

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la

Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de BIOLOGIE



*Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, physico-chimie, activités biologiques  
et synthèse*

## MÉMOIRE

Présenté par

**HOUAT Sara**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En sciences biologiques

Biochimie appliquée

**Thème**

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

Soutenu le 22/06/2022, devant le jury composé de :

Président	BENARIBA Nabila	MCA	Université d'origine
Encadrant	MADJDOUB Houria	MCB	Université d'origine
Examineur	BOUALI Waffa	MCA	Université d'origine

**Année universitaire 2022/2023**

## الملخص

تم استخدام النباتات الطبية منذ العصور القديمة لتخفيف وعلاج الأمراض بشري. في الواقع، ترجع خصائصها العلاجية إلى وجود مركبات طبيعية نشطة بيولوجيًا.

في هذا السياق، يتعلق هذا العمل بدراسة *Pelargonium graveolens*، وهو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Geraniaceae، تم حصاده في مارس 2023 في بلدة عين Fezza. كان الهدف الرئيسي هو تقييم الطاقة المضادة للأكسدة لهذا المصنع في المختبر باستخدام طريقتين: تقليل الحديد FRP وحبس DPPH الجذري الحر. تم تحضير ثلاث مقتطفات من الأوراق. تضمنت طرق الاستخراج المستخدمة النقع، والتسريح، والتسريب، مع الماء المقطر كمذيب وحيد. تختلف قيم العائد اعتمادًا على طريقة الاستخراج حيث سجلنا  $2.96 \pm 0.82\%$  للنقع،  $7.24 \pm 2.41\%$  للدكتوريون و  $1.28 \pm 0.51\%$  للتسريب.

وفقًا لطريقة FRP، أظهر المستخلص المُقشر أكبر نشاط مضاد للأكسدة بقيمة  $EC_{50}$  تبلغ 0.56 مجم / مل متبوعًا عن كُثب بالمستخلص المُغمر بقيمة  $EC_{50}$  1.01 مجم/مل. أظهر المستخلص المنقع قيمة  $EC_{50}$  2.08 مجم / مل. وبالمقارنة، أظهر حمض الأسكوربيك، المستخدم كعنصر تحكم إيجابي، نشاطًا أعلى مضادًا للأكسدة بقيمة  $EC_{50}$  تبلغ 0.27 مجم / مل. فيما يتعلق بطريقة DPPH، أظهر المستخلص المُفكك أكبر قدرة محاصرة للجذر الحر، بقيمة  $IC_{50}$  تبلغ 0.057 مجم / مل، متبوعًا بمستخلص معقم بقيمة  $IC_{50}$  تبلغ 0.132 مجم / مل، وكان للمستخلص المصاب أقل قدرة محاصرة بقيمة  $IC_{50}$  تبلغ 1.138 مجم / مل. حمض الأسكوربيك، الذي يستخدم مرة أخرى كعنصر تحكم إيجابي، أظهر قدرة محاصرة جذرية أعلى مع قيمة  $IC_{50}$  تبلغ 0.01 مجم / مل.

تسلط هذه النتائج الضوء على إمكانات *Pelargonium graveolens* كمصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية، خاصة للمستخلص الملحق. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لفهم أفضل للمركبات المحددة المسؤولة عن هذا النشاط واستكشاف تطبيقاتها المحتملة في مجال الصحة والتغذية.

**الكلمات الرئيسية:** *Pelargonium graveolens*. نشاط مضاد للأكسدة، تقليل الحديد (FRP)، محاصرة DPPH الجذرية الحرة، فك الشفط، النقع، التسريب

## Le résumé

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de composés naturels bioactifs.

Dans ce cadre, le présent travail porte sur l'étude de *Pelargonium graveolens*, une plante médicinale appartenant à la famille des Geraniaceae, récoltée au mois de mars 2023 dans la commune d'Ain Fezza. L'objectif principal était d'évaluer le pouvoir antioxydant de cette plante *in vitro* en utilisant deux méthodes : la réduction du fer (FRP) et le piégeage du radical libre DPPH. Trois extraits ont été préparés à partir des feuilles. Les méthodes d'extraction utilisées comprenaient la macération, la décoction et l'infusion, avec comme seul solvant l'eau distillée. Les valeurs du rendement sont variables en fonction de la méthode d'extraction où nous avons enregistré  $2,96 \pm 0,82\%$  pour la macération,  $7,24 \pm 2,41\%$  pour la décoction et  $1,28 \pm 0,51\%$ , pour l'infusion.

Selon la méthode FRP, l'extrait décocté a présenté la plus grande activité antioxydante avec une valeur  $EC_{50}$  de 0,56 mg/ml suivi de près par l'extrait infusé avec une valeur d' $EC_{50}$  de 1,01 mg/ml. L'extrait macéré a montré une valeur d' $EC_{50}$  de 2,08 mg/ml. Comparativement, l'acide ascorbique, utilisé comme contrôle positif, a affiché une activité antioxydante plus élevée avec une valeur  $EC_{50}$  de 0,27 mg/ml.

En ce qui concerne la méthode DPPH, l'extrait décocté a montré la plus grande capacité de piégeage du radical libre, avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,057 mg/ml, suivi par l'extrait macéré avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,132 mg/ml, et l'extrait infusé a présenté la plus faible capacité de piégeage avec une valeur  $IC_{50}$  de 1,138 mg/ml. L'acide ascorbique, encore une fois utilisé comme contrôle positif, a affiché une capacité de piégeage du radical libre plus élevée avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,01 mg/ml.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *Pelargonium graveolens* en tant que source d'antioxydants naturels particulièrement pour l'extrait décocté. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les composés spécifiques responsables de cette activité et explorer leurs applications potentielles dans le domaine de la santé et de la nutrition.

**Mots-clés :** *Pelargonium graveolens* ; activité antioxydante, réduction du fer (FRP), piégeage du radical libre DPPH, décoction, macération, infusion

## **Abstract**

Medicinal plants have been used since antiquity to relieve and cure diseases human. In fact, their therapeutic properties are due to the presence of bioactive natural compounds.

In this context, this work concerns the study of *Pelargonium graveolens*, a medicinal plant belonging to the family Geraniaceae, harvested in March 2023 in the commune of Ain Fezza. The main objective was to assess the antioxidant power of this plant in vitro using two methods: iron reduction ( FRP ) and trapping of the free radical DPPH. Three extracts were prepared from the leaves. The extraction methods used included maceration, decoction and infusion, with distilled water as the only solvent.

The yield values are variable depending on the extraction method where we recorded  $2.96 \pm 0.82\%$  for maceration,  $7.24 \pm 2.41\%$  for decoction and  $1.28 \pm 0.51\%$ , for infusion.

According to the FRP method, the decocted extract showed the greatest antioxidant activity with an EC50 value of 0.56 mg / ml followed closely by the infused extract with an EC50 value of 1.01 mg/ml. The macerated extract showed an EC50 value of 2.08 mg / ml. Comparatively, ascorbic acid, used as a positive control, displayed higher antioxidant activity with an EC50 value of 0.27 mg / ml.

With regard to the DPPH method, the decocted extract showed the greatest trapping capacity of the free radical, with an IC50 value of 0.057 mg / ml, followed by the macerated extract with an IC50 value of 0.132 mg / ml, and the infused extract had the lowest trapping capacity with an IC50 value of 1.138 mg / ml. Ascorbic acid, again used as a positive control, displayed a higher free radical trapping capacity with an IC50 value of 0.01 mg / ml.

These results highlight the potential of *Pelargonium graveolens* as a source of natural antioxidants, particularly for the decocted extract. More research is needed to better understand the specific compounds responsible for this activity and to explore their potential applications in the area of health and nutrition.

**Keywords :** *Pelargonium graveolens* ; antioxidant activity, iron reduction ( FRP ), trapping of the free radical DPPH, decoction, maceration, infusion

# Remerciement

*Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*Tout d'abord, remerciements et ma vive connaissance à Mme MEDJDOUB Houria. 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, Merci pour votre soutien, votre disponibilité et votre gestion efficace. Merci pour votre compréhension, votre gentillesse et votre confiance en moi tout au long du processus de recherche, vous étiez là pour recadrer mes recherches dans le bon sens, mes remerciements les plus profonds.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Melle BENARIBA Nabila, Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. D'avoir accepté de présider le jury et ses efforts afin d'améliorer la formation biochimie appliquée.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme BOUALI Waffa, Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkadi-Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Enfin, je remercie mes chers parents, je vous aime, merci pour votre soutien, votre patience, m'a toujours motivée d'être toujours à mes côtés. Mes frères et ma petite sœur.*

*Je remercie mon collègue Hicham pour leur soutien morale et leur encouragement tout le temps.*

*Je tiens à remercier toute personne qui a contribué au succès de mon travail de ce mémoire.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mes chers parents, ma mère et mon père*

*A ma sœur Malak*

*A ma chère poupée sérine*

*A mes frères Oussama et amine*

*Merci pour leur amour inestimable, leur tendresse, leur soutien et leur  
encouragement.*

*A la communauté scientifique*

*Espérant qu'il lui sera utile.*

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: <i>Pelargonium graveolens</i> .....	5
Figure 3 : (B) champs de culture de géranium rosat et (A) situation géographique du champs (commune de Chiffa, wilaya de Blida, 70km au sud d'Alger, Algérie) (Boukhatem et al., 2011). .....	8
Figure 4: Les trichomes glandulaires et non glandulaires de <i>Pelargonium graveolens</i> (Lis-Balchin, 2002). ....	12
Figure 5: le stress oxydatif (ghilaine charrade).....	15
Figure 6: stress oxydant et défenses antioxydant en biologie .....	16
Figure 7: Formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et nitrogène (RNS) (Codorner-Franch et al., 2011). ....	16
Figure 8: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Kohen et Nyska., 2002) .....	20
Figure 9: : Structure chimique du tocophérol (Amra, 2020). ....	21
Figure 10: : Structure chimique de l'acide ascorbique (Ravetti et al., 2019). ....	22
Figure 11: Deux exemples des structures des caroténoïdes (Shankaranarayanan et al., 2018). ....	22
Figure 12: Structure chimique d'un polyphénol de synthèse. ....	23
Figure 13: Stratégie de conception de systèmes antioxydants susceptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction. ....	24
Figure 14: Pathologies associées aux espèces réactives (Pham-Huy et al., 2008). ....	24
Figure 15: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail et al., 2002) .....	25
Figure 16: Photographie personnelle de la plante (feuilles).....	28
Figure 17 : Aspect des deux extraits obtenus après le séchage .....	29
Figure 18: Extraction par décoction .....	29
Figure 19: Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	31
Figure 20: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhényle-1-Picryl-Hydrazyle). ....	32
Figure 21: Photographie qui montre les extraits obtenus par les méthodes macération, infusion, décoction .....	34
Figure 22 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait infusé des feuilles de <i>Pelargonium graveolens</i> . ....	35
Figure 23: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait macéré des feuilles de <i>Pelargonium graveolens</i> . ....	35
Figure 24: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait décocté de la feuille de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	36
Figure 25 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.....	36
Figure 26: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait infusé de feuille de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	39
Figure 27: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait macéré des feuilles de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	39
Figure 28 : Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait macéré des feuilles de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	40
Figure 29: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique des feuilles de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	40

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification du <i>Pelargonium graveolens</i> (Ghedira et Goetz, 2015) .....	6
Tableau 2 : Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans <i>P.graveolens</i> par la technique d'HPLC-SM (Boukhris et al., 2012).....	8
Tableau 3: Importance pharmacologique et utilisation traditionnelle du Pélargonium graveolens (BedierJean François., 2012).....	11
Tableau 4: Aspects des différents extraits préparés .....	34
Tableau 5: Valeur des EC50 en mg/ml des trois extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> et de l'acide ascorbique.....	37
Tableau 6: Valeur des IC50 en mg/ml des trois extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> et de l'acide ascorbique.....	41

## Liste des abréviations

- 1O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AGE** : Advanced glycated endproducts
- ATP** : L'adénosine triphosphate
- CAT** : Catalase
- Cu** : cuivre
- DO** : Densité optique
- EC<sub>50</sub>** : Concentration Efficace de 50 %  
d'une activité
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- ERN** : Espèces réactives de l'azote
- Fe<sub>3+</sub>** : Fer ferrique
- Fe<sub>2+</sub>** : Fer ferreux
- FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique
- FRAP** : Pouvoir réducteur de fer
- GPX** : Glutathion Peroxydase Cellulaire
- GSH** : Glutathion réduit
- GSSC** : glutathion oxydé
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène
- K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium
- LDL** : Lipoprotéines de basse densité
- NADP** : Le nicotinamide adénine  
dinucléotide phosphate
- NO•** : Monoxyde d'azote
- NO<sub>2</sub>•** : Dioxyde de Nitrogène
- O<sub>3</sub>** : Ozone
- OH•** : Radical hydroxyle
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- PKC** : Protéine Kinase C
- RL** : Radical libre
- ROO•** : Radical peroxy
- RO•** : Radical alkoxy

**ROOH** : Hydroperoxyde organique

**SLA** : Sclérose Latérale Amyotrophique

**SOD** : Superoxydes dimustases

**TCA** : Acide Trichloracétique

**UV-VIS** : Ultra-violet - Visible

**XOR** : Xanthine oxydoréductase

**Zn** : zinc

# Table des matières

Introduction .....	1
Partie 1 : Synthèse bibliographique.....	3
1. Plantes Médicinales.....	4
1.1. Définition .....	4
1.2. Plantes aromatiques.....	4
1.3. Définition des métabolites.....	4
1.3.1 Métabolites primaires.....	4
1. 3.2. Métabolites secondaires .....	5
2. Présentation de La plante étudiée <i>Pelargonium graveolens</i> .....	5
2.1. Historique ( <i>Géranium Rosat</i> ).....	5
3. Présentation de la famille des Géraniacées (Geraniaceae).....	5
3.1. Géranium rosat ( <i>Pelargonium graveolens</i> ).....	6
3.1.1. Généralités.....	6
3.1.2. Description botanique .....	6
3.1.3. Nomenclature .....	7
3.1.4. Classification.....	7
3.1.5. Conditions climatiques.....	7
3.1.6. Période de culture.....	7
3.1.7. Composition chimique de l'extrait de <i>P. Graveolens</i> .....	8
3.1.8. Répartition géographique .....	8
4. Utilisations thérapeutiques de <i>P. Graveolens</i> .....	9
5. L'utilisation traditionnelle de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	10
7. Activités biologiques.....	11
7. 1. Activité antioxydante .....	11
8. Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i> .....	11

9. Travaux récents sur <i>Pelargonium graveolens</i> .....	12
Chapitre 2 : Le stress oxydatif.....	14
1. Stress oxydatif.....	15
2. Les radicaux libres .....	16
3. Origine des radicaux libres.....	17
4.Cibles des radicaux libres.....	17
5. Pathologies liées au stress oxydant .....	17
6. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	18
7. Conséquences du stress oxydant et ses cibles biologiques .....	19
8. Les antioxydants.....	20
8.1. Antioxydants enzymatiques .....	20
8.2. Antioxydants non enzymatiques .....	20
8.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes .....	20
8.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes .....	21
9.Les vitamines.....	21
9.1. La vitamine E (tocophérols).....	21
9.2 La vitamine C (l'acide ascorbique) .....	21
9.3. $\beta$ -carotène .....	22
9.4. Polyphénols .....	22
10. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	23
11. Comment lutter contre le stress oxydant ? .....	23
12. Stress oxydatif et implication pathologiques des ERO .....	24
1. Les défenses antioxydantes .....	25
CHAPITRE 03 : Partie expérimentale .....	26
Matériel et méthodes .....	27
1. Objectif.....	28
2. Matériel végétal.....	28

3. Préparation des extraits .....	28
3.1. Préparation de l'extrait macéré (macération à froide).....	28
3.2. Préparation de l'extrait décocté (par décoction) .....	29
3.3. Préparation de l'extrait infusion (par infusion).....	29
4. Calcul du rendement.....	30
5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	30
5.1. Réduction du fer (FRP) .....	30
5.2. Piégeage du radical de DPPH.....	31
Résultats et discussion.....	33
1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait .....	34
2. Evaluation de l'activité antioxydante .....	34
2.1. Réduction de fer FRP .....	34
2.1.1. Effet de l'extrait infusé.....	34
2.1.2. Effet de l'extrait macéré .....	35
2.1.3. Effet de l'extrait décocté .....	36
2.1.4. Effet de l'acide ascorbique .....	36
2.2. Piégeage du radical de DPPH.....	39
2.2.1. Effet de l'extrait infusé.....	39
2.2.2. Effet de l'extrait macéré .....	39
2.2.3. Effet de l'extrait décocté .....	39
2.2.4. Effet de l'acide ascorbique .....	40
Conclusion.....	43
Références bibliographiques .....	46
Références .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

# **Introduction**

Depuis des temps immémoriaux, les plantes médicinales ont été utilisées par l'Homme pour leurs propriétés thérapeutiques. Elles ont joué un rôle essentiel dans les systèmes de santé traditionnels à travers le monde et continuent d'être largement utilisées de nos jours. Les extraits de plantes médicinales ont trouvé des applications dans divers domaines tels que la médecine, la cosmétique, la chimie, l'agroalimentaire et l'industrie (**Rhattas et al., 2015**).

Ces dernières années, les recherches se sont intensifiées pour explorer les plantes médicinales en vue d'obtenir des extraits de haute qualité. Ces extraits sont recherchés en raison de leur teneur en antioxydants et de leurs propriétés antimicrobiennes. Les plantes médicinales offrent un réservoir précieux de composés bioactifs qui peuvent contribuer à notre bien-être et à notre santé (**Sompaga et al., 2016**).

Dans cette étude, nous nous intéresserons à une plante médicinale spécifique, à savoir le *Pelargonium graveolens*, également connue sous le nom de *geranium rosat*. Originaire d'Afrique du Sud, cette plante aromatique de la famille des Géraniacées est cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales, y compris en Algérie (**Janin, 2006**).

Le *Pelargonium graveolens* est utilisé depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter des affections telles que les hémorroïdes, les inflammations et même le cancer. Il est également prisé dans les industries de la parfumerie et de la cosmétique en raison de son parfum agréable et de ses propriétés bénéfiques pour la peau (**Saraswathi et al., 2011**).

Notre objectif dans cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante des feuilles de *Pelargonium graveolens* en préparant trois extraits différents (par macération, décoction et infusion) et en utilisant la méthode FRP (pouvoir réducteur ferrique) et la méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) pour mesurer cette activité. Plus précisément, nous nous concentrerons sur les spécimens de *Pelargonium graveolens* provenant de la région de Tlemcen, commune d'Ain Fezza, en Algérie.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-Chimie : Synthèse et Activité Biologique, Faculté SNV-STU.

# **Partie 1 : Synthèse bibliographique**

## 1. Plantes Médicinales

### 1.1. Définition

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Elles ont des propriétés biologiques différentes que l'homme peut utiliser à son avantage (**Francesca González et al., 2019**).

Elles ont été largement utilisées dans les pratiques médicales depuis les temps anciens. Les plantes médicinales se sont avérées être le principal remède du système de médecine traditionnelle grâce à leurs constituants chimiques actifs présents dans différentes parties de ces plantes qui sont appelés « les métabolites secondaires ». L'utilisation des plantes médicinales non seulement pour le traitement des maladies mais aussi comme un matériel potentiel pour maintenir une bonne santé et de bonnes conditions. (**Oladeji, 2016**).

### 1.2. Plantes aromatiques

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, elles constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Benyagoub et al., 2014**).

### 1.3. Définition des métabolites

Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules qui ont issues du métabolisme des végétaux, elles sont les produits intermédiaires du métabolisme qui possèdent des diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes (**Pradeepa et al., 2016**). Il y a deux catégories de métabolite :

#### 1.3.1 Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des composés organiques synthétisés dans les plantes directement impliquées dans la croissance et le développement de la plante (**Pradeepa et al., 2016**).

### 1. 3.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes au cours du développement, ils sont spécifiques au temps, aux tissus et aux organes (**Pradeepa et al., 2016**).

Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents, selon les espèces. Ils jouent non seulement un rôle dans la défense contre les herbivores, et des autres défenses interspécifiques, ils sont utilisés également par l'homme dans plusieurs domaines pharmaceutiques, agrochimiques et alimentaires (**Jamwal et al., 2017**).

### 2. Présentation de La plante étudiée *Pelargonium graveolens*

#### 2.1. Historique (*Géranium Rosat*)

Au 18<sup>ème</sup> siècle, les géraniums, également appelés *pelargoniums*, étaient originaires d'Afrique du Sud et sont devenus très populaires. Il jouit d'un statut quasi-royal dans ses parcs de résidence royale en Angleterre, en France, en Italie et en Allemagne. Mais au XX<sup>e</sup> siècle, les plantes à grandes fleurs étaient privilégiées et les géraniums ont depuis vécu une vie ombragée. Aujourd'hui, la principale zone de production d'huile essentielle de géranium est le géranium du Cap de Bonne-Espérance en Afrique du Sud. L'huile essentielle de géranium la plus célèbre "l'huile de bourbon" est produite ici.



**Figure 1:** *Pelargonium graveolens*

### 3. Présentation

#### la famille des Géraniacées (*Geraniaceae*)

La famille des *Geraniaceae* (communément appelées Géraniacées) est une famille de plantes dicotylédones vraies qui comprennent 5–7 genres et 650–800 espèces (**Simpson, 2010**).

de

Cette famille est constituée d'arbustes, parfois à tiges lignées ( **Kubitzki, 2007**). Les genres *Géranium* et *Pelargonium* sont classés dans la famille des Geraniaceae et possèdent un fruit allongé similaire, composé de 5 méricarpes, chacun contenant une seule graine (**Miller, 2002**).

<b>Règne :</b>	Plantae (Plantes)
<b>Sous-règne :</b>	Tracheobionta (Trachéophytes)
<b>Super division :</b>	Spermatophyta (plantes à graines)
<b>Division :</b>	Magnoliophyta (ou angiospermes), plantes à fleurs
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida (ou dicotylédones)
<b>Sous-classe :</b>	Rosidae
<b>Ordre :</b>	Geraniales
<b>Famille :</b>	<i>Geraniaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Pelargonium</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Pelargonium graveolens</i> ( <b>ElOuardiet al., 2017</b> )

**Tableau 1:** Classification du *Pelargonium graveolens* (**Ghedira et Goetz, 2015**)

### 3.1. *Géranium rosat (Pelargonium graveolens)*

#### 3.1.1. Généralités

Le *Pelargonium graveolens* est une plante aromatique médicinale vivace. Elle porte différents noms dont les plus connus sont: geranium roset (nom à l'île de la Réunion), *Géranium odorant*, *Pelargonium x asperum* Ehrh. Ex Willd (nom scientifique) (**JANIN, 2006**). Son nom «PELARGONIUM» vient du grec «Pélagos» qui signifie cigogne, à cause de la forme de son fruit qui ressemble au bec des cigognes droit et pointu (**Miller, 2002**). La plante est originaire de l'Afrique du Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales. Elle est introduite en Algérie au 19<sup>ème</sup> siècle (**Boukhatem et al, 2010**).

D'après (**Boukhatem et al, 2011**), le *Pelargonium graveolens* est cultivé en Algérie, principalement dans la plaine de Mitidja, dans les jardins et dans les cimetières.

#### 3.1.2. Description botanique

Le terme de latin scientifique *Géranium* est dérivé du grec geranion/ qui vient de geranos « grue », en raison des fruits allongés comme le bec des grues. *Pelargonium* vient de « pelargos » qui signifie cigogne, en raison d'un fruit en forme de bec de cigogne (**Ghedira et Goetz, 2015**). Le genre *Pelargonium* comprend environ 270 espèces distinctes (**Miller, 2002**). Le *géranium rosat* est un arbrisseau très ramifié ligneux qui se présente en grosse touffe arrondie et peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur et 1 m de diamètres au niveau de la cime (**Ghedira et Goetz, 2015**).

### 3.1.3. Nomenclature

Le *P. graveolens* porte différents noms dont les plus connus sont : *géranium rosat* (nom à l'île de la Réunion), géranium odorant, pélargonium x asperum, *Pelargonium roseum* Willd...etc. (Miller, 2002).

- ❖ **Nom scientifique** : *Pelargonium graveolens*
- ❖ **Nom commun** : Géranium rosat
- ❖ **Nom local** : laàtarchya (ElOuadiet al., 2017).
- ❖ **Anglais** : Sweet-scented geranium, scented pelargonium, rose geranium
- ❖ **Arab** : حشيشة العطر, عطر الورود, العطرشية (Ghedira et Goetz, 2015).

### 3.1.4. Classification

Classification classique du *P. graveolens* (Ghedira et Goetz, 2015).

- **Règne** : Plantae (Plantes)
- **Sous-règne** : Tracheobionta (Trachéophytes)
- **Super division** : Spermatophyta (plantes à graines)
- **Division** : Magnoliophyta (ou angiospermes), plantes à fleurs
- **Classe** : Magnoliopsida (ou dicotylédones)
- **Sous-classe** : Rosidae
- **Ordre** : Geraniales
- **Famille** : Geraniaceae
- **Genre** : *Pelargonium*
- **Espèce** : *Pelargonium graveolens*

### 3.1.5. Conditions climatiques

Les conditions climatiques ont une forte influence sur le développement du *Pelargonium graveolens*, qui demande un climat chaud, sec, sans vent nuisible. La température doit rester supérieure ou égale à 35°C. Les faibles gelées sont à craindre d'autant que les plantes soient plus jeunes (Peyron, 2013).

### 3.1.6. Période de culture

*P. graveolens* est multiplié par bouturage, soit au printemps, ou en fin d'été. La récolte des feuilles et des tiges se fait à partir de 6 mois puis tous les 3 mois. La coupe se fait manuellement ou mécaniquement à 15–20 cm au-dessus du sol (Ghedira et Goetz, 2015).

### 3.1.7. Composition chimique de l'extrait de *P. Graveolens*

Il existe plusieurs variétés d'origines différentes qui se distinguent par la teneur en constituants chimiques de leurs huiles essentielles et leurs extraits (**Ghedira et Goetz, 2015**). Les études sur les espèces de *P. graveolent* se sont concentrées sur la composition chimique des huiles essentielles. Les trichomes des feuilles de *Pelargonium* contiennent d'autres composés chimiques, notamment des flavonoïdes (**Boukhris et al., 2012**). Les compositions chimiques des extraits du *P. graveolens* est représentée dans le **Tableau 02**

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

**Tableau 2** : Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans *P. graveolens* par la technique d'HPLC-SM (**Boukhris et al., 2012**).

### 3.1.8. Répartition géographique

#### ❖ En Algérie



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

L'introduction de *Pelargonium graveolens* en Algérie remonte au 19<sup>ème</sup> siècle (**Boukhatem et al, 2010**) aux années 1850, les premiers plants végétaux proviennent de France. Des essais ont d'abord été entrepris à Cheraga, dans la Wilaya d'Alger et donnèrent tout de suite des résultats

encourageants (**Ghedira et Goetz, 2015**). A cette époque, le prix des essences était fort élevé. L'essence de *Geranium* se vendait à 250 francs le kilogramme (**Boukhris et al., 2012**). En 1880 A. Chiris fonde à Blida et Boufarik, de très grandes plantations et une usine (à Boufarik) sous la direction de Gros et Monk (**Ghedira et Goetz, 2015**). Les cultures se développèrent un peu partout en Algérie (1964ha rien qu'à Alger) jusqu'au jour où de nouvelles découvertes scientifiques permirent de fabriquer artificiellement et à des prix extrêmement bas tous les parfums (**Ghedira et Goetz, 2015**). Par suite de cette nouvelle concurrence, le prix de l'essence de *Géranium* était descendu en 1908 à 18 francs le kilogramme (**Ghedira et Goetz, 2015**). A ce moment, une crise se fit sentir et de nombreuses plantations furent abandonnées. Cependant, une dizaine d'années plus tard il n'en était plus de même ; il a été constaté que les essences artificielles ne pouvaient pas remplacer les essences naturelles et la grande vogue est revenue aux produits naturels. (**Ghedira et Goetz, 2015**). Les cours atteints par l'essence de *Géranium* rosat valaient 300 francs à cette époque (**Ghedira et Goetz, 2015**). Dans les années 1960, beaucoup de ces plantations ont été abandonnées suite à la guerre de l'indépendance. Néanmoins, la région de Blida est restée et jusqu'à ce jour, un site résiduel de production de *Pelargonium graveolens*. On retrouve également cette plante dans les jardins, les balcons et les cimetières (**Boukhris et al, 2012 ; Boukhatem et al, 2011**).

#### 4. Utilisations thérapeutiques de *P. Graveolens*

*Le geranium* végétal est utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle en raison de ses nombreuses propriétés curatives. Par exemple, il est utilisé pour Traiter les plaies et les brûlures superficielles, utiliser en massage pour les fatigues extrêmes ou la pression et le soulagement des hémorroïdes, de la dysenterie, de l'inflammation et cancer. Il est également utilisé dans les parfums, les cosmétiques et Aromathérapie. Les extraits de cette plante présentent des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et des effets acaricides. C'est donc une source potentielle d'ingrédients actifs pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique **1**. Selon (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**), les aspects thérapeutiques précieux de *Pelargonium graveolens* sont principalement liés à l'existence des constituants volatils, de terpénoïdes et de flavonoids.

**El Ouadi et al, 2017** ont trouvé que la fraction acétate d'éthyle et la fraction éther diéthylique de l'extrait aqueux de *Pelargonium graveolens* présentent une bonne activité antioxydante à une concentration de 2 µg / ml, jusqu'à 53% et 51,84% respectivement.

### 5. L'utilisation traditionnelle de *Pelargonium graveolens*

Seules quelques-unes des quelque 230 espèces/espèces de ce genre abondant fonctionnent comme plante médicinale. Il s'agit notamment de *Pelargonium reniforme*, *P. sidoides*, *P. triste* et bien J'ai entendu parler du *géranium graveolens*. En usage interne, la plante est utilisée pour les nausées, l'inflammation des amygdales et Faible circulation.

L'huile essentielle de géranium contenue dans la crème a un effet booster de graisse Sur la peau, inhibe les infections fongiques et guérit l'eczéma. L'huile essentielle de géranium est Il est également utilisé comme traitement d'appoint de la dépression et des déséquilibres hormonaux. Les huiles essentielles extraites de *P. graveolens* sont des ingrédients importants dans les produits de soins de la peau et le parfum, également utilisé avec succès en aromathérapie. Ses feuilles sont présentées en sachets et peuvent également être utilisées comme appareil d'aromathérapie. ( 2 )

#### ❖ Utilisation dans la cuisine

C'est incroyable de voir combien de façons le feuillage et les fleurs souvent délicats de cette plante peuvent être utilisés dans la cuisine. Les fleurs fraîches pour garnir une salade ajoutent non seulement de la couleur mais aussi du goût. Les feuilles hachées peuvent Pour sauces, tartes et pour la confection de confitures et sirops. Mais les biscuits, les gâteaux et les pains peuvent également être aromatisés avec différents arômes géranium. Les feuilles parfumées et les fleurs délicates de la plante sont bien sûr également très appropriées pour décorer une table de fête, des bouquets floraux de fleurs fraîches et des arômes enchanteurs font un merveilleux cadeau très personnel.

Nom de la plante (famille)	Partie récoltée	Usage Traditionnel	Activité Pharmacologique
<i>Pélargonium graveolens</i>	Aérienne	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acné, brûlure, eczéma, plaie, saignement de nez.</li> <li>• Mycoses cutanées, gynécologiques.</li> <li>• Rhumatismes, arthrites, tendinites.</li> <li>• Epistaxis, coupures sanguinolentes.</li> <li>• Hémorroïdes, couperose, phlébite.</li> <li>• Stress, asthénie profonde, anxiété.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antibactérienne efficace</li> <li>• Fongicide puissante</li> <li>• Hémostatique remarquable</li> <li>• Antalgique</li> <li>• Anti-inflammatoire</li> <li>• Tonique astringente cutanée.</li> <li>• Antihémorragique</li> <li>• Analgésique, antiseptique</li> <li>• Antidiabétique</li> </ul>

**Tableau 3:** Importance pharmacologique et utilisation traditionnelle du Pélargonium graveolens (BedierJean François., 2012)

## 6. 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 *geranium*. Les symptômes observés n'étaient pas graves, mentionnés Érythème associé à un œdème et à certaines composantes vésiculaires (Agrup et al ,1969 ; Tsyrcunov et al., 1989).

## 7. Activités biologiques

### 7. 1. Activité antioxydante

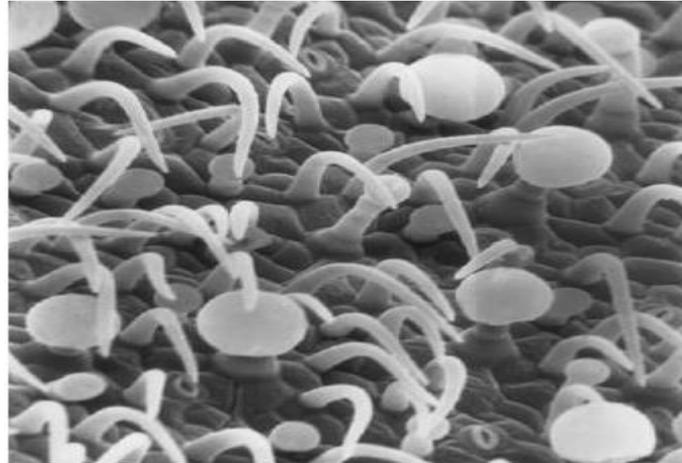
Stress oxydant, Radicaux libres, espèces réactives d'oxygène (ERO) et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels et même pour tout le monde (Favier, 2003).

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques, dans diverses spécialités, ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés, à partir de plusieurs substances naturelles, à savoir les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.<sup>3</sup>

## 8. Huile essentielle de Pelargonium graveolens

L'huile de *geranium* « Geranium oil » commerciale est en fait obtenue par hydro distillation des feuilles de plusieurs espèces de *Pelargonium*, à savoir *Pelargonium graveolens*,

*Pelargonium capitatum* et *Pelargonium radula* (Williams et Harborne, 2002). L'huile essentielle des feuilles de *Pelargonium* sont généralement situées dans les trichomes glandulaires des deux côtés de la feuille (figure 03). Elle joue, avec d'autres composés, un rôle très important dans la protection de cette plante contre les attaques herbivores ou microbiennes dans l'environnement naturel (Williams et Harborne, 2002).



**Figure 3:** Les trichomes glandulaires et non glandulaires de *Pelargonium graveolens* (Lis-Balchin, 2002).

La composition chimique des huiles de *Pelargonium* est variée selon les cultivars utilisés, le climat (y compris la lumière du soleil, les précipitations et la température), le moment de la récolte, les engrais appliqués, etc (Lis-Balchin, 2002). Ce pendant, les composants majeurs sont: Citronellol, géraniol et linalol (Williams et Harborne, 2002; Ben Hsouna et Hamdi, 2012; Džamić et al, 2014; Atilia et Djahoudi, 2015).

### 9. Travaux récents sur *Pelargonium graveolens*

A.M. Džamić et al. ont étudié la composition chimique, l'activité antifongique et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*.

Le profil de cette l'huile essentielle a été déterminé par chromatographie gazeuse et chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Les principaux composés sont le citronellol (24,54%), le géraniol (15,33%), le formiate de citronellyle (10,66%) et le linalol (9,80%).

Les résultats de cette étude montrent que l'huile essentielle possède une bonne activité antifongique avec des concentrations minimales fongicides allant de 0,25 à 2,5 mg/ml (Asgarpanah et Ramezanloo, 2015)

Les champignons les plus résistants sont *Mucor mucedo* et *Aspergillus*.

L'huile essentielle possède une activité antioxydante dose -dépendante.

Les auteurs ont conclu que les propriétés de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*. Justifient son utilisation contre de nombreux problèmes de santé et valident son exploitation commerciale dans de nombreuses branches de l'industrie.

**M. Boukhris et al.** Ont étudié les caractéristiques biologiques et anatomiques de *Pelargonium graveolens* cultivé dans le Sud de la Tunisie.

Ils ont rapporté que *Pelargonium graveolens* fait partie des plantes les plus cultivées dans les jardins tunisiens comme espèces ornementales.

Mais même s'il est bien connu pour ses arômes et son huile essentielle aux vertus exceptionnelles, il est encore inconnu à l'échelle de ses caractéristiques biologiques et anatomiques (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

# **Chapitre 2 :**

# **Le stress oxydatif**

### 1. Stress oxydatif

#### ➤ Définition

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles (**Pincemail *et al.*, 1999**).

Le stress oxydatif est une fonction de l'organisme qui Tant qu'il ne dépasse pas une certaine limite, c'est normal. En fait, tous les organismes petites substances qui consomment de l'oxygène pour produire des radicaux libres produits chimiques hautement oxydés par exposition à l'oxygène et normalement connus de nos cellules agréables de s'en débarrasser. Lorsque la cellule est soit débordé par le nombre de radicaux libres à éliminer, ou n'ayant pas les moyens des antioxydants (vitamines, oligo-éléments, enzymes) suffisants pour les éliminer.



**Figure 4:** le stress oxydatif (ghilaine charrade)

<https://www.slideshare.net/ghilainecharrade/le-stress-oxydatif-un-assassin-silencieux>

Le stress oxydatif fut défini par **Favier (2003)**, comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants.



Figure 5: stress oxydant et défenses antioxydant en biologie

<https://www.slideshare.net/ghilainecharrade/le-stress-oxydatif-un-assassin-silencieux>

## 2. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

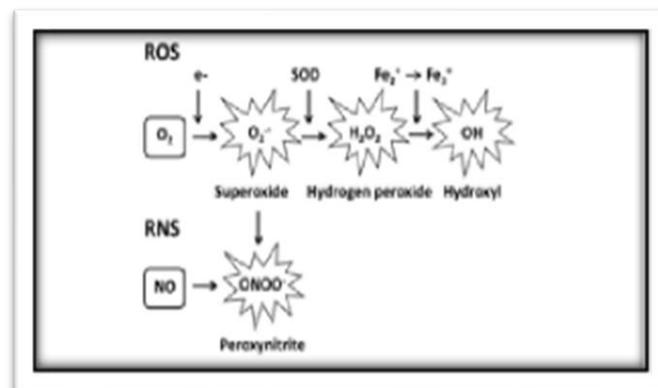


Figure 6: Formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et nitrogène (RNS) (Codoner-Franch et al., 2011).

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ), et aussi certains

dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le peroxy-nitrite (ONOO<sup>-</sup>).

### 3. Origine des radicaux libres

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- Toutefois, au contact entre l'oxygène et certain électron du système de la respiration, une production d'anions superoxyde se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Favier, 2003**).
- Les mécanismes d'inflammatoires et l'activation des cellules immunitaires, l'ischémie, le stress de l'activité mentale. L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents exogènes capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres, Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Adwas et al., 2019**).
- La consommation d'alcool, tabagisme, de certaines drogues, les métaux lourdes, est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également de certains médicaments (cyclosporine), des radiations, et des certains solvants comme le benzène (**Adwas et al., 2019**).
- D'autres systèmes sont capables de produire les ROS, citons par exemple : les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leucotriènes, et prostaglandines (**Katerji et al., 2019**).

### 4. Cibles des radicaux libres

Les ROS peuvent également endommager de manière irréversible des cibles macromoléculaires essentielles telles que l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides (**Adwas et al., 2019**).

### 5. Pathologies liées au stress oxydant

Au cours des dernières années, des recherches considérables ont démontrés que le stress oxydatif est impliqué dans le processus naturel du vieillissement ainsi que dans une grande variété de maladies humaines, y compris les troubles neurodégénératifs, sclérose en plaques, maladies cardio-vasculaires, polyarthrite rhumatoïde, cancer, diabète, athérosclérose, les maladies d'Alzheimer, maladie de parkinson, l'asthme et l'état de mal épileptique.

## 6. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Ce groupe représente la classe importante des RL dans les systèmes vivants (Seifried et al., 2007), ils comprennent l'O<sub>2</sub> •- , OH • et certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires tels que l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le ONOO (Bartosz, 2003 ; Halliwell et Whiteman., 2004).

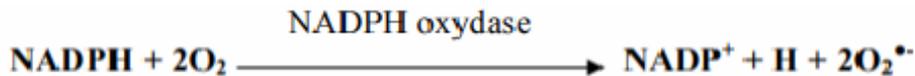
Différentes formes des ERO

### □ Radical superoxyde (O<sub>2</sub> •- )

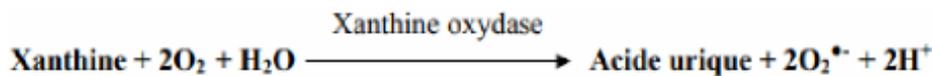
C'est un radical qui possède deux électrons non appariés, heureusement un blocage cinétique limite sa réactivité. Cependant, dans l'organisme, une partie de cet O<sub>2</sub> peut capter d'une manière univalente un électron conduisant à la production de l'O<sub>2</sub> •- (Koechlin-Ramonatxo, 2006



Au niveau du complexe I (NADH /ubiquinone oxydoréductase) et du complexe III (ubiquinol /cytochrome coxydoréduction), la chaîne de transport d'électrons mitochondrial est représentée comme la source de ce radical (Bartosz, 2003 ; Chiarugi et Fiaschi., 2007).

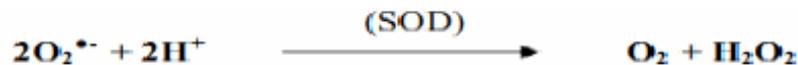


Le système enzymatique xanthine/xanthine oxydase intervient aussi dans la production du superoxyde au cours de l'oxydation de la xanthine en acide urique selon la réaction suivante :



### □ Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> .)

Appelé aussi dioxyde, dihydrogène ou bien l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), il se forme par la dismutation spontanée ou enzymatique de l'O<sub>2</sub>•-(Pal Yu., 1994), cette réaction est catalysée principalement par le Superoxyde Dismutase (SOD).

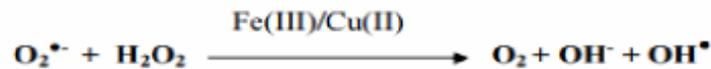


### Radical hydroxyle (OH • )

Le radical hydroxyle (OH • ) est produit par la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de métaux de transition sous leur forme réduite, ainsi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associé au fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>) conduit à la réaction de Fenton.



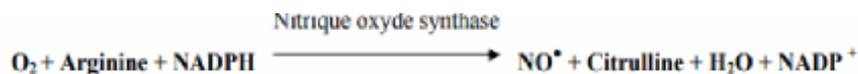
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut interagir avec l'O<sub>2</sub> •- pour former l'OH • , selon la réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004).



Il existe d'autres voies de la production de l'OH • parmi les ; la décomposition de l'acide peroxonitrique (ONOO - ) et la réaction de l'acide hypochloreux (HOCl) avec O2 •- (**Bartosz, 2003**).

- **Monoxyde d'azote**

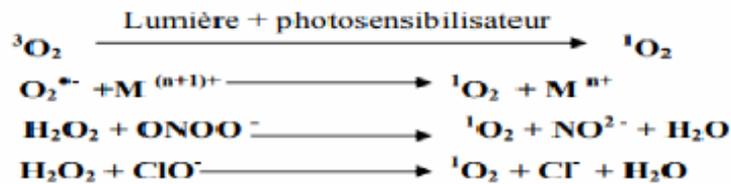
Le monoxyde d'azote (NO • ) est produit chez les organismes supérieurs par l'oxydation de l'un des atomes N terminaux de l'arginine, cette réaction est catalysée par la NOS (**Sorg, 2004**).



A forte concentration, le NO devient délétère pour les cellules en réagissant avec le O2 •- pour former un puissant oxydant le ONOO • qui peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants comme le NO 2 et le OH • (**Densiov et Afanas'ev, 2005**).

**Oxygène singulier ( 1 O2)**

Il fait partie des ERO. Il peut être formé par plusieurs voies d'oxydation incluant des enzymes telle que la peroxydase et la lipooxygénase (**Sorg, 2004**). Ce type d'O2 est plutôt faible et non toxique pour les tissus des mammifères.



- **Peroxynitrite (OONO - )**

Une interaction entre le NO • et l'O2 •- conduit à la formation du peroxynitrite selon la réaction suivante :



L'OONO - possédant une forte cytotoxicité, il cause surtout les lésions tissulaires, l'oxydation des Lipoprotéines a faible densité (LDL) (**Halliwell, 1997**), des protéines et des bases d'ADN (**McVean et al., 1999**). Son rôle comme oxydant biologique provient de sa grande capacité de diffusion à travers les membranes cellulaires (**Knight, 1999**).

**7. Conséquences du stress oxydant et ses cibles biologiques**

Les RL constituent des espèces hautement dangereuses, leur apparition provoque des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les principales cibles biologiques sont les

lipides membranaires et l'ADN (Halliwell et Whiteman., 2004 ; Valko et al., 2006) et de manière moins importante les protéines et les glucides (Lenzi, 2011) (Figure07).

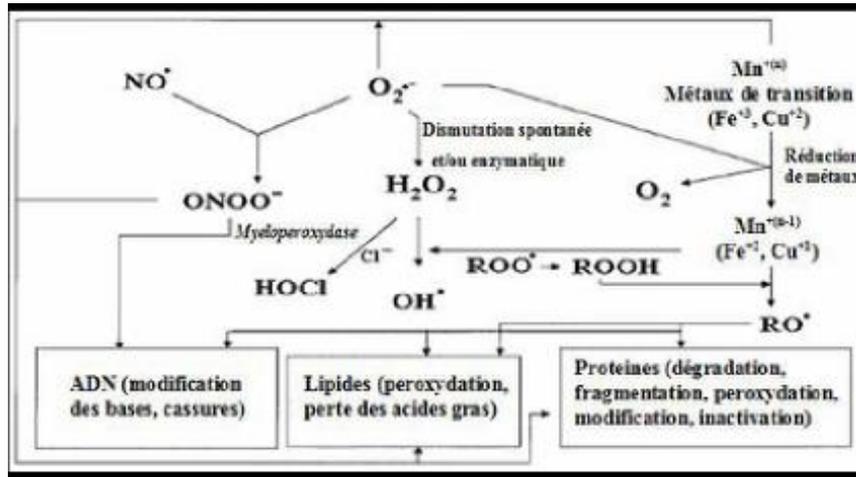


Figure 7: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Kohen et Nyska., 2002)

## 8. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).

### 8.1. Antioxydants enzymatiques

Ce sont des enzymes qui agissent directement dans le piégeage des ROS, elles élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Ces enzymes présentent SOD (superoxyde dismutase), CAT (catalase) et GPx (glutathion peroxydase) (Sharifi-Rad et al., 2020).

### 8.2. Antioxydants non enzymatiques

Certaines molécules chimiques de faible poids moléculaire peuvent également agir directement comme antioxydants. Dans ce cas, leur action n'est pas catalytique, nécessitent toujours une régénération antioxydant ou son apport par l'alimentation. Les antioxydants non enzymatiques peuvent donc être divisés en endogènes (si la cellule eucaryote est capable de le synthétiser) et exogène (si l'antioxydant doit être obligatoirement ingéré par l'alimentation) (Sharifi-Rad et al., 2020).

#### 8.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ils existent de nombreux réducteurs endogènes (synthétisés dans les cellules) participant à la protection de l'organisme contre les ROS, les plus importants étant le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoïque (Sharifi-Rad et al., 2020).

### 8.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Les antioxydants exogènes doivent être complétés en permanence par l'alimentation, car leurs voies de synthèse ne sont généralement présentées que dans les microbiennes ou végétales. (Sharifi-Rad et al., 2020).

## 9. Les vitamines

### 9.1. La vitamine E (tocophérols)

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocols par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' $\alpha$ - et le  $\gamma$ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ( $\text{ROO}\cdot$ ) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' $\alpha$ -tocophérol est le plus abondant, il semble que le  $\gamma$ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau. Les apports journaliers d' $\alpha$ -tocophérol sont de l'ordre de 10 mg : il se retrouve en quantité variable dans les huiles (soja, maïs, olive) et dans les noix et noisettes. Le  $\gamma$ -tocophérol est présent essentiellement dans l'huile de sésame.

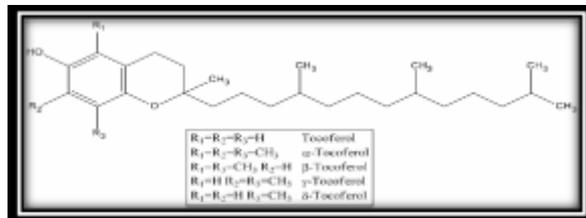
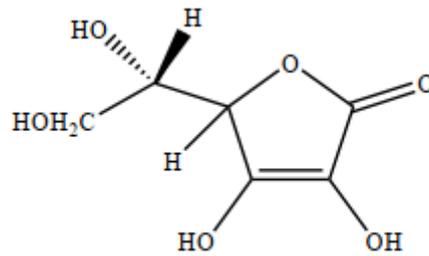


Figure 8: : Structure chimique du tocophérol (Amra, 2020).

### 9.2 La vitamine C (l'acide ascorbique)

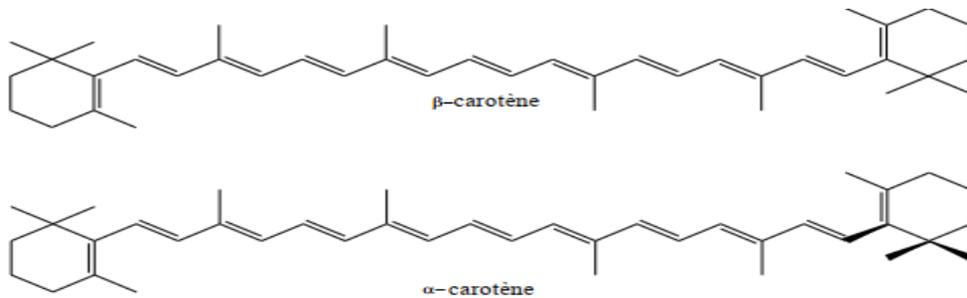
La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). 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



**Figure 9 :** Structure chimique de l'acide ascorbique (Ravetti et al., 2019).

### 9.3. $\beta$ -carotène

Le  $\beta$ -carotène (figure 11), précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation. Elle fixe les radicaux peroxydes  $ROO\cdot$  en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical (radical stable), ou sera régénéré en vitamine A (Shankaranarayanan et al., 2018).

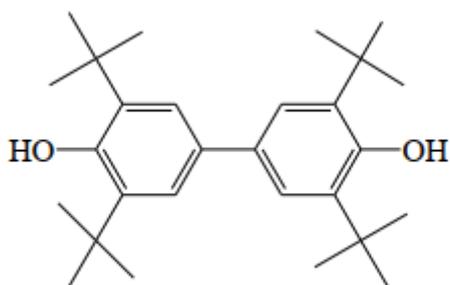


**Figure 10:** Deux exemples des structures des caroténoïdes (Shankaranarayanan et al., 2018).

### 9.4. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Vu leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (Haida et Hakimian, 2019).

Parmi les polyphénols de synthèse, on peut citer à titre d'exemple : la 3,3',5,5'-Tetra-*t*-butyl-biphenyl-4,4'-diol (figure 12) qui a montré un effet protecteur des cellules neuronales.



**Figure 11:** Structure chimique d'un polyphénol de synthèse.

(3,3',5,5'-Tetra-t-butyl-biphenyl-4,4'-diol)

### 10. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Plusieurs méthodes sont utilisées pour déterminer l'activité antioxydante *in vitro* parmi

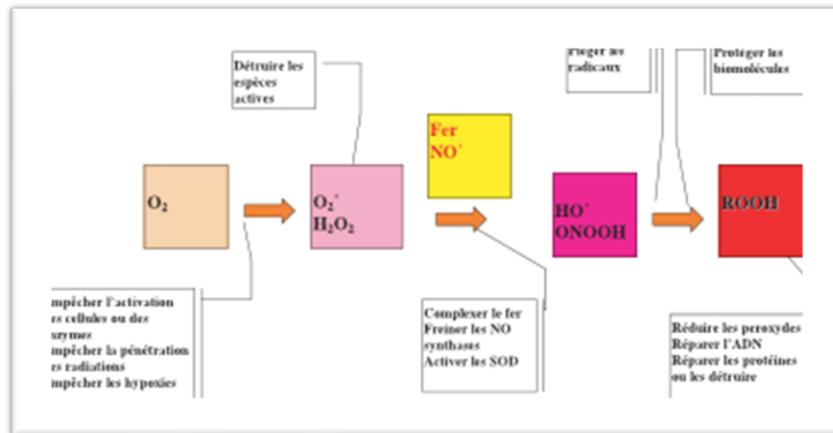
Lesquelles, on cite (**Katerji et al., 2019**).

- ✓ La méthode de l'ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity).
- ✓ Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•).
- ✓ Test de blanchiment de  $\beta$ -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique.
- ✓ La méthode FRP (Capacités réductrices ferriques).
- ✓ La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate)).
- ✓ La méthode TRAP (Potentiel antioxydant piégeant total des radicaux) (**Katerji et al., 2019**).

### 11. Comment lutter contre le stress oxydant ?

Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à le supprimer. Toutefois, il faut bien se garder d'être « simpliste » sur un sujet aussi complexe et ambigu. Tout d'abord, le stress oxydant est souvent à l'origine des premières anomalies responsables de modifications irréversibles de molécules et de cellules, et ces anomalies se produisent plusieurs années avant l'apparition des signes de la maladie qui sont irréversibles. Ainsi dans une maladie auto-immune, les antioxydants ne pourront inverser le phénomène lorsque les lignées de lymphocytes auront été sélectionnées et activées, même si les radicaux libres ont participé à modifier les protéines cellulaires plusieurs années auparavant, pour les rendre antigéniques. On peut envisager sous le titre d'« antioxydants » au sens large, l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène[14]. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces

espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion [15]



**Figure 12:** Stratégie de conception de systèmes antioxydants susceptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction.

## 12. Stress oxydatif et implication pathologiques des ERO

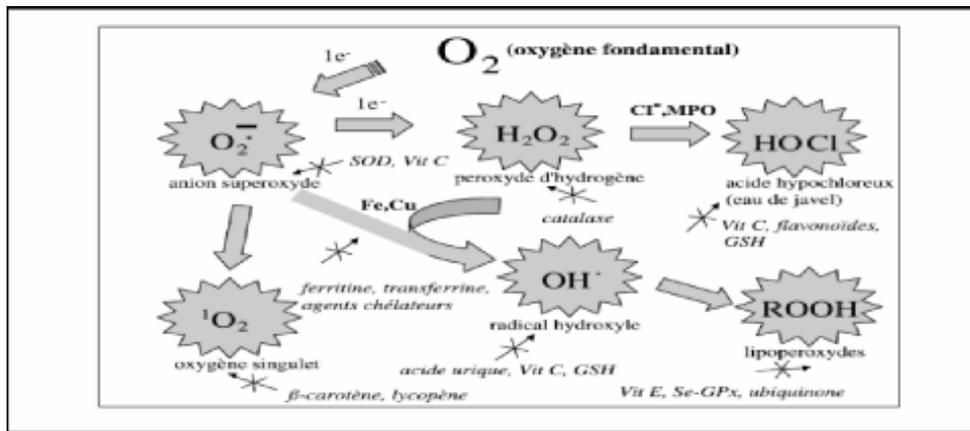
Le stress oxydant est apparu en cas d'un excès des ERO qui peuvent s'accumuler à cause de différentes situations pathologiques (Noctor et Foyer., 1998). En effet, la production des ERO joue un rôle dans la pathogénèse l'Alzheimer, l'épilepsie, l'ischémie cérébrale (Figure 14), et même le vieillissement du cerveau en soi (Martinez-Cayuela, 1995 ; Lehucher-Michel et al., 2001 ; Sorg, 2004 ; Valko et al., 2007)



**Figure 13:** Pathologies associées aux espèces réactives (Pham-Huy et al., 2008)

### 1. Les défenses antioxydantes

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (**Figure 15**). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion) peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes.



**Figure 14:** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydantes (Pincemil et al., 2002)

# **CHAPITRE 03 :**

## **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

## 1. Objectif

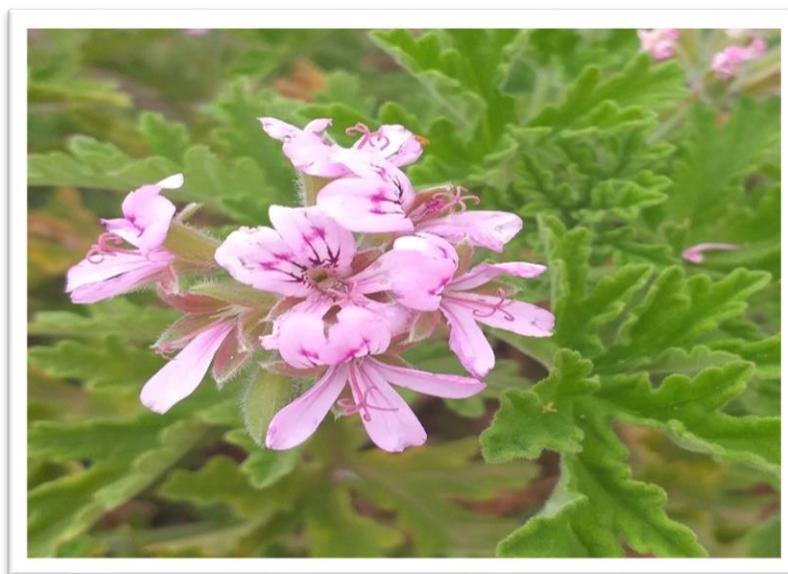
L'objectif de notre étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pelargonium graveolens*, en utilisant le test de réduction du fer (FRP) et le test de 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH).

L'étude a été réalisée au niveau de *Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-Chimie : Synthèse et Activité Biologique*

- **Etape 1** : préparation des extraits à partir de la partie aérienne (feuille) de *Pelargonium graveolens*
- **Etape 2** : évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par la méthode de « Ferric Reducing Power (FRP) et le test de 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH).

## 2. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (feuilles) de *pelargonium graveolens*, une plante de la famille des Géraniacée, qui a été récoltée au mois d'avril 2023 à la willaya de Tlemcen, commune d'Ain Fezza. (**Figure16**)



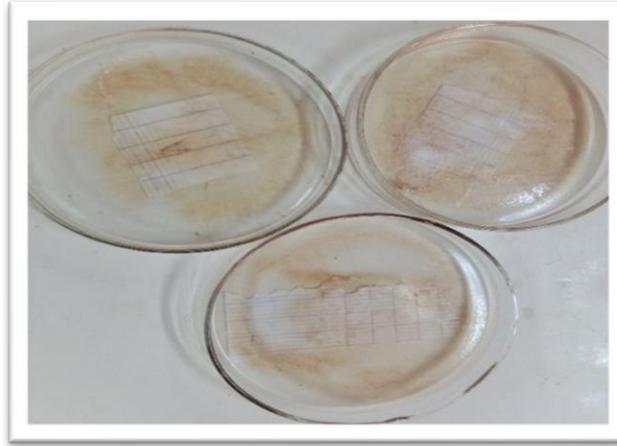
**Figure 15:** Photographie personnelle de la plante (**feuilles**)

## 3. Préparation des extraits

### 3.1. Préparation de l'extrait macéré (macération à froide)

- ❖ 10g de matière végétale Fraiche sont mélangés avec 100ml de solvant (eau distillée).
- ❖ Le mélange repose pendant 30 min (Extraction par macération)
- ❖ Filtration.

- ❖ Séchage à l'étuve à 50°C pendant 48h.
- ❖ Récupération de produit.



**Figure 16 :** Aspect des deux extraits obtenus après le séchage

### 3.2. Préparation de l'extrait décocté (par décoction)

- ❖ 10g de matière végétale fraîche sont mélangés avec 100ml de solvant (eau-distillée)
- ❖ Décoction pendant 30 min
- ❖ Evaporation à sec sous reflux
- ❖ Filtration à l'aide du papier filtre
- ❖ Récupération des extraits bruts



**Figure 17:** Extraction par décoction

### 3.3. Préparation de l'extrait infusion (par infusion)

Les mêmes étapes suivies pour l'extraction macération sont refaites pour préparer l'extrait infusion en remplaçant l'eau distillée froid par l'eau distillée préchauffée.

#### 4. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage est déterminé par le rapport entre la masse de l'extrait sec après évaporation du solvant sur la masse sèche de l'échantillon végétal en gramme, selon la formule suivante :

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

- ✓ **R** : Rendement exprimé en %.
- ✓ **M2** : la masse de la boîte pétrie après séchage (contient l'extrait) en gramme.
- ✓ **M1** : la masse de la boîte pétrie vide en gramme. **P** : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai)

#### 5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

La capacité antioxydante des deux extraits étudiés a été testée dans cette étude par les techniques FRP et DPPH.

##### 5.1. Réduction du fer (FRP)

###### . 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 ( $Fe^{2+}$ ). 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**).



###### Solutions à préparer

Solution tampon phosphate 0,2M ; pH =6,6.

Solution de ferricyanure de potassium  $K^3Fe(CN)_6$  6 à1%.

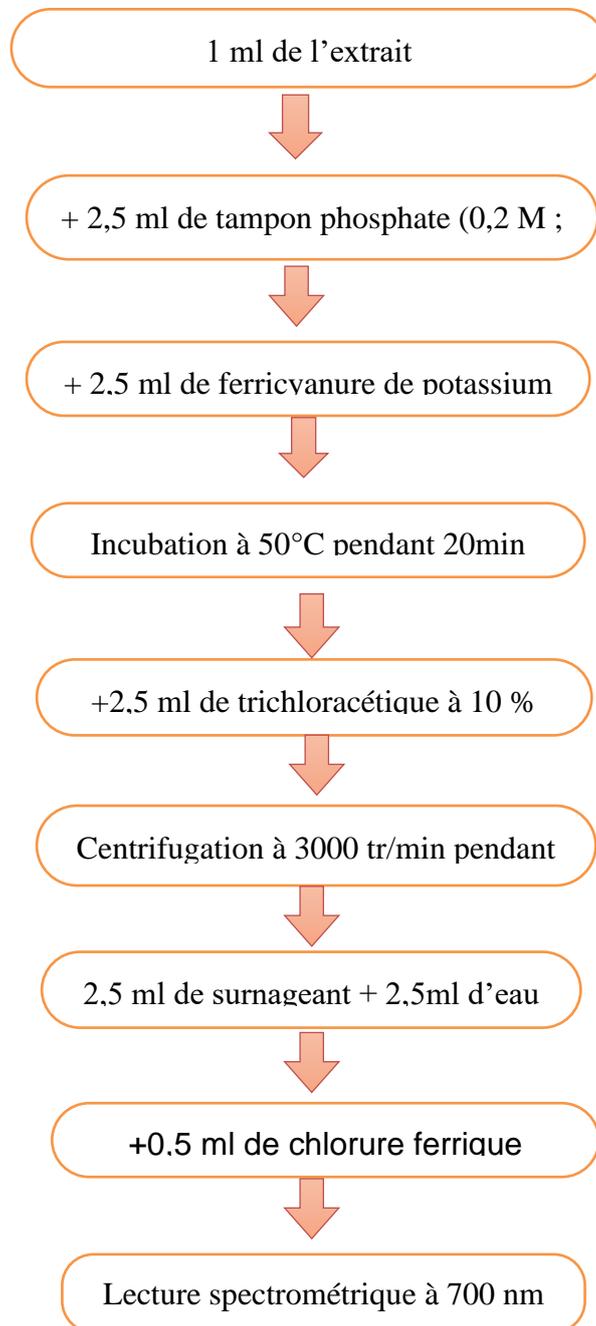
Solution de l'acide trichloracétique TCA à10%.

Solution aqueuse de chlorure ferrique  $FeCl_3$  à 0,1%

###### Mode opératoire

1ml de l'extrait à différentes concentrations 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.

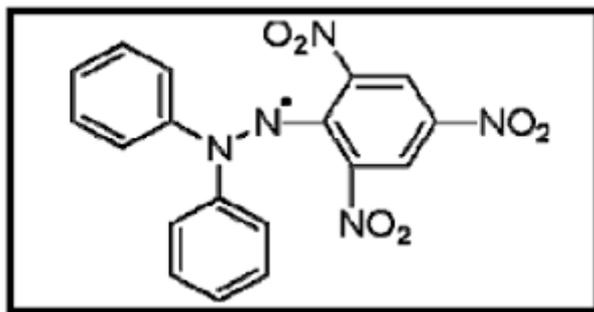


**Figure 18:** Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Pelargonium graveolens*

## 5.2. Piégeage du radical de DPPH

### + Principe

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une réaction de réduction entre le DPPH• et les antioxydants, mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (Ilona Saykova 2009)



**Figure 19:** Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhényle-1-Picryl-Hydrazyle).

#### ✚ Préparation de DPPH

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

#### ✚ Mode opératoire

1ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH et on a fait la dilution. La réaction est incubée pendant 30 min. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc contenant le méthanol. Le contrôle négatif est préparé en parallèle à partir de 1ml de méthanol avec 1ml de solution de DPPH.

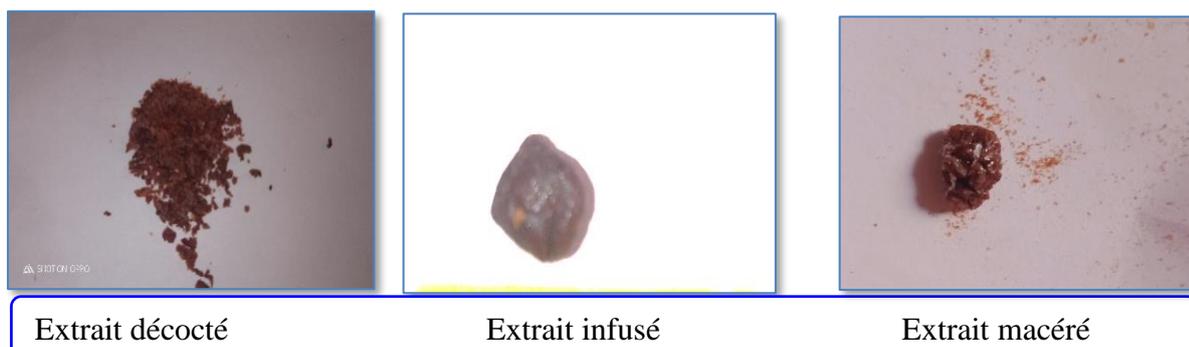
# **Résultats et discussion**

### 1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait

Les trois extraits obtenus par macération, décoction et infusion possèdent des caractéristiques différentes. Les résultats obtenus montrent que les trois extraits possèdent une couleur marronne et sont récupérés sous forme de poudre cristallisée ou pate avec des rendements variables. L'extrait macéré récupéré a donné un rendement égal à  $2,96 \pm 0,82\%$  et le deuxième extrait décoté  $7,24 \pm 2,41\%$  alors que le troisième extrait infusé est récupéré à  $1,28 \pm 0,51\%$ . Le rendement d'extraction dépend du solvant et la température utilisée pour l'extraction.

**Tableau 4:** Aspects des différents extraits préparés

Caractéristique	Aspect	couleur	Solubilité dans l'eau
Extrait macéré	Pate	Marron	Semi-soluble
Extrait décoté	Poudre cristallisée	Marron	Soluble
Extrait infusé	Pate	Marron	Semi -soluble



**Figure 20:** Photographie qui montre les extraits obtenus par les méthodes macération, infusion, décoction

### 2. Evaluation de l'activité antioxydante

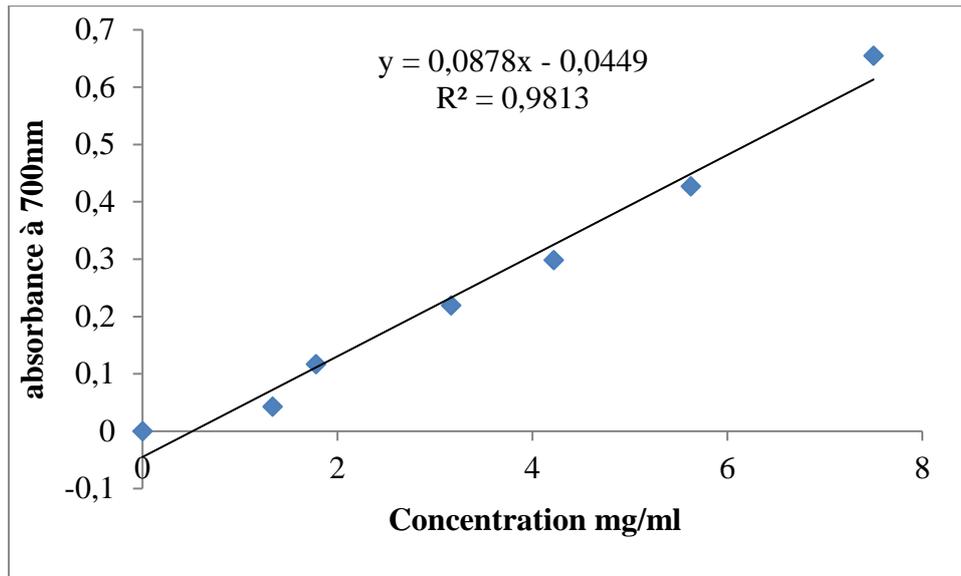
L'activité antioxydante des extraits de *Pelargonium graveolens* a été évaluée par la méthode de réduction de fer FRP (Ferric reducing power) et piégeage du radical de DPPH.

#### 2.1. Réduction de fer FRP

##### 2.1.1. Effet de l'extrait infusé

Résultats de la capacité de l'extrait infusé à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) et ferreux ( $Fe^{2+}$ ) en fonction de la concentration sont présentés à la **Figure 22**.

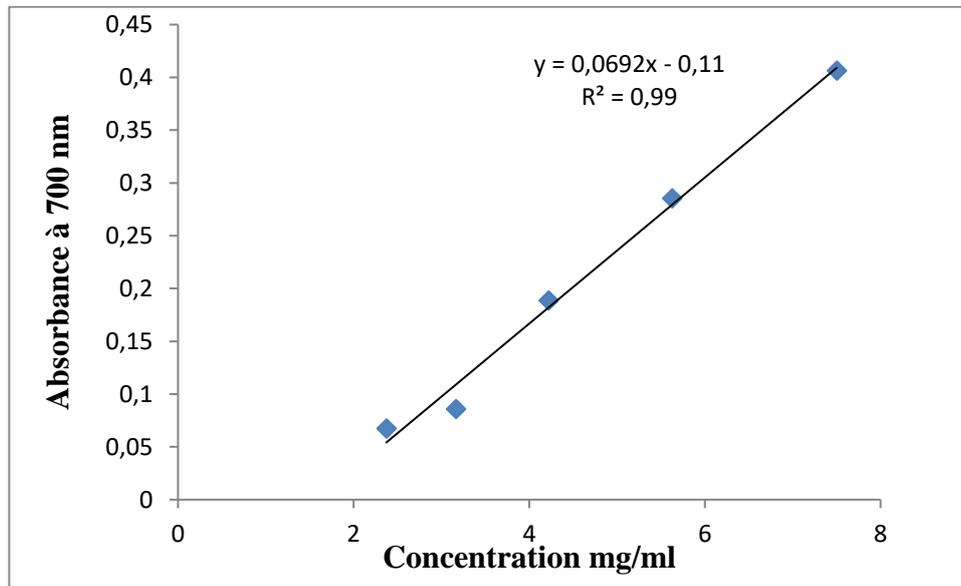
Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur Extraits testés. La figure 22 montre la variation de l'absorbance en fonction des concentrations de l'extrait infusé.



**Figure 21 :** Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait infusé des feuilles de *Pelargonium graveolens*.

### 2.1.2. Effet de l'extrait macéré

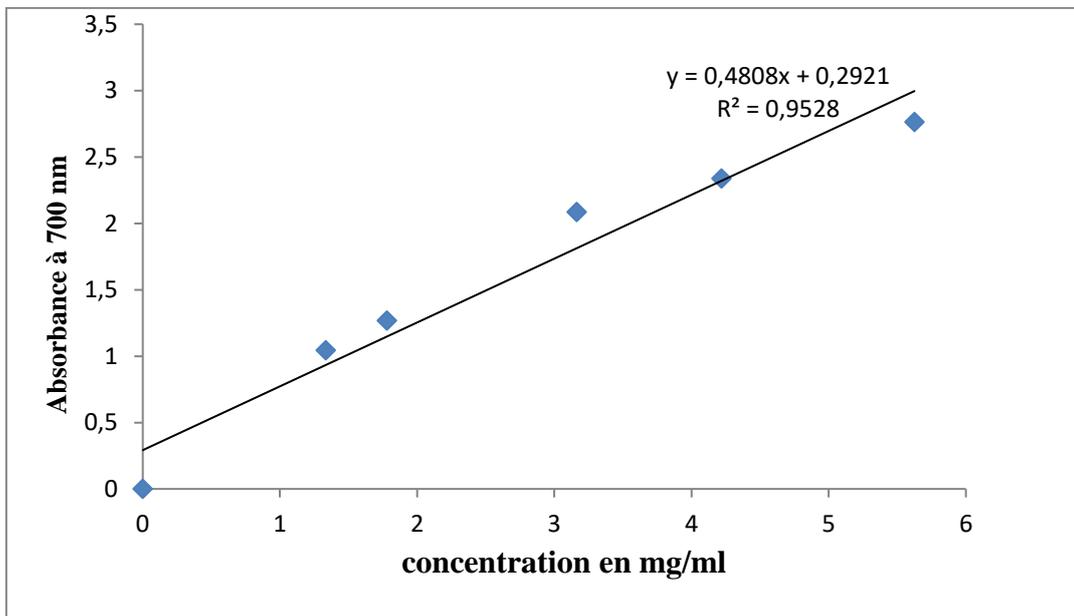
Les résultats obtenus à partir de la capacité de l'extrait macéré à réduire le fer sont illustré sur la figure 23.



**Figure 22:** Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait macéré des feuilles de *Pelargonium graveolens*.

### 2.1.3. Effet de l'extrait décocté

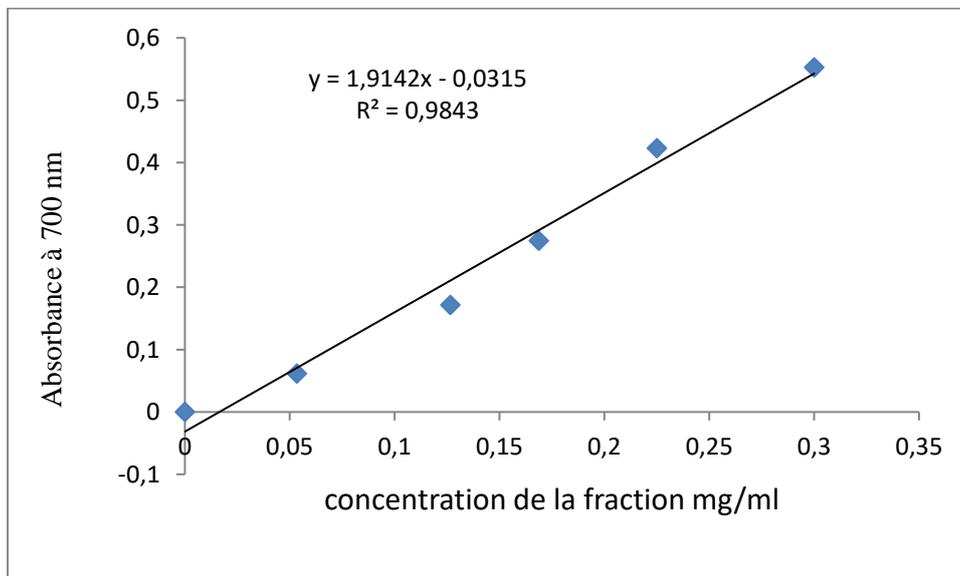
Le décocté montre un pouvoir réducteur très intéressant. Les valeurs d'absorbances varient en fonction des concentrations de l'extrait et sont mentionnées sur la figure 24.



**Figure 23:** Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait décocté de la feuille de *Pelargonium graveolens*

### 2.1.4. Effet de l'acide ascorbique

Les résultats obtenus avec l'acide ascorbique sur la réduction de fer sont indiqués sur la Figure 25.



**Figure 24 :** Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique

D'après les figures précédentes, nous remarquons que le pouvoir réducteur du fer des trois extraits et du standard (acide ascorbique) augmente avec l'augmentation de la concentration. Les valeurs d'EC<sub>50</sub> sont montrées dans le tableau suivant (**Tableau 05**)

	Extrait infusé	Extrait macéré	Extrait décocté	Acide ascorbique
EC <sub>50</sub> (Mg/ml)	1,01	2,08	0,56	0,27

**Tableau 06:** Valeur des EC<sub>50</sub> en mg/ml des trois extraits de *Pelargonium graveolens* et de l'acide ascorbique

L'EC<sub>50</sub> est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. L'étude de l'activité réductrice du fer a montré que l'acide ascorbique a EC<sub>50</sub> la plus faible (0,27 mg/ml), suivi par l'extrait décocté (0,56 mg/ml), et l'extrait infusé (1,01). La valeur d'EC<sub>50</sub> de l'extrait macéré est de 2,08mg/ml.

Donc, nous pouvons déduire que l'extrait décocté montre un pouvoir réducteur meilleur que les autres extraits.

o **Discussion**

D'après les extraits obtenus à partir des différentes méthodes d'extraction (macération, décoction, infusion), il est observé que ces extraits présentent des caractéristiques différentes. Les principaux résultats montrent que les trois extraits ont une couleur marronne et sont obtenus sous forme de poudre cristallisée ou pâte, avec des rendements variables. Le décocté présente le rendement le plus élevé.

Ces variations de rendement d'extraction peuvent être attribuées aux différences dans le solvant utilisé et leurs températures respectives pendant le processus d'extraction. Différents solvants et températures peuvent avoir un impact sur l'efficacité d'extraction et la quantité d'ingrédients actifs récupérés à partir de la matière première.

La méthode FRP a été utilisée pour démontrer l'activité antioxydante des trois extraits (macéré, décocté et infusé). 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 contrôle positifs dans cette méthode) (**Habibou et al., 2019**).

L'EC<sub>50</sub> est une mesure de l'activité antioxydante d'une substance, où une valeur plus basse indique une plus grande capacité à réduire les espèces réactives de fer.

Selon les valeurs de l' $EC_{50}$  du test FRP, comparativement ; l'extrait décocté semble avoir la plus grande capacité antioxydante  $EC_{50} = 0,56$  mg/ml, suivi de l'extrait infusé  $EC_{50} = 1,01$  mg/ml et de l'extrait macéré  $EC_{50} = 2,08$  mg/ml. L'acide ascorbique  $EC_{50} = 0,27$  mg/ml, utilisé comme référence, présente la plus forte capacité antioxydante parmi toutes les substances testées.

En comparant ces résultats avec ceux de **Belaid (2022)** utilisant la même plante (*Pelargonium graveolens*) pour la même activité (activité antioxydante) et la même méthode (FRP) évaluée sur l'extrait eau-acétone macéré et ses fractions, aqueuse et butanolique, nous observons des tendances similaires ; La fraction aqueuse présente la plus forte activité antioxydante avec une valeur d' $EC_{50}$  de 0,446 mg/ml, suivie de près par la fraction butanolique avec une valeur d' $EC_{50}$  de 0,50 mg/ml. L'extrait eau-acétone présente une activité antioxydante légèrement inférieure avec une valeur  $EC_{50}$  de 0,485 mg/ml.

Il convient de noter que les différences dans les valeurs d' $EC_{50}$  peuvent être dues à divers facteurs, tels que les méthodes d'extraction, les conditions expérimentales et les spécificités de la plante étudiée. Les solvants utilisés peuvent également influencer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique lors de la méthode FRP.

**Larbi (2022)**, a réalisé un travail sur les extraits eau-acétone et eau-éthanol où le pouvoir réducteur de ces extraits par la technique de FRP a été évalué. L'extrait eau-acétone a une valeur d' $EC_{50}$  de 0,569 mg/ml. En comparant ces valeurs, nous pouvons remarquer que les résultats obtenus restent proches de ceux obtenus par **Larbi (2022)** et **Belaid (2022)**.

## 2.2. Piégeage du radical de DPPH

### 2.2.1. Effet de l'extrait infusé

Le pourcentage de réduction du DPPH varie en fonction de la concentration de l'extrait testé. La figure 26 illustre les résultats obtenus avec l'extrait infusé.

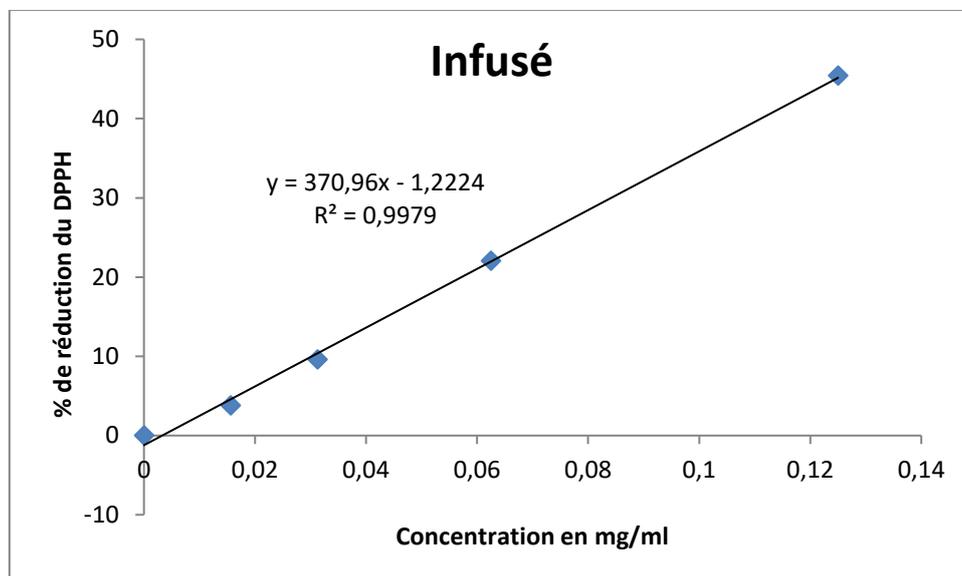


Figure 25: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait infusé de feuille de *Pélagonium graveolens*

### 2.2.2. Effet de l'extrait macéré

Le pouvoir antiradicalaire de l'extrait macéré est montré sur la figure 27.

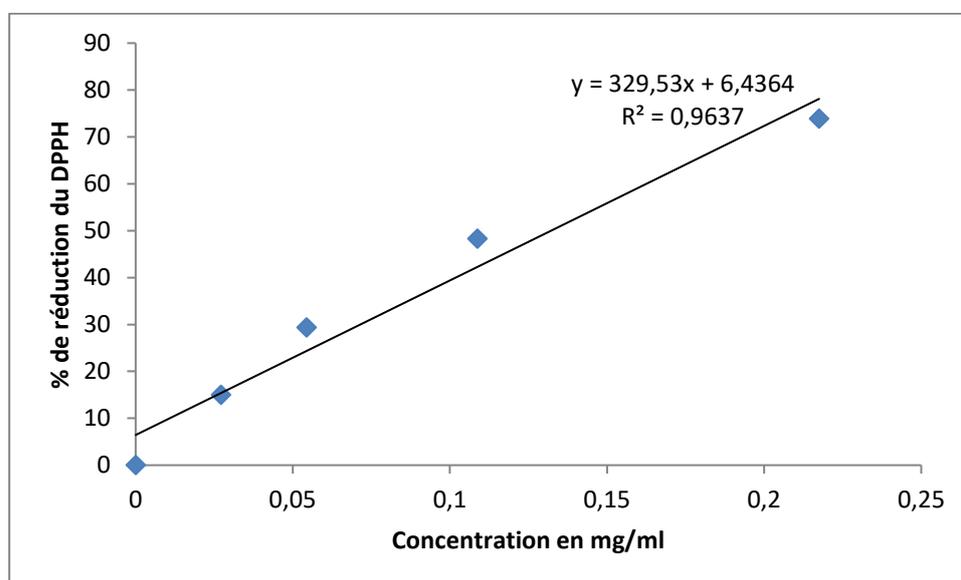
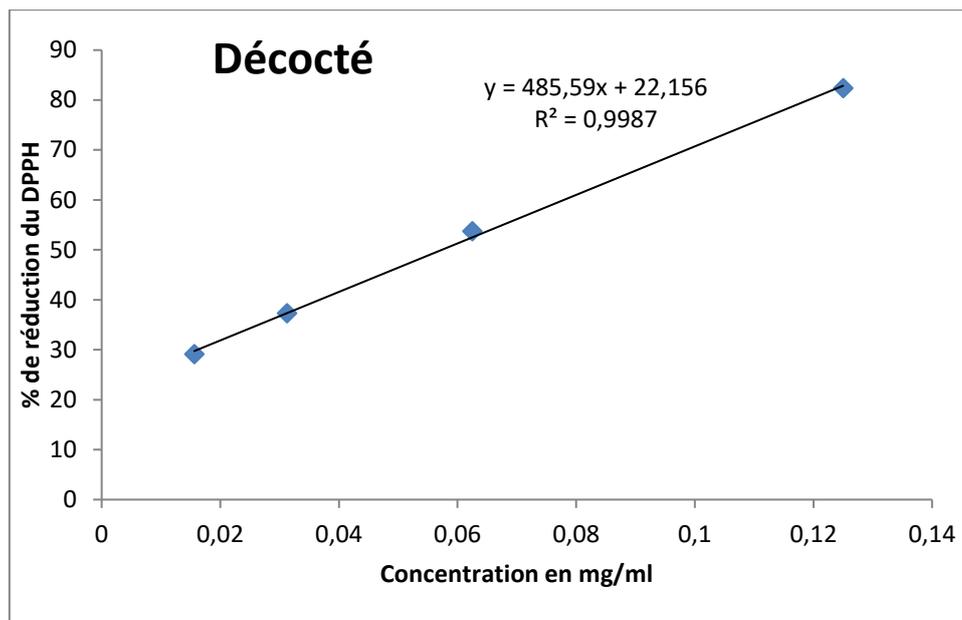


Figure 26: Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait macéré des feuilles de *Pélagonium graveolens*

### 2.2.3. Effet de l'extrait décocté

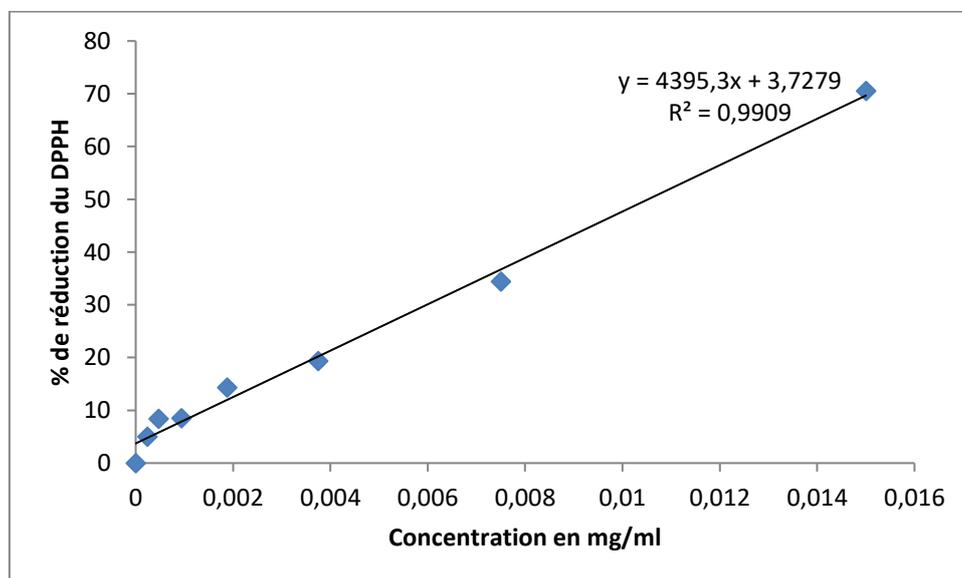
L'extrait décocté présente un pouvoir antiradicalaire très intéressant. La figure 28 montre les résultats obtenus avec le décocté.



**Figure 27 :** Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'extrait macéré des feuilles de *Pelargonium graveolens*

#### 2.2.4. Effet de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est une molécule de référence connue par son excellent pouvoir antioxydant. Elle réduit efficacement le DPPH ; les résultats sont illustrés sur la figure ci-dessous.



**Figure 28:** Représentation graphique du piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique des feuilles de *Pelargonium graveolens*

	Extrait infusé	Extrait décocté	Extrait macéré	L'acide ascorbique
IC50 (mg/ml)	1,138	0,057	0,132	0,01

**Tableau 7:** Valeur des IC50 en mg/ml des trois extraits de *Pelargonium graveolens* et de l'acide ascorbique

o **Discussion**

L'activité antioxydante des trois extraits (macéré, décocté, infusé) de *Pelargonium graveolens* a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical libre DPPH. Ce test est basé sur la réduction de ce radical (Majhenic L. et al., 2007).

L'IC50 est une mesure de l'activité antioxydante d'une substance, où une valeur plus basse indique une plus grande capacité à réduire les espèces réactives de l'oxygène.

Les résultats suggèrent que l'extrait décocté (IC<sub>50</sub> = 0,057 mg/ml) de *Pelargonium graveolens* présente la plus forte activité antioxydante, suivi de l'extrait macéré (IC<sub>50</sub> = 0,132 mg/ml) L'extrait infusé (IC<sub>50</sub> = 1,138 mg/ml) montre une activité antioxydante plus faible.

Ces résultats soulignent l'importance de l'extraction et de la formulation des extraits dans la recherche de composés antioxydants potentiellement bénéfiques pour la santé.

Selon Larbi (2022), les résultats sont les suivants : IC<sub>50</sub> pour l'extrait eau-acétone : 0,08mg/ml ; l'extrait eau-éthanol : 0,12mg/ml. L'analyse comparative des résultats montre que les valeurs IC<sub>50</sub> obtenues dans notre étude pour les différents extraits (macéré, décocté, infusé) des feuilles de *Pelargonium graveolens* sont plus faibles que les valeurs IC<sub>50</sub> de l'autre étude (extrait eau-acétone et l'extrait eau-éthanol). Ce qui montre que la méthode de décoction permet l'extraction des molécules antioxydantes contenues dans cette plante mieux que les autres techniques.

Ćavar & Maksimović (2012) ont évalué l'activité antioxydante des huiles essentielles et Hydrolat de Géranium (cultivé en Bosnie, récolté en août 2010). Le test de piégeage des radicaux libres DPPH a confirmé la capacité antioxydante de cette espèce. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> variaient de (0,19 ± 0,05 mg/ml) (tiges) à (0,39 ± 0,04 mg/ml) (feuilles) pour les hydrolats, et de (63,70 ± 1,56 mg/ml) (feuilles) à (64,88 ± 1,12 mg/ml) (tiges) pour les huiles essentielles. Ces valeurs sont comparables à celles du thymol (IC<sub>50</sub> = 1,90 ± 0,04 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. De plus, l'étude a observé que l'huile essentielle obtenue à partir des tiges présentait une activité antioxydante plus élevée que l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles.

Les informations données montrent que la plante étudiée est douée d'un pouvoir antioxydant intéressant. Ce dernier est confirmé par plusieurs travaux.

La présente étude reste préliminaire et mérite d'être reconduite dans l'avenir pour se rapprocher des molécules actives contenues dans les extraits étudiés.

# Conclusion

Cette étude visait à évaluer l'activité antioxydante de trois extraits des feuilles de *Pelargonium graveolens*, obtenus par macération, décoction et infusion, en utilisant les méthodes FRAP et DPPH. Les résultats obtenus ont montré des différences dans le pouvoir antioxydant entre les différents extraits et des rendements variables.

Les valeurs du rendement sont variables en fonction de la méthode d'extraction où nous avons enregistré  $2,96 \pm 0,82\%$  pour la macération,  $7,24 \pm 2,41\%$  pour la décoction et  $1,28 \pm 0,51\%$ , pour l'infusion.

Selon la méthode FRP, l'extrait décocté a présenté la plus grande activité antioxydante avec une valeur  $EC_{50}$  de 0,56 mg/ml suivi de près par l'extrait infusé avec une valeur d' $EC_{50}$  de 1,01 mg/ml. L'extrait macéré a montré une valeur d' $EC_{50}$  de 2,08 mg/ml. Comparativement, l'acide ascorbique, utilisé comme contrôle positif, a affiché une activité antioxydante plus élevée avec une valeur  $EC_{50}$  de 0,27 mg/ml.

En ce qui concerne la méthode DPPH, l'extrait décocté a montré la plus grande capacité de piégeage du radical libre, avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,057 mg/ml, suivi par l'extrait macéré avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,132 mg/ml, et l'extrait infusé a présenté la plus faible capacité de piégeage avec une valeur  $IC_{50}$  de 1,138 mg/ml. L'acide ascorbique, encore une fois utilisé comme contrôle positif, a affiché une capacité de piégeage du radical libre plus élevée avec une valeur d' $IC_{50}$  de 0,01 mg/ml.

Ces résultats suggèrent que l'extrait décocté de *Pelargonium graveolens* présente le plus fort pouvoir antioxydant parmi les trois extraits testés. Cet effet est montré sur la réduction de fer et aussi pour le piégeage du DPPH.

En conclusion, cette étude fournit des informations précieuses sur l'activité antioxydante de différents extraits des feuilles de *Pelargonium graveolens*. Les résultats suggèrent que cette plante pourrait être une source potentielle d'antioxydants naturels. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les composés spécifiques responsables de l'activité antioxydante et pour évaluer leur potentiel dans des applications thérapeutiques ou industrielles.

D'après les résultats obtenus plusieurs perspectives prouvent être proposés :

1. Choisir une autre méthode d'extraction : Il existe différentes méthodes d'extraction, telles que l'extraction par solvant, l'extraction par distillation, l'extraction par pression à froid etc.
2. Changer de solvant eau-distillée par l'hexane
3. Prendre en compte les considérations de sécurité et de toxicité.
4. Optimiser les conditions d'extraction : les paramètres tels que la température, le temps d'extraction, le rapport solvant/plante et le type d'agitateur peuvent affecter l'efficacité de l'extraction. Il est important de mener des essais préliminaires pour optimiser ces conditions et obtenir un rendement élevé en composés actifs.

# **Références bibliographiques**

1. (Saraswathi et al, 2011 ; Puglisi, M. J., Hasty, A. H., & Saraswathi, V. (2011). The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(2), 101-108.
2. Ben Hsouna et Hamdi, 2012; Hsouna, A. B., & Hamdi, N. (2012). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia. *Lipids in health and disease*, 11(1), 1-7.
3. Lis-Balchin, 2002; Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002). *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.
4. Asgarpanah et Ramezanloo, 2015, Asgarpanah, J., & Ramezanloo, F. (2015). An overview on phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L.
5. Boukhatem et al., 2010). Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.
6. (<http://www.egk.ch/>), EGK-Caisse de Santé | Connaissance des herbes, série de Brigitte Speck, Ursula & Christian Fotsch
7. Zohra, K. F., & Mariem, M. O. K. H. T. A. R. I. Valorisation de l'espèce *Salvia hispanica* L (Chia): Etude Théorique.
8. (Saraswathiet al, 2011 ; Nagasupriya, A., Dhanapal, R., Reena, K., Saraswathi, T. R., & Ramachandran, C. R. (2011). Patterns-“A crime solver”. *Journal of forensic dental sciences*, 3(1), 3.
9. B. Garait, « LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR VOIE METABOLIQUE (REGIMES ALIMENTAIRES) OU PAR VOIE GAZEUSE (HYPEROXIE) ET EFFET DE LA GLISODIN® », p. 197
10. Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.
11. Yoshikawa, T. (Ed.). (2000). *Free radicals in chemistry, biology and medicine*. Oica International.
12. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
13. Singh, E., & Devasahayam, G. (2020). Neurodegeneration by oxidative stress: a review on prospective use of small molecules for neuroprotection. *Molecular Biology Reports*, 47(4), 3133-3140.

14. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, *11*, 694.
15. Rev Med Liege 2007; 62 : 10 : 628-638 Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, *62*(10).
16. (Shankaranarayanan et al., 2018). Bhatla, N., Aoki, D., Sharma, D. N., & Sankaranarayanan, R. (2018). Cancer of the cervix uteri. *International journal of gynecology & obstetrics*, *143*, 22-36.
17. (Haida et Hakiman, 2019). Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food science & nutrition*, *7*(5), 1555-1563
18. Sies H., Antioxidant in disease mechanisms and therapy, *Advances in Pharmacology*, Academic Press, New York, 1997, 38 Halliwell, B. (1997). Antioxidants in disease mechanisms and therapy. *Adv. Pharmacol.*, *38*, 3-17.
19. actualité chimique - novembre-décembre 2003 113 .Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, *108*(10), 863-832.
20. (Pham-Huy et al., 2008). Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, *4*(2), 89
21. (Noctor et Foyer., 1998 ; Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, *49*(1), 249-279.
22. Willcox et al., 2004). Willcox, J. K., Ash, S. L., & Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, *44*(4), 275-295.
23. (Martinez-Cayuela, 1995 ; Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, *77*(3), 147-161
24. Lehucher-Michel et al., 2001 ; Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, *30*(21), 1076-1081.
25. Sorg, 2004 ; Valko et al., 2007) 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.
26. (Chekroun- Dounyazed ; BOUKLI HACÈNE -Hanane ,2021) mémoire de master
27. Brahim Belhaouari, N., & Boudergua, A. (2018). Brahim Belhaouari, N., & Boudergua, A. (2018). Etude cinétique de l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles du *Pelargonium Graveolens*.
28. Etude cinétique de l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles du *Pelargonium Graveolens*.
29. DERRADJ, S., & GHERBI, S. (2020). Caractérisation des extraits bruts de *Pelargonium graveolens* cultivé au Maader (région de Hodna, Algérie) (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
30. <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/19496/1/LARBI%20Khadidja.pdf>
31. Hassane, S. O. S., Ghanmi, M., Satrani, B., Mansouri, N., Mohamed, H., El Hajaji, H., & Chaouch, A. (2011). Composition chimique et activités antibactériennes, antifongiques et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* Ehrh. Ex Wilde des Comores. *Acta botanica gallica*, 158(2), 225-237.
32. Čavar & Maksimović (2012) . Čavar, S., Maksimović, M., Vidic, D., & Parić, A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial crops and products*, 37(1), 479-485.