparation de DPPH - 26 5.2.3. Mode opératoire - 26 RESULTATS ET INTERPRETATIONS - 28 1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 31 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 39		
5.2.3. Mode opératoire - 26		
1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extrait eau-éthanol - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 35 CONCLUSION - 39		
1. LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT - 29 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 39		
2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 35	RESULTATS ET INTERPRETATIONS	28 -
2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE - 29 2.1. Réduction de fer FRAP - 29 2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION - 35	LES CARACTERISTIQUES ET LE RENDEMENT DE CHAQUE EXTRAIT	29 -
2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone - 29 2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 30 2.1.3. Effet de l'acide ascorbique - 30 2.2. Piégeage du radical de DPPH - 31 2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone - 31 2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol - 32 2.2.3. Effet de l'acide ascorbique - 35 DISCUSSION CONCLUSION	2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	29 -
2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol		
2.1.3. Effet de l'acide ascorbique		
2.2. Piégeage du radical de DPPH		
2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone		
2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol		
2.2.3. Effet de l'acide ascorbique		
DISCUSSION 35 CONCLUSION 39		
CONCLUSION 39		
	DISCUSSION	35 -
DEFEDENCESRIRI IOCDADHIE	CONCLUSION	39 -
	REFERENCESBIBLIOGRAPHIE	41

Introduction

elon l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles ; parmi eux les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.). Elles sont aussi utilisées dans les traitements de l'appareil digestif, l'appareil respiratoire et l'appareil circulatoire...etc. Les plantes constituent une source d'antioxydants naturels qui bloquent l'action des radicaux libres et donc défendent contre le stress oxydant (Akinmoladun et al., 2007; Lahsissene et al., 2009 ; Sompaga & Anupalli et al., 2016).

Ce stress oxydant est un déséquilibre lié, soit à une production accrue des espèces réactives de l'oxygène, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante; qui favorise le développement des pathologies diverses comme le cancer, des pathologies oculaires, des maladies neurodégénératives...ect (Favier, 2006 ; Defraigne & pincemail, 2008).

Parmi ces plantes j'ai choisie d'étudier *Pelargonium graveolens* une plante de la famille des *GERANIACEAE*, originaire d'Afrique de Sud et cultivée en Algérie dans la plaine de la Mitidja (wilaya de Blida), dans les jardins et dans les cimetières. Cette espèce est utilisée depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques (Bactéricide, fongicide et anti-inflammatoire). Il s'avère utile dans le traitement des problèmes de peau (acné, eczéma, vergetures, couperose), traite les dermatoses, apaise les symptômes liés à des affections respiratoires, aide à la cicatrisation des plaies, en massages en cas de grande fatigue, d'asthénie ou de stress, en cataplasmes et pour traiter les hémorroïdes (**Boukhatem** *et al.*, **2011**; **Cardenas**, **2017**).

Notre objectif s'est basé sur l'évaluer de l'activité antioxydante de *Pelargonium* graveolens, une plante de la famille des *GERANIACEAE*. Ce travail comporte deux parties, la première concerne la préparation des deux extraits eau-acétonique et eau-éthanolique à partir de la partie aérienne de cette plante. La deuxième consiste en l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power) et piégeage du DPPH.

Le présent travail a été réalisé au sein des laboratoire pédagogiques de la faculté SNV-STU.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Présentation de la Plante étudiée

1. Généralité sur les plantes médicinales :

1.1. Plantes médicinales :

Les plantes médicinales font partie de l'histoire des continents depuis des siècles et des traces de leur utilisation sont souvent révélées. En fait, la première pratique de la phytothérapie remonte à l'époque grecque, généralement Hippocrate (300 avant JC).

Les plantes ont été utilisées par les gens pour se soigner pendant des siècles. Cependant, faute d'études ethnobotaniques, peu de peuples connaissent leur pharmacopée. Cette étude, menée dans une entité territoriale traditionnelle (nord-ouest du Burkina Faso) en pays Sang, répond à cette préoccupation de documenter les plantes médicinales. Grâce à une série d'enquêtes ethnobotaniques, 75 guérisseurs traditionnels Sanan ont été interrogés. Les informations recherchées portaient sur les plantes, les noms locaux, les parties utilisées, les pratiques médicales et les bienfaits thérapeutiques associés. Les résultats ont montré que 94 plantes ont été utilisées pour lutter contre différentes pathologies. Les feuilles (31%), les racines (25%) et l'écorce du tronc (23%) sont les principales parties utilisées pour préparer les recettes.

Ces fractions ont participé à l'élaboration de formulations individuellement ou en combinaison, utilisant principalement la décoction (58 %), le broyage (17 %) et la macération à l'eau (11 %). Soixante-cinq pour cent (65 %) des produits obtenus ont été administrés par voie orale via des boissons et 35 % ont été appliqués en externe. Treize utilisations ont été identifiées. Cependant, les tradipraticiens ne sont pas d'accord avec les thérapies recommandées pour traiter ces catégories. La diversité des thérapies que l'on trouve dans le Pays San est un enrichissement culturel. Ces données de la Sainte Pharmacopée sont à la base d'une étude approfondie de la capacité de reboisement des plantes qui souffrent du déracinement et de la mise en place de pépinières communautaires pour disposer de réservoirs de plantes médicinales à proximité des villages (Zerbo, P.et al. 2011).

Pélargonium graveolens. Constitue une des plantes les plus répondue en Algérie et fera l'objet de notre travail.

2. Plante étudiée pélargonium

2.1. Description botanique:

Pélargonium graveolens est une plante buissonnante de 60 cm et qui peut atteindre plus d'un 1 mètre en pleine terre dans les régions au climat favorable comme dans le sud de la France. Les

tiges poussent vertes et se lignifient avec l'âge. Il porte des feuilles cordiformes avec 5 à 7 lobes, opposées, recouvertes de poils qui donnent un aspect velouté. Les poils défensifs rendent la plante poisseuse, les poils glanduleux sont remplis d'essence aromatique et rendent la plante odorante quand on la touche. Ils ont un rôle dans la défense contre les insectes, <u>les pucerons</u> par exemple. Lorsqu'on froisse la feuille, elle dégage un puissant parfum de rose citronné.

La racine est pivotante. Les fleurs montrent 5 pétales roses, dont certains se chevauchent et parmi lesquels 2 sont lignés de rouge. Elles sont en grappe et groupées par 2, et apparaissent en continue toute la belle saison. Des 2 ovaires présents, un seul est fécondé, et produit un fruit allongé et étroit (2).

2.2. Classification botanique:

• Règne : Plantae superdivision : Embrayophyta

• Famille : Géraniacée Genre : Pélargonium L'Her Ex Aiton

• Division: Magnoliophta subdivision: spermatophyina

• Classe: Magnoliopsida superordre: spermatophytina

• Ordre: Geraniales

• Nom scientifique : pélargonium graveolens

• Espèce : Pélargonium graveolens.

2.3. Nomenclature



Figure 1: parties aériennes de pélargonium graveolens (Ghedira & Goetz, 2015).

Diverses appellations sont attribuées à cette plante aromatique.

- Français : géranium rosat, géranium odorant.
- Anglais: attar of rose, rose-scented geranium, scented Pelargonium, rose geranium.
- Arab ; العطر شية، عطر الورد، العطر حشيشة العطر (Boukhatem et al., 2011).

2.4. Origine et répartition géographique



A B
Figure 2:(A)champs de culture de géranium rosat et (B) situation géographique du champs (commune de Chiffa, wilaya de Blida, 70km au sud d'Alger, Algérie)(Boukhatem et al., 2011).

- L'origine:

Originaires d'Afrique australe où ils sont indigènes, les pélargoniums ont été importés en Europe vers 1690 et y sont communément répandus de nos jours comme plante d'orne- ment. Ce genre comprend plus de 200 espèces regroupées en 15 sections, mais une dizaine de variétés seulement sont exploitées pour la production de l'HE. C'est le *Pélargonium graveolens* qui semble être l'espèce source des différents hybrides existants. Cependant, l'espèce la plus appréciée reste le géranium bourbon, identifié dans la taxonomie sous le nom de Pélargonium x asperum cv. Bourbon, cultivé sur l'île de La Réunion et à Madagascar (**Boukhatem et al., 2011**).

- Répartition géographique :

Le géranium rosat (famille Géraniacées) provient du Cap (Afrique du Sud). Il est cultivé dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales où il est distillé pour son HE. La Chine cultive cette plante, mais les HE les plus fines proviennent de la réunion en Algérie, la plante est cultivée à titre industriel, principalement dans la plaine de Mitidja (Fig. 2 B) et à titre ornemental, dans les jardins et les cimetières (**Boukhatem et al 2011**).

2.5. La toxicité

Cette espèce n'est pas classée comme hautement toxique. Cependant, une analyse de la littérature fait état d'irritations et Se manifeste principalement par des allergènes cutanés. Une femme travaillant dans l'entreprise a développé un érythème toxique Contact direct avec les plantes de géranium. Les symptômes observés n'étaient pas graves, mentionnés Érythème associé à un œdème et à certaines composantes vésiculaires (**Agrup et al ,1969**; **Tsyrkunov et al., 1989**).

2.6. Usages traditionnels

- Utilisation dans la médecine naturelle :

Quelques-unes seulement des quelque 230 sortes/espèces de ce genre abondant jouent un rôle en tant que plantes médicinales. En font partie Pélargonium réniforme, P. sidoides, P. triste et bien entendu *Pélargonium graveolens*. En usage interne, la plante est employée en cas de nausées, d'inflammation des amygdales et de faiblesse circulatoire. L'huile essentielle de géranium que renferment les crèmes pour le visage a une action surgraissante sur la peau, inhibe les mycoses et guérit également les eczémas. L'huile essentielle de géranium est également utilisée comme traitement secondaire en cas de dépression et de troubles hormonaux. L'huile essentielle extraite du *P. graveolens* est un ingrédient important des produits de soins cutanés et parfums et est employée avec succès également dans l'aromathérapie. Ses feuilles, emballées dans un sachet odorant, peuvent également servir de diffuseur de parfum (3).

-Utilisation dans la cuisine :

Il est étonnant de voir les nombreuses manières dont on peut utiliser les feuilles et les fleurs généralement délicates de la plante dans la cuisine. Des fleurs pour décorer une salade mettent non seulement une note colorée, mais également des accents goûteux. Les feuilles finement hachées peuvent servir pour assaisonner des sauces, des flans et pour confectionner des confitures et du sirop. Mais les biscuits, gâteaux et pains peuvent également être aromatisés avec les différentes fragrances des pélargoniums. Les feuilles odorantes et les fleurs graciles de la plante sont bien sûr aussi parfaites pour décorer une table festive, et un pot-pourri de fleurs et d'arômes envoûtants est un magnifique cadeau très personnel (3).

3. Intérêts économiques et thérapeutique de *Pélargonium graveolens*

La plante de géranium est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle pour ses nombreuses propriétés curatives. Par exemple, il a été utilisé pour traiter les plaies et les brûlures superficielles, en massage, dans des situations de fatigue extrême ou de stress, et pour soulager les hémorroïdes, la dysenterie, l'inflammation et le cancer. Il est également utilisé dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de l'aromathérapie (El Ouadi et al, 2017). Les extraits de cette plante ont des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et acaricides. Par conséquent, (Saraswathiet al, 2011 ; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Lis-Balchin, 2002 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015), Selon (Asgarpanah et Ramezanloo, 2015) des aspects thérapeutiques précieux, il est une source potentielle d'ingrédients actifs pour les industries alimentaires et pharmaceutiques. Le géranium est principalement lié à la présence de composants volatils, (El Ouadi et al, 2017). Il a été constaté que les fractions acétate d'éthyle et éther de l'extrait aqueux de géranium présentaient de bonnes activités antioxydantes à une concentration de 2 μg/ml, jusqu'à 53% et 51,84%, respectivement (Ghedira et Goetz, 2015)

4. Composition chimique de l'extrait de *P. graveolen* :

Il existe plusieurs variétés d'origines différentes avec des constituants chimiques différents des huiles essentielles et des extraits (**Ghedira et Goetz, 2015**). La recherche sur les espèces de P. graveolens c'est concentré sur la composition chimique des huiles essentielles. Les trichomes des feuilles de géranium contiennent d'autres composés, dont des flavonoïdes (**Boukhrise et al, 2012**). La composition chimique de l'extrait de *P. graveolens* est présentée dans le tableau 01.

Tableau 1:Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans *P. graveolens* la technique d'HPLC-SLM (**Boukhris et al, 2012**).

Solvant	Composés
	Myrisetine 3-O-glu-rha
Malana	Quercetine 3-O-pent-glu
Méthanol	Quercetine 3-O-rha-glu
	(Rutin)
	Kaempferol 3-O-glu
	Kaempferol 3,7-di-O-glu
	Isorhamnetine aglycone
	Quercetine 3-O-glu
L'eau	Quercetine 3-O-pent
	Kaempferol 3-O- rha-glu

Chapitre II: Stress oxydatif

1. Le stress oxydant :

Le stress oxydatif est défini comme l'incapacité de l'organisme à se protéger des espèces réactives oxydatives suite à un déséquilibre associé (augmentation de la production d'OAE ou diminution des défenses antioxydantes) (**Defraigne**, 2008). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production et la destruction des radicaux libres par le système de défense antioxydant (**Wolin**, 1996; **Wolin et al 2005**), Ce déséquilibre (fig.4) contribue au développement et au déclenchement de diverses maladies, notamment le cancer, la pathologie oculaire et les maladies neurodégénératives (**Eddhima**, 2019).

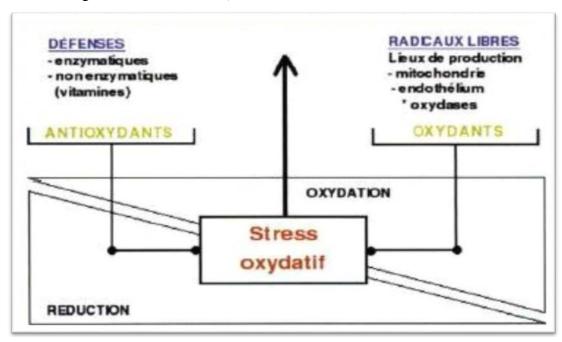


Figure 3:Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Eddhima, 2019).

2. Origine du stress oxydant

La découverte de produits chimiques radicaux libres couramment présents dans le corps a perturbé notre compréhension du fait que ces radicaux libres sont produits par une variété de mécanismes physiologiques, car ils sont utiles au corps à des doses raisonnables ; mais la production peut être excessive ou causée par des phénomènes toxiques exogènes. Le corps doit se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (Favrier, 2001).

Dans des situations normales et quotidiennes, de petites quantités de radicaux libres sont continuellement produites en tant que médiateurs tissulaires ou résidus.

réponses énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est entièrement contrôlée par le système de défense et est associée à

radicaux libres présents. Dans ces conditions normales, la balance antioxydant/pro-oxydant est dite en équilibre. Si ce n'est pas le cas, soit par manque d'antioxydants, soit par une surproduction importante de radicaux libres, un excès

Ces radicaux libres sont appelés "stress oxydatif". Cette rupture d'équilibre aux conséquences graves peut provenir de diverses sources. L'organisme peut avoir à faire face à une production excessive et incontrôlable, qui sera observée lors d'ischémie/reperfusion suite à une intoxication aux métaux lourds, une irradiation, une thrombose (Favier, 2001).

3. Radicaux libres

3.1. Définition

Un radical libre est une substance chimique, atome ou molécule, qui contient un électron non jumelé. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables. Il peut soit arracher un électron (se comporter comme un agent oxydant), ou en produire un (qui agit alors comme un agent réducteur). Cette première réaction entraîne généralement la formation de chaînes de nouveaux radicaux libres (Garait, 2006).

3.2. Sources des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (**Hocine et Gorine , 2017**).

3.2.1. Source de production endogène

Des radicaux libres sont produits en permanence dans l'organisme, dans les mitochondries ou lors de la phagocytose. Ils peuvent également se former au cours de mécanismes de détoxification après exposition à certaines espèces chimiques ou sous l'effet de radiations. Mais l'essentiel de leur production est associé au métabolisme cellulaire de l'oxygène et aux réactions d'oxydoréduction. La naissance des ERO est l'issue des réactions de l'organisme soit enzymatiques ou par auto-oxydation au cours de métabolisme normal et parfois suite à une stimulation spécifique (Eddhima, 2019).

- Chaîne respiratoire mitochondriale

Lors de la respiration cellulaire, la chaîne de transport d'électrons mitochondriale est la source principale de production des radicaux libres (Figure 05), ceci donne naissance à des intermédiaires potentiellement réduits dits radicaux primaires ou ERO (Migdal et Serres, 2011 ; Favier, 2003).

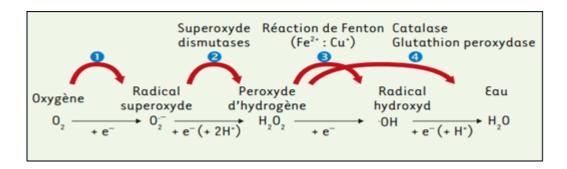


Figure 4:Origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011).

Cellules phagocytaires:

Les phagocytes constituent un foyer favorable aux ERO, notamment au niveau des neutrophiles et des macrophages, la stimulation de ces derniers s'accompagnant d'une accélération de leur consommation d'oxygène lors d'un phénomène appelé explosion oxydative, qui comprend la capacité de réduire l'oxygène. L'activation des Complexe NADPH oxydase sur l'anion superoxyde de la membrane cellulaire (Cerou, 1994 ; Favier, 2003).

- Xanthine oxydase (Xanthine oxydoréductase) (XOR):

La xanthine oxydase est un homodimère qui joue un rôle clé dans le catabolisme des purines. Les ERO apparaissent lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide (Figure 06) (Harrison,2002).

Figure 5: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase (Cotelle, 2001)

3.2.2. Source de production exogène

Elles proviennent également de sources exogènes telles que les radiations, les polluants Facteurs atmosphériques décroissants et circulants et certaines substances exogènes oxydation, le cycle redox. Les niveaux de ROS dans les systèmes biologiques sont ne dépend pas seulement de la productivité, mais aussi par la présence et l'activité des défenses antioxydantes cellulaires. Les électrophiles qui appauvrissent le GSH cellulaire peuvent entraîner un stress oxydatif secondaire. À cet égard, de nombreux produits chimiques environnementaux ainsi que des médicaments sont métabolisés pour former des métabolites électrophiles (**Merihi et Amoura, 2018**).

3.3. Les principales espèces réactives de l'oxygène

Tableau 2: Molécules médiatrices de stress oxydatif (Sorg, 2004).

Noms	Structures	Principales réactions
		Catalyse la réaction Haber-Weiß par recyclage des ions
Superoxyde	•0-0-	Fe^{2+} et Cu^+ ; Formation de peroxyde d'hydrogène ou
		peroxynitrite
Peroxyde		Formation des radicaux hydroxyles ; Inactivation
d'hydrogène	НО-ОН	enzymatique ; oxydation des biomolécules
Radical hydroxyle	•OH	Abstraction d'hydrogène; Production de radicaux libres
		et de peroxydes lipidiques ; oxydation des thiols
		Oxydation de toutes sortes de biomolécules, en particulier
Ozone	$-0-0^{+}=0$	celles contenant des doubles liaisons ; Formation
		d'ozonides et d'aldéhydes cytotoxiques
Oxygène singulet	0-0	Réaction avec double liaison, formation de peroxydes ;
		décomposition des acides aminés et des nucléotides

Oxyde nitrique	•N=O	Formation de peroxynitrite; Réaction avec d'autres
		radicaux
		Formation de radicaux hydroxyles; oxydation des thiols et
Peroxynitrite	$O=N-O-O^{-}$	des groupes aromatiques ; Conversion de la xanthine
		déshydrogénase en xanthine oxydase; oxydation des
		biomolécules
Hypochlorite	C10 ⁻	Oxydation des groupes aminés et contenant du soufre ;
		formation de chlore
		Abstraction d'hydrogène ; formation des radicaux
Radicale	R°	peroxyles et d'autres radicaux ; décomposition des lipides
		et d'autres biomolécules
Radicale peroxyle	R-O-O*	Abstraction de l'hydrogène ; formation des radicaux ;
		décomposition des lipides et d'autres biomolécules
Hydroperoxide	R-O-OH	Oxydation des biomolécules ; perturbation des
		membranes biologiques
Ions de cuivre et de	Cu ²⁺ , Fe ³⁺	Formation de radicaux hydroxyles par les réactions de
fer		Fenton et de Haber-Weiß

3.3.1. L'anion superoxyde (O2)

L'anion superoxyde est produit par différents systèmes enzymatiques, y compris les oxydases (par exemple, la NADPH oxydase dans les membranes lipidiques et les cytochromes dans la chaîne respiratoire mitochondriale) oxydase). Cette réaction se produit en transférant des électrons du cofacteur enzymatique vers l'oxygène (**Desmier**, **2016**).

$$O2 + e \rightarrow O2 \leftarrow$$

le radical O2•- résultant est très court en raison de sa grande réactivité. Il va donc rapidement interagir avec son environnement immédiat (molécules de solvants) et O2 est capable de générer d'autres radicaux libres plus réactifs (**Migdal et Serres, 2011**).

3.3.2. Le Radical hydroxyle (OH)

D'après (**Migdal & Serres, 2011**) Le radical hydroxyle est une substance très réactive et toxique qui attaque la plupart des molécules organiques : acides, alcools, aldéhydes, aromatiques, amines, éthers, cétones, etc. Il est formé par

- La réaction de Fenton :

Le peroxyde d'hydrogène oxyde le ferreux (Fe²+) selon la réaction redox suivante Fe2++ H2O2 $\rightarrow Fe3++ OH-+ OH-$

Le mélange de ferreux et de peroxyde d'hydrogène est un bon oxydant pour de nombreux composés organiques (réactif de Fenton). L'efficacité de cette réaction est affectée par : les ions ferreux, la

concentration initiale de peroxyde d'hydrogène, la concentration initiale de contaminants organiques, le pH et la température, ou la présence d'oxygène moléculaire dissous.

La réaction d'Haber Weiss :

La réaction de Haber-Weiss génère des radicaux hydroxyls OH. à partir de peroxyde d'hydrogène H2O2 et de superoxyde O2.

$$\bullet O_2^- + H_2O_2 \rightarrow \bullet OH + OH^- + O_2$$

3.3.3. Peroxyde d'hydrogène (H2O2)

Formation secondaire de pyrohydrogène par dismutation d'anions le superoxyde O2-· est réduit par un seul électron et catalysé par des ions métalliques, mais il peut être produit par le rayonnement ionisant de l'eau Fournit l'énergie nécessaire (**Moussous et Zemit, 2020**).

Le peroxyde d'hydrogène est un composé chimique de formule H2O2, non radicalaire et il n'est pas chargé (**Barouki**, **2006**).

$$2 \text{ H2O2} \rightarrow 2 \text{ H2O} + \text{O2}$$

3.3.4. Oxygène singulet (IO2):

L'oxygène singulet est une molécule à vie courte et instable dont les propriétés le rendent très réactif avec de nombreuses biomolécules : lipides, protéines et acides nucléiques (Koh & Fluhr, 2016).

4. Les cibles biologiques des agents oxydants

Les entités oxydantes sont très réactives et interagissent avec elles. La première molécule rencontrée réagit. Ils ciblent les lipides, les acides nucléiques et les protéines (Auberval, 2010).

4.1. Les protéines :

Les acides aminés ont des sensibilités différentes à vis-à-vis des EOA, Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque par les radicaux libres sur les acides aminés entraîne une oxydation de certains résidus, entraînant des groupements carbonyles, des ruptures de chaînes peptidiques et des doubles ponts tyrosine intra et inter-chaînes La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (incapacité à reconnaître les récepteurs par les ligands, perte

D'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées subissent peu de dégradation et forment des agrégats dans les cellules et les compartiments extracellulaires (Haleng et al , 2007).

4.2. Acide désoxyribonucléique (ADN) :

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec •OH pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (sénescence) (Haleng et al , 2007).

4.3. Les lipides

Oxydation des lipides par les ROS, connue sous le nom de peroxydation lipidique ; un phénomène général qui se produit en présence d'oxygène. Tous les lipides contenant des acides gras insaturés sont concernés quelle que soit leur source (huiles végétales, huiles de poisson, graisses animales, membranes cellulaires, lipoprotéines). Plusieurs maladies sont associées à cette oxydation, comme les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, le cancer et les maladies inflammatoires (Cillard et Cillar, 2006).

5. Conséquences biologiques du stress oxydant

Les conséquences biologiques du stress oxydatif seront très variables selon la dose et type cellulaire. Un stress léger augmente la prolifération cellulaire et l'expression de l'adhésine, un stress modéré favorisera l'apoptose, tandis qu'un stress intense peut provoquer une oxydation des protéines, de l'ADN et des membranes cellulaires, la nécrose et le stress sévère peuvent endommager les membranes cellulaires, provoquant à médiation par les lysosomes.

De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression, c'est une des théories actuelles du vieillissement (sénescence) (Moussous et Zemit, 2020).

6. La défense antioxydante

Les antioxydants sont des molécules qui réduisent ou empêchent l'oxydation d'autres produits chimiques. Les antioxydants sont divisés en deux grandes catégories : les antioxydants endogènes (enzymatiques) et les antioxydants exogènes (non enzymatiques), selon qu'ils sont produits par l'organisme (Baba et McGrath, 2008).

6.1. Antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes se présentent sous la forme d'enzymes produites par l'organisme. la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, qui sont toutes présentes dans le cytoplasme, les milieux extracellulaires et les mitochondries. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé(**Baba et McGrath**, **2008**).

6.1.1. Antioxydants enzymatiques

La superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux molécules superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (Hocine et Gorine , 2017). $2 O2^{\bullet}-+2 H+ \longrightarrow O2+H2O2$.

- Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (GPx/GR)

La glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine ayant fonction d'enzyme, formée de quatre sous-unités identiques (homotétramère) contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine.

Contrairement à un grand nombre de peroxydases, elles ne sont pas héminiques. La GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène (A) en oxydant deux molécules de Glutathion GSH réduites en GSSG. Elle assure plus largement la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment de type ROOH, en alcools (ROH) (B)

(A)
$$2 \text{ GSH} + \text{H2O2} \rightarrow \text{GSSG} + 2 \text{ H2O}$$

(B)
$$2 \text{ GSH} + \text{ROOH} \longrightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H2O}$$

La glutathion réductase permet de recycler le GSH en réduisant GSSG, produisant deux molécules de GSH, C'est une flavoenzyme homodimérique ; chaque sous-unité contient du FAD au niveau de son site actif (**Dubois**, **2015**).

- La catalase (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique, C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. (Matés et al , 1999).

6.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Certaines molécules chimiques de faible poids moléculaire, agissent comme antioxydants, leur rôle n'est pas la catalyse.

Il en existe deux catégories : les antioxydants non enzymatiques endogènes (si la cellule eucaryote est capable de les synthétiser) et les antioxydants non enzymatiques exogènes. (par l'alimentation) (Sharifi et al, 2020).

6.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) (**Béguel, 2012**).

6.2.1. Vitamine E (α-tocophérol)

La vitamine E, particulièrement α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble. De ce fait, elle est capable d'empêcher ou d'arrêter la propagation de la peroxydation lipidique. Elle réagit directement avec les ROS dérivés des PUFA ou d'autres molécules radicalaires et devient ellemême une espèce radicalaire α -tocophérol. Avant d'être de nouveau réduite de manière non-enzymatique par les caroténoïdes par exemple. La vitamine E est produite dans les chloroplastes des plantes, en revanche les animaux doivent la trouver dans leur alimentation. Sa concentration est assez faible dans les membranes dans la mesure où elle est continuellement recyclée en sa forme réduite (**Béguel, 2012**).

6.2.2. Vitamine C (Acide ascorbique)

La vitamine C est un excellent piégeur des espèces oxygéné activé (HO• ou O2•-). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Haleng et al , 2007).

7. Composés phénoliques comme antioxydants

Les composés phénoliques typiques possédant une activité antioxydante appartiennent à deux principales classes qui sont : les acides phénoliques et les flavonoïde (**Benhammou**, **2012**).

7.1. Les Acides phénoliques

Les acides phénoliques et ces dérivés seraient responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et des propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés. Les composés à activité antioxydante et antiradicalaire sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique. Quant à l'acide caféique, il est très efficace contre les virus, les bactéries et les

champignons. Par conséquent, l'acide gallique a la capacité de réduire la viabilité des cellules cancéreuses du poumon chez la souris in vitro, et la combinaison de cet acide avec des médicaments anticancéreux tels que le cisplatine peut traiter efficacement ces cancers. Il peut également prévenir les dommages oxydatifs de l'ADN cellulaire à de faibles concentrations et possède une forte activité anti-proliférative contre les cellules cancéreuses du côlon humain et les cellules épithéliales normales du foie de rat, telles que la quercétine (**Benhammou**, **2012**).

7.2. Les flavonoïdes

Plusieurs modes d'action de l'activité antioxydante des flavonoïdes ont été décrits (**Khelfallah**, **2013**):

7.2.1. Activité de piégeage

Trois mécanismes proposés par lesquels les antioxydants phénoliques peuvent jouer leurs activités scavenger :

- Le premier mécanisme inclut le transfert direct d'atome d'hydrogène à partir de l'antioxydant.
- Le deuxième mécanisme concerne le transfert d'un seul électron à partir de l'antioxydant au radical conduisant indirectement à l'abstraction d'atome d'hydrogène.
- ➤ Le troisième mécanisme a été conditionné séquentiellement par le transfert d'électron —perte de proton

Ces trois mécanismes peuvent avoir lieu en parallèle mais avec des vitesses différentes.

7.2.2. Chélation des métaux de transition

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ROS. Pour les flavonoïdes, les deux points d'attachements des ions de transition sont le groupe O-diphénolique dans la position 3', 4' di hydroxy du cycle B (Figure 7 a), et entre la fonction 4 cétone et l'hydroxyle 3 (Figure 7 b) ou la fonction cétone et l'hydroxyle 5 du cycle A (Figure 7 C).

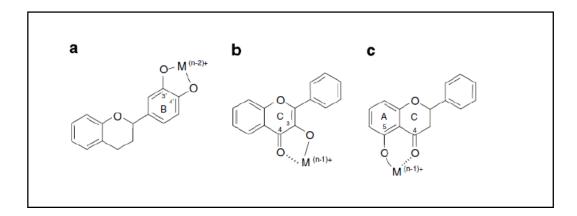


Figure 6: La complexation métallique par les flavonoïdes

7.2.3. L'activité inhibitrice d'enzymes

Les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhibition d'enzyme dont, en particulier, les oxydoréductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (lipoxygénase, cyclo-oxygénase, monooxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2, protéine kinase), facteurs structuraux qui peuvent améliorer le pouvoir antioxydant des flavonoides présent dans le tableux 3 (**Khelfallah, 2013**).

Tableau 3: quelques facteurs structuraux qui peuvent améliorer le pouvoir antioxydant des flavonoides(**Khelfallah, 2013**).

Activité	Facteurs améliorant le pouvoir antioxydant
Anti-radicalaire Complexations métallique	 Le nombre de groupements OH disponibles. La double liaison C2-C3 et un seul OH en position 4'. Une fonction catéchol sur le cycle B. La présence du C4'-OH. La méthylation a des effets variables. La fonction carbonyle en C4 et de groupe hydroxyle en C5 et/ou C3. La présence d'une partie catéchol. La présence d'un sucre a peu d'effet.
Inhibition de la péroxydation des lipides	 La présence d'une fonction catéchol. Le groupement carbonyle en position 4 du cycle C. La présence de groupement hydroxyle en position C5, C7, C3', C4', C3

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pélargonium graveolens*, en utilisant le test de réduction du fer (FRAP) et le test de 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH).

2. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Pélargonium graveolens*, une plante de la famille des Géraniacée, qui a été récoltée au mois de mai 2021 à la willaya de Tlemcen, commune d'Ain Fezza.

Après la récolte, la plante a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité à température ambiante pendant une semaine (fig. 8).



Figure 7: Photographie personnelle de la plante après séchage (la partie aérienne)

3. Préparation des extraits

3.1. Préparation de l'extrait eau-éthanol :

- 10g de matière végétale sèche sont mélangés avec 100ml de solvant eau-éthanol (30ml eau distillée + 70ml éthanol) préalablement chauffé. Le mélange repose pendant 30 min (Extraction par infusion)
- Filtration
- Evaporation du filtrat à l'aide d'un rotavapor, pour concentrer l'extrait.
- Séchage à l'étuve à 50°C pendant 24h.
- Récupération de produit(Fig.9).









Figure 8: Photographie personnelle des étapes de préparation des extraits eau-acétone et eau-éthanol.(A) Rotavapeur, (B) Filtration, (C) extrait après évaporation, (D) Le produit récupéré après séchage dans l'étuve.

3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone

Les mêmes étapes suivies pour l'extraction eau-éthanolique sont refaites pour préparer l'extrait eau-acétonique en remplaçant l'éthanol par l'acétone.

4. Calcul du rendement

Après l'extraction, les extraits séchés sont récupérés et les rendements sont calculés par la formule suivante :

$$R = [(M2-M1) / P] \times 100$$

Où:

- R : rendement en pourcentage %.
- M2 : la masse de la boite pétrie après séchage (contient l'extrait) en gramme.
- M1 : la masse de la boite pétrie vide en gramme. P : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai).

5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de réduction du fer FRAP (Ferric reducing Antioxidant power) et piégeage du radical de DPPH.

5.1. Réduction du fer (FRAP)

5.1.1. Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est lié à son pouvoir antioxydant. Cette technique mesure la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe ³⁺) présent dans le complexe de ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe²⁺). Le fer ferrique est jaune, se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de la coloration du jaune au bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydante (**Habibou** *et al.*, **2019**).

$$Fe^{3+} + 1e$$
 Fe^{2+}

5.1.2. Solutions à préparer

- Solution tampon phosphate 0.2M; pH = 6.6.
- Solution de ferricyanure de potassium K₃Fe (CN) ₆ à 1%.
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.
- Solution aqueuse de chlorure ferrique Fe Cl₃ à0,1%.

5.1.3. Mode opératoire

1ml de l'extrait à différentes concentrations (0,2 ; 0,4 ; 0 ,6 ; 0,8 et 1mg/ml) est mélangé avec 2,5ml de la solution tampon phosphate et 2,5ml de ferricyanure de potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20min.

Après l'incubation 2,5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (remarque : cette dernière étape peut ne pas être nécessaire).

2,5ml de surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0.5ml de Chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

5.1.4.

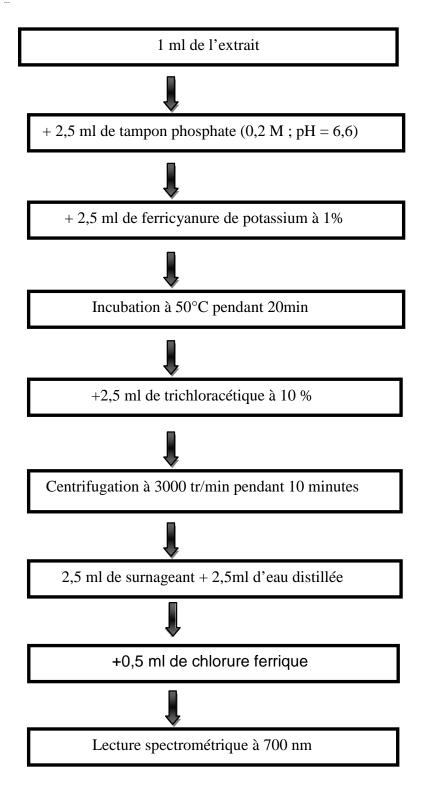


Figure 9: Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de Pélargonium graveolens

5.2. Piégeage du radical de DPPH

5.2.1. Principe

Réaction entre le radical libre DPPH• et l'antioxydant Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques . Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Fig.11). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (Ilona Saykova 2009).

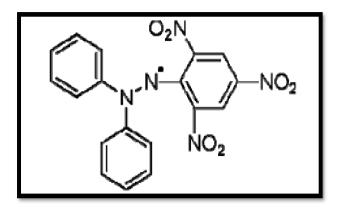


Figure 10: Structure chimique du radicale libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle).

5.2.2. Préparation de DPPH

6mg de DPPH sont solubilisés dans un 100ml de méthanol et mis sous agitation pendant une heure.

5.2.3. Mode opératoire

1 ml de l'extrait à différentes concentrations (1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 mg/ml) est mélangé avec 2 ml de la solution de méthanol.

On ajoute 1 ml de solution méthanolique deDPPH.

Après l'incubation 30 min. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 514 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé à partir 2ml de méthanol et Le

Chapitre III : matériel et méthodes

contrôle préparé en parallèle à partir de 1ml de méthanol avec 1 ml de solution méthanolique deDPPH.

Résultats et interprétations

1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait

Les deux extraits obtenus à partir de l'extraction possèdent des caractéristiques différentes. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits possèdent une couleur marronne et sont récupérés sous forme de pâte avec des rendements variables, l'extrait eau-acétone récupéré a donné un rendement égal à (1,3%) et le deuxième extrait eau-éthanol non déterminé. Le rendement d'extraction dépend du solvant utilisé pour l'extraction

2. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *Pélargonium gravelons* a été évaluée par la méthode de réduction de fer FRAP (Ferricreducing antioxydant power) et piégeage du radical de DPPH.

2.1. Réduction de fer FRAP

2.1.1. Effet de l'extrait eau-acétone

Les résultats de la capacité de l'extrait eau-acétone à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) en fonction de la concentration sont représentés dans la figure 12. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé.

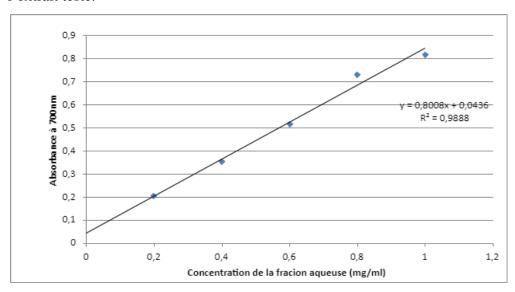


Figure 11:Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-acétone, de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*.

2.1.2. Effet de l'extrait eau-éthanol

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait eau-éthanol à réduire le fer en fonction de la concentration sont représentés dans la figure 13.

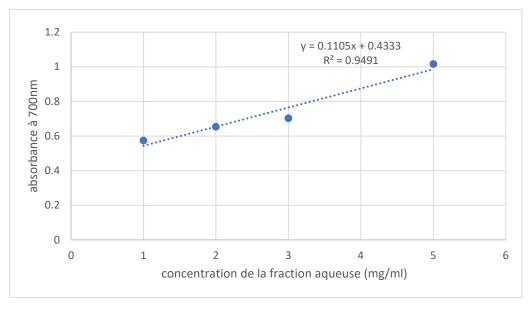


Figure 12:Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-éthanol, de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*.

2.1.3. Effet de l'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les deux extraits, eau-acétone et eau-éthanol. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 14.

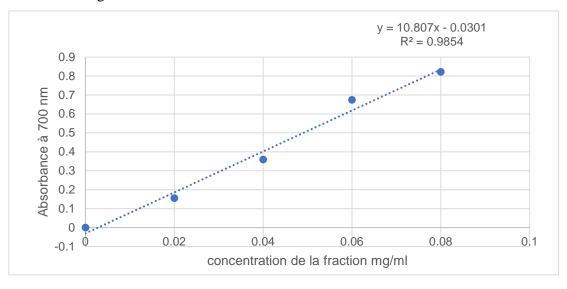


Figure 13:Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique

D'après les graphes, on remarque que le pouvoir réducteur du fer des deux extraits et du standard (acide ascorbique) augmente avec l'augmentation de la concentration.

L'extrait eau-éthanol présente l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec une absorbance A=1,597 a une concentration de 1mg/ml comparé à l'extrait eau-acétone A=1,586.

Les deux extraits étudiés ont la capacité de réduire le fer, mais l'acide ascorbique employé dans cette méthode comme un contrôle positif, a montré le pouvoir réducteur le plus élevé.

Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs d'EC₅₀ (la concentration qui correspond à une absorbance de 0,5 à 700nm). Ces concentrations sont déterminées graphiquement.

Les valeurs d'EC₅₀ sont montrées dans le tableau 04.

Tableau 4: Valeur des EC50 en mg/ml des deux extraitq de *Pélargonium graveolens* et de l'acide ascorbique

	Acide ascorbique	Eau- éthanol	Eau- acétone
EC50 (mg/ml)	0,049	0,63	0,569

L'EC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. L'étude de l'activité réductrice du fer a montré que l'activirté de l'acide ascorbique a EC₅₀ la plus élevée (0,049 mg/ml), suivi par l'extrait eau-acétone (0,569 mg/ml), et l'extrait eau-éthanol qui a la valeur d'EC₅₀ la plus faible (0,63mg/ml).

Donc, nous pouvons déduire que l'extrait eau-acétone montre un pouvoir réducteur meilleur que l'extrait eau-éthanol.

2.2. Piégeage du radical de DPPH

2.2.1. Effet de l'extraiteau-acétone

Les résultats de la capacité de l'extrait eau-acétone à piéger le radical DPPH en fonction des concentrations sont représentés sur la figure 15. L'augmentation de l'absorbance correspond à

 $y = -67388x^2 + 5076.8x + 4.6908$ $R^2 = 0.9655$ 120 pourcentage de réduction de DPPH 100 80 60 40 20 0 0.01 0.02 0.03 0.04 0.05 0.06

une augmentation du pouvoir antiradicalaire de l'extrait testé.

Figure 14:Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait eau-acétone de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*.

concentration en mg/ml

2.2.2. Effet de l'extrait eau-éthanol

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait eau-éthanol à piéger le radical DPPH en fonction des concentrations sont représentés sur la figure 16 :

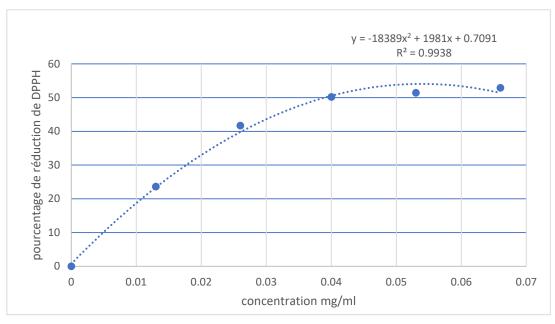


Figure 15: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait eau-éthanol de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*

2.2.3. Effet de l'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique dont le pourcentage a été mesuré dans les mêmes conditions que les deux extraits, eau-acétone et eau-éthanol. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 17

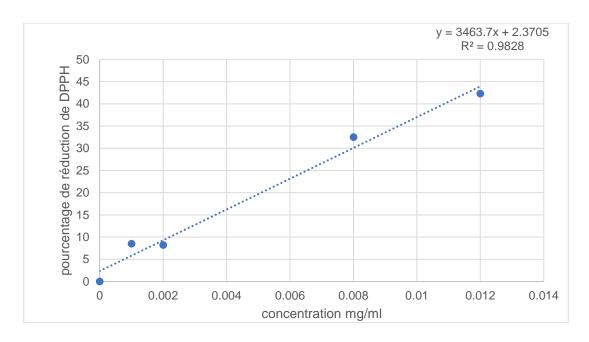


Figure 16:Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique

D'après les graphes, on remarque que le piégeage du radical DPPH par les deux extraits et du standard (acide ascorbique) augmente avec l'augmentation dela concentration.

L'extrait eau-acétone présente un pourcentage de réduction égale à 68,55% pour une concentration de l'ordre de 0,013 mg/ml. Cela montre une activité intéressante contre le DPPH. Alors que,l'extrait eau-éthanol on remarque que la concentration de l'ordre de 0,013 mg/ml, le pourcentage de réduction est égal à 23,6%

Par contre, l'acide ascorbique présente un Pourcentage de réduction égale è 42,28 % pour une concentration de l'ordre de 0,012mg/ml

Tableau 5: Valeur des IC50 en mg/ml des deux extraits de *Pélargonium graveolens* et de l'acide ascorbique

	Acide ascorbique	Eau- éthanol	Eau- acétone
IC ₅₀	0,00137	0,12	0,08

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. L'étude de l'activité de piégeage du radical DPPH a montré que l'acide ascorbique a IC₅₀ la plus élevée (0,00137mg/ml), suivi par l'extrait eau-acétone (0,08 mg/ml), et l'extrait eau-éthanol qui a la valeur d'IC₅₀ la plus faible (0,12mg/ml).

Donc, nous pouvons déduire que l'extrait eau-acétone montre un pouvoir réduction meilleur que l'extrait eau-éthanol.

Discussion

Les plantes médicinales suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur immense réserve en composés potentiels et en molécules bioactives, qui se caractérisent par une grande diversité structurale et chimique et un large éventail d'activités biologiques, cela demeure l'objet de plusieurs recherches scientifiques *in vitro et in vivo* (Mohammedi, 2020).

Le présent travail a pour objectif d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits : eau-acétone et eau-éthanol de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*. Pour cela nous avons choisi deux techniques d'évaluation du pouvoir antioxydant, réduction du fer et piégeage de DPPH.

Le rendement a été obtenu dans l'extrait eau-acétone (1,3%)et le deuxième non déterminé.

La méthode FRAP a été utilisée pour démontrer l'activité antioxydante de deux extraits (eau-acétone et eau-éthanol). Les résultats ont montré que la capacité réductrice du fer augmentait avec l'augmentation des concentrations d'extraits de géranium et d'acide ascorbique (utilisés comme témoins positifs dans cette méthode). La méthode est basée sur une réaction redox entre le fer ferrique, Fe3+, et les composés présents dans l'extrait. Le Fe3+ ferrique présent dans les complexes de ferricyanure de potassium est réduit en Fe2+ ferreux par ces composés (Habibou *et al.*, 2019).

Les valeurs d'EC50 (concentration de l'extrait à une absorbance égale à 0,5), permet de classer la capacité à réduire le fer par les deux extraits et l'acide ascorbique. Les résultats montrent que l'extrait eau-éthanol (EC50 =0,63 mg/ml) présente une faible capacité réductrice par rapport à l'extrait eau-acétone (EC50 =0,569 mg/ml). L'acide ascorbique a la capacité réductrice la plus élevée (EC50 =0,049mg/ml).

Ouahrani (2021) a réalisé un travail sur les extraits eau-acétone et eau-éthanol où elle a évalué le pouvoir antioxydant de ces extraits par technique de FRAP. Les deux extraits ont un pouvoir réducteur de fer mais l'extrait eau-éthanol ($EC_{50} = 0,293 \text{ mg/ml}$) présente une forte

capacité réductrice par rapport à l'extrait eau-acétone ($EC_{50} = 0.33 \text{ mg/ml}$). L'acide ascorbique a la capacité réductrice la plus élevée ($EC_{50} = 0.108 \text{ mg/ml}$).

L'activité antioxydante de deux extraits (eau-acétone et eau-éthanol) de *Pélargonium graveolens*. Aété évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (**Majhenic L .et al 2007**). Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits testés montrent que le pourcentage de réduction de DPPH des extraits eau-acétone et eau-éthanol est supérieur à 90% à des concentrations de l'ordre de 0,08 et 0,12 mg/ml respectivement.

Les valeurs d'IC50 obtenus permettent de classer les extraits testés en fonction de son pouvoir réducteur de DPPH. L'extrait eau-acétone avec (IC50=0,08mg/ml) présent un pouvoir réducteur meilleur que celui de L'extrait eau-éthanol avec (IC50=0,12mg/ml), mais ils restent plus faibles que celle de l'acide ascorbique avec (EC50=0,00137mg/ml) qui a le pouvoir réducteur le plus fort.

Ćavar & Maksimović (2012) ont évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles et des hydrosols de *Pélargonium graveolens* (cultivé en Bosnie et collecté en août 2010) par le test de piégeage des radicaux DPPH confirme le pouvoir antioxydant de cette espèce. Les valeurs de la IC50 variaient de $(0,19\pm0,05\text{ mg/ml})$ (tiges) à $(0,39\pm0,04\text{ mg/ml})$ (feuilles) pour les hydrolats, et de $(63,70\pm1,56\text{ mg/ml})$ (feuilles) à $(64,88\pm1,12\text{ mg/ml})$ (tiges) pour les huiles essentielles. Ces valeurs sont comparables à celles du thymol (IC50 = $1,90\pm0,04\text{ mg/mL})$ qui a été utilisé comme sonde positive. Les résultats globaux sur l'activité antioxydante obtenus pour les hydrosols sont meilleurs que ceux qui ont obtenus pour les huiles essentielles, et même dix fois plus élevés que ceux du thymol. Et l'huile essentielle obtenue à partir des tiges a une activité antioxydante plus élevée que l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles. Ceci est probablement dû à la teneur élevée de composés phénoliques dans cette plante.

D'après **Dimitrova** *et al.*, **(2015)** ont préparé des extraits à fin d'évaluer l'activité antioxydant de *Pélargonium graveolens*. Ils ont montré que l'extrait qui a été obtenus par la décoction contient plus de substances phénoliques 8.23 mg GAE/g FW par rapport à l'extrait de la fusion 1.65 mg GAE/gFW.

Amarti et al, (2011) ont réalisés une étude pour évaluer L'activité antioxydante des huiles essentielles de T. capitatus, T. ciliatus et T. bleicherianus par le test DPPH par rapport à

l'essence de T. algeriensis et à d'autres espèces de thym de la littérature. Les valeurs de la IC50 obtenus sont IC50= 0,069 mg/ml, 0,074 mg/ml et 0,077 mg/ml respectivement. Ces valeurs sont comparables à celles de l'acide ascorbique et l'α- tocophérol qui ont été utilisés comme contrôles positifs. Les quatre espèces possèdent un pouvoir antioxydant important peut être due à leurs profils chimiques riches en phénols.

Finalement, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Pélargonium graveolens* a une activité antioxydante remarquable et importante, qui peut être due à la présence de différentes molécules dans les extraits testés. Cette plante peut être considérée comme un futur candidat prometteur en tant que complément alimentaire, il est donc essentiel d'établir les bases scientifiques de leurs actions thérapeutiques, qui peuvent servir de source pour le développement de médicaments efficaces. Ce travail est encore préliminaire et mérite d'être reproduit par d'autres techniques antioxydantes.

Conclusion

Le travail présent a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*, plante de la famille des géraniacées. Par deux méthodes : réduction de fer FRAP et piégeage du radical DPPH. Ce travail commencé par la préparation des deux extraits : eau-acétone et eau- éthanol.

A l'issu des résultats obtenus nous avons constaté que les deux extraits présentent une capacité réductrice qui augmente proportionnellement avec la concentration dont l'extrait eau-acétone (EC50= 0,569 mg/ml) a un potentiel antioxydant plus élevé par rapport à l'extrait eau-éthanol (EC50= 0,63 mg/ml), cependant ces valeurs demeure largement supérieur à celle enregistrée pour l'acide ascorbique utilisé en guise standard (EC50= 0,049mg/ml).

La capacité de piégeage du radical libre DPPH est très intéressante avec IC50 de l'ordre de 0,12mg/ml de l'extrait eau-éthanol. Cette dernière, reste supérieure à celle de l'extrait eau-acétone (IC50=0,8mg/ml) alors que l'acide ascorbique présente une IC50 égale à 0,0013mg/ml. D'après les résultats obtenus plusieurs perspectives prouvent être proposés.

- Réalisation d'autre méthode d'extraction, et utilisations des solvants différents.
- Changement de la région et la période de récolte.
- Réalisation des tests différents pour une meilleure évaluation du pouvoir antioxydant de la plante étudiée.
- Réalisation d'autres tests pour évaluer l'activité antimicrobienne, antifongique, antidiabétique, antitumorale et d'autres activités biologiques.
- Faire des études sur la toxicité de la plante.

RéférencesBibliographie

- 1. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/12538078.2011.10516269?needAccess=true.
- 2. https://www.aujardin.info/plantes/pelargonium-graveolens.php.
- 3. https://www.doc-developpement-durable.org/file/Fabrications-Objets-Outils-Produits/Huiles-essentielles/FICHES_PLANTES&HUILES/geranium-pelargonium/Geranium-rosat.pdf.
- 4. **AUBERVAL**, **N.** (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat. Strasbour.
- 5. Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., Afor, E., Akinrinlola, B. L., Onibon, T. R., Akinboboye, A. O., ... & Farombi, E. O. (2007). Chemical constituents and antioxidant activity of Alstonia boonei. *African Journal of Biotechnology*, 6(10).
- 6. Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., ... & Chaouch,
 - **A.** (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. Acta botanica gallica, 158(4), 513-523
- 7. **Bounab.S, Sahli .I,(2018)**, Etude de l'activité de la peroxydase (POD) et de la catalase. (CAT) chez Lens culinaris contaminée par le cadmium, Mémoire Master, Université Costantine 1.
- 8. **Baba,L., McGrath,IM.(2008).** Oxygen free radicals: effects in the newborn period. Advances in Neonatal Care 8 Journal, pp. 256-264.
- 9. **Barouki, R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. Médecine/sciences, 22(3), 266-272.
- 10. Boukhris, M., Simmonds, M. S., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2013). Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, Pelargonium graveolens. Phytotherapy research, 27(8),1206-1213.
- 11. **Béguel.** (2012). **Jean-Philippe Béguel**. Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse Crassostrea gigas. Biologie animale. Université de Bretagne occidentale Brest, Français.
- 12. **BENHAMMOU,N.** (2012). . Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie: Thèse de Doctorat.

- 13. Boukhatem, M. N., Saidi, F., Hamaidi, M. S., Hakim, Y., & Mekarnia, M. (2011). Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (Pelargonium graveolens) en Algérie: état des lieux et perspectives. Phytothérapie, 9(5),304-309.
- 14. Ćavar & Maksimović (2012) Ćavar, S., & Maksimović, M. (2012). Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of Pelargonium graveolens L'Her. Food control, 23(1),263-267.
- 15. **CILLARD, J., CILLARD, P**. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. Oleagineux, corps gras, lipides, vol. 13, no 1, p. 24-29.
- 16. **DEFRAIGNEJ,O., INCEMAIL, J. (2008)**. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Revue médicale de Liège, vol. 63, p. 10-19. 2008.
- 17. **DESMIER,T.** (2016).LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS,THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE,UNIVERSITÉ DE LIMOGES,France.
- 18. DUBOIS,B. (2015). IMPLICATION DU STRESS OXYDANT DANS PLUSIEURS AFFECTIONS DU CHEVAL ATHLETE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE, These doctorat, l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I, France.
- 19. **Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008)**. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Revue médicale de Liège, 63,10-19.
- 20. **Eddhima,Z.(2019)**.Les radicaux libres:effets,mecanismesetapproches therapeutiques (Doctoraldissertation).
- 21. **FAVIER,A.** (2001). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique Review. l'actualitechimique, nouvembre, pp: 108-115. GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI AM. .
- 22. **Favier**, **A.** (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10),863-832.
- 23. **Ghedira,K.,&Goetz,P.(2015**). Géraniumrosat: Pelargoniumgraveolens L'Hér. (Géraniaceae). Phytothérapie, 13(3), 197-201

- 24. **GARAIT,B.** (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®, Thèse de doctorat. Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- 25. **HALENG,J., PINCEMAIL,J., DEFRAIGNE, J.** (2007). Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, vol. 62, no 10, p. 628-38.
- 26. **Hammer K.A., C.F. Carson & T.V. Riley, 2003.** Antifungal activity of the components of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. J. Appl. Microbiol. Immunol., 95 (4), 853-860.
- 27. **Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O.** (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Differents Organes de Detarium microcarpum Guill. & Perr. European Scientific Journal, 15(12),159-171.
- 28. **Janin**, **J.** (2006). Intoxication volontaire par l'ingestion d'huile essentielle de Géranium Bourbon (pélargonium Graveolens) : à propos d'un cas réunionnais (Doctoral dissertation, UHP-Université HenriPoincaré).
- 29. **KHELFALLAH,A.** (2013). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires.
- 30. **Koh & Fluhr, (2016)**. Singlet Oxygen-Induced Membrane Disruption and Serpin-Protease Balance in Vacuolar-Driven Cell Death.
- 31. Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.

32.

- 33. **Michael S. Wolin Mansoor Ahmad, and Sachin A. Gupte**.Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADP.
- 34. <u>Michael S. Wolin</u> Reactive Oxygen Species and Vascular Signal Transduction Mechanisms.
- **35.** (**Majhenic L., kerget M.S., et Knez Z.** (**2007**) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry.104, 1258-1268.)
- 36. **Matés,J., Perez-Gomez,C., Nunez Castro, I.** (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical Biochemistry Journal, Vol 32, pp. 595-603.
- 37. MERIKHI,M., AMOURA, I.(2018). Evaluation de l'état du stress oxydatif et des

- altérations histopathologiques et biologiques au cours de cancérogénèse colorectale. Thèse de doctorat. Université de Jijel.
- 38. **MIGDAL, C., SERRES,M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences, vol. 27, no 4, p. 405-412. 2011.
- 39. **Mohammedi, Z.** (2020). Étude de l'évolution de la capacité antiradicalairedu fruit de l'Arbutus unedo L. à différents stades de maturation. Bulletin de la Société Royaledes Sciences deLiège.
- 40. **Moussous, W., et Zemit, F.** (2020). Widad & Fatma zohra, Activité Antioxydante et Antiulcéreuse de Carthamus caeruleus ,Memoire de Master,UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ, BOUIRA.
- 41. **Ouhrani.**(**2021**). Ouhrani R,Evaluation du pouvoir antioxydant de Pelargonium graveolens,Diplôme de MASTER,UNIVERSITE de TLEMCEN.
- 42. **PINCEMAIL** et al. (2009). PINCEMAIL, Joël, LE GOFF, Caroline, CHARLIER, Corinne, et al. Evaluation biologique du stress oxydant: application en routine clinique. Nutr. Endocrinol, 2009, p. 16-31. 2009.
- 43. Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.
- 44. **Paster,J.** (2005). INTERET DE LA SUPPLEMENTATION EN ANTIOXYDANTS DANSL'ALIMENTATION DES CARNIVORES DOMESTIQUES,THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE,l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- 45. **Rioux,C.**(**2009**). STRESS OXYDATIF ET PRÉVENTION DES MALADIES CHRONIQUES La supplémentation s'impose-t-elle?,Mémoire pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.),UNIVERSITÉ LAVAL, QUÉBEC
- 46. Sharifi,M, Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini,E., ... & Sharifi-Rad, J. Lifestyle, (2020)., oxidative stress, and antioxidants: Back and forthin the pathophysiology of chronic diseases. Frontiers in physiology, 11, 694.
- 47. Sompaga, S., Jyothi, B. A., Chekuri, S., Baburao, N., & Anupalli, R. R. (2016). Organic Extracts of *Pelargonium graveolens*: Phenol Content, Antioxidant and Anti-bacterial Activities. *European Journal of Medicinal Plants*, 17(1), 1-8.
- 48. Tahouo, F. (2016). procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour

- l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes (Doctoraldissertation).
- 49. Watt J.M. & M.G. Breyer-Brandwijk, 1962.- The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa, 2nd ed. Edinburgh, E&S Livingstone Ltd., 449-455.
- 50. **Weiss E.A., 1997.** Essential oil crops. Centre for Agriculture and Biosciences (CAB) International, New York and UK, 24-50.
- 51. **Wolin M.S., 1996.** Reactive oxygen species and vacular signal transduction mechanisms. Microcirculation 3:1-17.
- 52. **Wolin MS., Ahmed M. and Gupte S.A., 2005.** Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts ,current conteroversies, and potentialimportance of cytosolic NADPH. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 289: 159-173.