

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE FERHAT ABBAS -SETIF-**

**MEMOIRE**

**Présenté par la faculté des sciences**

**Département de Biologie**

**Pour l'obtention du Diplôme de :**

**MAGISTER**

**Spécialité : Biochimie et Physiologie Expérimentales**

**Option : Effets Biologiques des Substances Naturelles**

**Par :**

**SELLAL Abdel Hakim**

**THEME :**

**Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits  
aqueux et éthanolique du gingembre**

**Sous la direction de :  
Dr. Senator A.**

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	<b>BOURICHE H. M.C</b>	Université Ferhat Abbas Sétif
<b>Encadreur :</b>	<b>SENATOR A. M.C</b>	Université Ferhat Abbas Sétif
<b>Examineur :</b>	<b>BAGHIANI A. M.C</b>	Université Ferhat Abbas Sétif
	<b>LAOUER H. M.C</b>	Université Ferhat Abbas Sétif

2008/2009

## *Remerciements*

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à mon promoteur le **Dr. A. Senator** qui n'a pas cessé de me diriger et de me transmettre tout son savoir jusqu'à la fin de ce travail.

Je remercie Madame le **Dr. H. Bouriche** d'avoir acceptée d'assurer la présidence du jury de ma thèse de magister.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à **Dr. A. Baghiani** pour son aide et d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie également **Dr. H. Laouer** d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je ne saurais remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail je cite spécialement **Belambri sakra amel** qui n'a laissée aucun effort pour venir à notre aide.

Je remercie mes collègues et mes amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.

# *Dédicaces*

Je dédie ce travail à mes chers parents spécialement ma mère qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

A ma sœur et a toute ma famille

## Résumé

Dans cette étude, les activités de l'extrait éthanolique et aqueux de rhizome du gingembre sont étudiés premièrement *in vivo* sur une inflammation aigue en utilisant la perméabilité vasculaire induite chez la souris par l'acide acétique et l'œdème de l'oreille induit aussi chez la souris par une application locale du xylène comme des modèles. L'administration orale de ces extraits à une dose de 400mg/kg, une heure avant l'induction de l'inflammation exerce un effet anti-inflammatoire hautement significatif ( $p \leq 0,01$ ) en comparaison avec le groupe témoin, considéré comme le 100% d'inflammaion. Deuxièmement, l'effet antioxydant de l'extrait éthanolique du gingembre est testé seul *in vitro* (l'étude de l'extrait aqueux est réalisée dans notre laboratoire dans des travaux précédents) en utilisant les testes du DPPH, de l'activité antioxydante totale, la chélation des métaux et le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Les résultats obtenus montrent que cet extrait possède une forte activité scavenger de radical DPPH et également une forte capacité d'inhiber la peroxydation lipidique dans les tests de l'activité antioxydante totale et de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Par contre, cet extrait n'a aucun effet sur la chélation des métaux.

**Mots clés :** Inflammation, oxydation, radicaux libres, gingembre.

## Summary

In the present study, the activities of ethanolic and aqueous extracts from ginger rhizome were evaluated firstly *in vivo* using acetic acid induced vascular permeability and xylene induced ear edema by topical application in mice as a models of acute inflammation. The oral administration of this extracts at dose of 400mg/kg, one hour before the induction of inflammation, showed a high significant ( $p \leq 0,01$ ) anti-inflammatory effect, compared to control group considered as 100% of inflammation. Secondly, the antioxidant effect of ethanolic extract was studied only *in vitro* (aqueous extract were studied in the priors works in our laboratory) using DPPH, total antioxidant activity, metal chelating and  $\beta$ -carotene/linoleic acid tests. Results obtained showed that this extract have a good scavenger effect towards DPPH radical and lipid peroxydation in total antioxidant activity and  $\beta$ -carotene/ linoleic acid tests. In Contrast, this extract hasn't metal chelating effect.

**Key words:** Inflammation, oxidation, free radicals, ginger.

## الملخص

في هذه الدراسة، تم أولاً اختبار نشاطية المستخلصين الإيثانولي و المائي لجذمور نبتة الزنجبيل حيويًا على الالتهاب الحاد باستعمال تقنيات النفاذية الوعائية المحدثة عند الفئران بواسطة حمض الخل (Acide acétique) و ذمة الأذن المحرصة أيضا عند الفئران بالتطبيق الموضعي للـ xylène كنماذج، إعطاء المستخلصين عن طريق الفم بجرعة 400 ملغ/كغ ساعة قبل تحريض الالتهاب أبدى تأثيرًا معنويًا عاليًا ضد الالتهاب ( $p \leq 0.01$ ) مقارنة مع مجموعة الشاهد، باعتبار نسبة حدوث الالتهاب فيها هو 100%. ثانياً تم دراسة النشاطية المضادة للأكسدة و التي اقتصرت على المستخلص الإيثانولي ( لأن المستخلص المائي تمت دراسته في أبحاث سابقة) باستعمال اختبارات DPPH، النشاطية الكلية المضادة للأكسدة، الفعل المخلي على المعادن و اختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. وبينت النتائج المحصل عليها أن هذا المستخلص يملك نشاطية عالية في إزاحة جذر DPPH كما يملك قدرة عالية على تثبيط أكسدة الليبيدات في اختباري النشاطية الكلية المضادة للأكسدة،  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. على العكس، هذا المستخلص لم يبدي أي تأثير في اختبار الفعل المخلي على المعادن.

**الكلمات المفاتيح:** الالتهاب، الأكسدة، الجذور الحرة، الزنجبيل.

# LISTE DES ABREVIATIONS

- ACO** : Aconitase
- BDNF** : Brain-Derived Neurotrophic Factor
- BHT** : Butylated Hydroxy Toluène
- CAT** : Catalase
- CGRP** : Peptide Relié au Gène de la Calcitonine
- CSF** : Colony Stimulating Factor
- DHOH** : Dihydroorotate déshydrogénase
- EDTA** : Ethylene Diamine Tetra acetic Acid
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- GDH** : Glycérophosphate déshydrogénase
- GM-CSF** : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
- GPx** : Glutathion peroxydase
- HETE** : Hydroxyeicosatetraenoic acid
- HLA** : Human Leukocyte Antigen
- HNE** : Hydroxynonéal
- IC50** : 50% inhibitory concentration
- ICAM** : Intercellular Adhesion Molecule
- Ils** : Interleukines
- KGDHC** : Kétoglutarate déshydrogénase
- LT** : Leucotriène
- MAO** : Monoamine oxydases
- MCP-1** : Monocyte Chemoattractant Protein-1
- M-CSF** : Macrophage Colony Stimulating Factor
- MDA** : Malonedialdéhyde
- NF- $\kappa$ B** : Nuclear Factor-kappa B
- NGF** : Nerve Growth Factor
- NK-1R** : Neurokinin-1 receptor
- NO** : Nitric oxide
- PAF** : Platelat Activating Factor
- PDGF** : Platelet-Derived Growth Factor
- PDHC** : Pyruvate déshydrogénase
- PGI** : Prostacyclin
- PKC** : Protéine Kinase C
- PMNs** : Polymorphonucléaires neutrophiles

**SDH** : Succinate déshydrogénase

**SH** : Sulfhydryle

**SNS** : Specific sodium channel

**SOD** : Superoxyde dismutase

**SP** : Substance P

**TGFβ** : Transforming Growth Factor β

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**TX** : Thromboxan

**VCAM** : Vascular Cell Adhesion Molecule

# LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

## FIGURES

**Figure 1.** Déroulement du processus inflammatoire (2).

**Figure 2.** Principales étapes de l'extravasation du PMN et de sa migration vers le site inflammatoire (4).

**Figure 3.** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (12).

**Figure 4.** Les sources de ROS dans la mitochondrie (15).

**Figure 5.** Composition moléculaire de la NADPH oxydase phagocytaire (17).

**Figure 6.** Elimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR (21).

**Figure 7.** Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes (23).

**Figure 8.** *Zingiber officinale* (26).

**Figure 9.** Structure chimique des composants non volatiles les plus répandus des oléorésines (28).

**Figure 10.** Perméabilité vasculaire induite chez la souris par injection intra péritonéale de l'acide acétique (38).

**Figure 11.** Œdème de l'oreille induit chez la souris par le xylène (40).

**Figure 12.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre sur l'oxydation du DPPH (42).

**Figure 13.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre sur la peroxydation lipidique (acide linoléique) (43).

**Figure 14.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre et de l'EDTA sur la chélation du fer (45).

**Figure 15.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre et du BHT sur la peroxydation lipidique (46).

## TABLEAUX

**Tableau 1.** Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire (7).

**Tableau 2.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire(9).

**Tableau 3.** Espèces réactives de l'oxygène (11).

**Tableau 4.** La classification botanique de *Zingiber officinale* (26).

**Tableau 5.** Les principaux pays producteurs du rhizome du gingembre (27).

**Tableau 6.** Composition chimique du rhizome du gingembre (29).

# SOMMAIRE

## Introduction

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>1. Inflammation</b> .....	1
1.1. Inflammation aiguë.....	1
1.1.1. La phase vasculaire.....	3
1.1.2. La phase cellulaire.....	3
1.1.2.1. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	5
1.1.3. La phase de réparation.....	7
1.2. Inflammation chronique.....	8
1.3. Médiateurs de l'inflammation.....	8
<b>2. Les radicaux libres</b> .....	11
2.1. Sources des radicaux libres.....	12
2.1.1 Sources exogènes.....	13
2.1.2. Sources endogènes.....	13
2.2. Dommages des radicaux libres.....	17
2.2.1. Dommages des lipides.....	17
2.2.2. Dommages des protéines.....	18
2.2.3. Dommages des acides nucléiques.....	18
<b>3. Les antioxydants</b> .....	19
3.1. Les antioxydants endogènes.....	19
3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	20
3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx).....	20
3.1.3. Catalase (CAT).....	20
3.2. Les antioxydants exogènes.....	21
3.2.1. Les flavonoides.....	21
3.2.2. La vitamine E.....	24
3.2.3. Les caroténoïdes.....	24
3.2.4. La vitamine C.....	24

3.2.5. L'acide alpha-lipoïque.....	25
<b>4. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....</b>	<b>26</b>
4.1. Description botanique.....	26
4.2. Production.....	27
4.3. Utilisation traditionnelle.....	27
4.4. Composition chimique.....	28
4.5. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	30

## **MATERIEL ET METHODES**

<b>1. Matériel.....</b>	<b>32</b>
1.1. Animaux.....	32
1.2. Matériel végétal.....	32
1.3. Produits chimiques.....	32
1.3.1. Solutions de travail.....	32
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>33</b>
2.1. Extraction.....	33
2.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique.....	33
2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	33
2.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	33
2.2.1. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.....	33
2.2.2. Oedème de l'oreille induit par le xylène.....	34
2.3. Activité anti-oxydante <i>in vitro</i> .....	35
2.3.1. Test du DPPH.....	35
2.3.2. Activité antioxydante totale.....	35
2.3.3. Chélation des métaux.....	36
2.3.4. Test $\beta$ -carotène/acide linoléique.....	36

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

### **Résultats**

<b>1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>.....</b>	<b>37</b>
1.1. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.....	37
1.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène.....	39

<b>2. Activité anti-oxydante <i>in vitro</i></b> .....	41
2.1. Test du DPPH.....	41
2.2. Activité antioxydante totale.....	43
2.3. Chélation des métaux.....	44
2.4. Test $\beta$ -carotène/acide linoléique.....	46
<b>Discussion</b>	
1. Action anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	47
2. Action anti-oxydante <i>in vitro</i> .....	50
<b>Conclusion générale</b> .....	53
<b>Références bibliographiques</b> .....	54

# Introduction

Un grand nombre de plantes médicinales, aromatiques, des épices et d'autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent leur application dans divers domaines en particulier en médecine.

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, telle que l'activité anti-inflammatoire et antioxydante est considérée comme très importante et très utile, en particulier pour les plantes, qui sont largement utilisées en médecine folklorique. Ces plantes représentent une large source de substances biologiquement actives. En effet, les principes actifs doués d'activités biologiques intéressantes font l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*.

Les traitements traditionnels à base de plantes ont été toujours utilisés sans savoir à quoi étaient dues leurs effets bénéfiques, mais actuellement plusieurs recherches à travers le monde se sont orientées vers la valorisation des substances biologiquement actives.

Le but de ce travail est d'explorer les activités anti-inflammatoire et anti-oxydante d'extraits bruts du rhizome du gingembre. Une plante très largement utilisée pour traiter certaines douleurs d'origine inflammatoire.

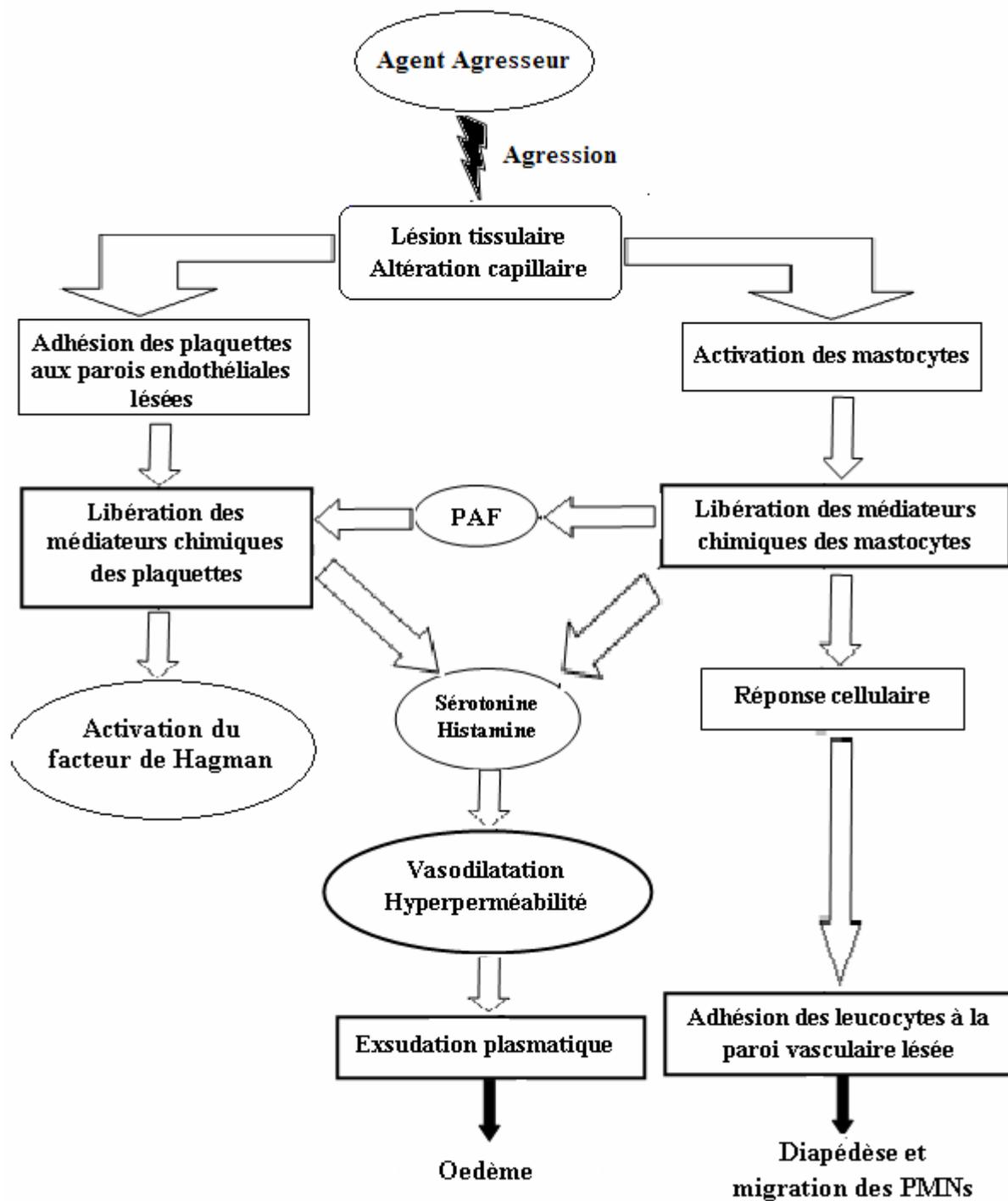
Le travail est initié par une recherche bibliographique, dans la quelle le processus inflammatoire, les radicaux libres et les antioxydants ainsi que la plante du gingembre ont été présentés. Dans la partie pratique les méthodes et les techniques utilisées pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* et l'activité antioxydante *in vitro* ont été développés. Les résultats obtenus sont donnés et discutés.

# 1. Inflammation

L'inflammation est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression par une infection pathogène, ou par un traumatisme (Botting et Botting, 2000 ; Rankin, 2004). Le but de l'inflammation est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de la persistance de l'agent pathogène dans le siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire ou par anomalies quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (Regnault, 1992 ; Blake et al., 2000). L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires : *i*) l'inflammation aiguë, de courte durée (quelques jours à quelques semaines) et qui se termine par l'élimination du stimulus nocif et par la réparation du tissu lésé (Dallegrì et Ottonello, 1997). *ii*) L'inflammation chronique qui échappe au contrôle physiologique conduisant ainsi à la persistance des stimuli inflammatoires. En effet, la réponse inflammatoire chronique peut durer plusieurs mois, voir même des années. La chronicité de la réponse inflammatoire est ainsi la base de nombreuses pathologies, telles que l'arthrite rhumatoïde, l'emphysème pulmonaire et la goutte. (Regnault, 1992 ; Anzai et al., 2004 ; Blake et al., 2000). Le déroulement de la réaction inflammatoire comporte initialement une phase locale ou vasculaire immédiate mettant en jeu des phénomènes humoraux, vasculaires et cellulaires (Regnault, 1992 ; Wagner et Roth, 2000 ; Botting et Botting, 2000).

## 1. 1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle est caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses, par une forte présence des polymorphonucléaires au niveau du foyer inflammatoire (Dallegrì et Ottonello, 1997 ; Whyte, 2000). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Botting et Botting, 2000). Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé (Figure 1). Des modifications vasculaires, telles que l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire apparaissent au niveau du tissu enflammé. Cette augmentation de la perméabilité permet au liquide plasmatique de s'échapper vers le milieu extravasculaire, phénomène connu sous le terme d'exsudation plasmatique. Ces modifications vasculaires permettent le recrutement des leucocytes dans le milieu extravasculaire qui se déplacent en suite vers le site inflammatoire. Ces leucocytes détruisent et éliminent les stimuli nocifs qui s'y présentent, laissant place à la réparation du tissu endommagé (Rankin, 2004).



**Figure 1.** Déroulement du processus inflammatoire. L'agression cause des lésions tissulaires et vasculaires, ce qui entraîne la libération de médiateurs chimiques tel que l'histamine et le PAF. Ces médiateurs provoquent la vasodilatation et augmentent la perméabilité vasculaire engendrant l'exsudation plasmatique et un œdème local. Les neutrophiles adhèrent en suite à la paroi vasculaire et la traversent pour migrer vers le site de l'inflammation (Regnault, 1992).

L'inflammation aiguë se déroule en trois phases : la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de résolution.

### **1. 1. 1. La phase vasculaire**

La phase vasculaire est caractérisée par la tétrade classique (douleur, rougeur, chaleur et tuméfaction) qui correspond à l'installation de deux phénomènes, la congestion et l'oedème. Cette réaction vasculaire est immédiate, quelques secondes apparaît la rougeur associée à la douleur qui est attribuée à la congestion (Giraudet et al., 1984 ; Regnault, 1992 ). Il s'agit d'une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste à une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans le site inflammatoire. La congestion est déclenchée par l'action de médiateurs chimiques (Giraudet et al., 1984).

La paroi vasculaire qui devient ainsi perméable, laisse échapper du liquide plasmatique dans le milieu interstitiel, causant ainsi un enflamment local (Giraudet et al., 1984). Ce liquide, connu sous le terme d'exsudat est riche en médiateurs inflammatoires, anticorps, composants du complément et en différentes protéines plasmatiques. Ainsi, cette exsudation plasmatique contribue à enrichir le milieu extravasculaire en facteurs destinés à entretenir et à amplifier la réponse inflammatoire (Regnault, 1992). Sous l'influence des différentes substances libérées dans le foyer inflammatoire (histamine, sérotonine et interleukine-1), les cellules endothéliales modifient leur cytosquelette, ce qui leur permet de se rétracter, donnant lieu à de fines ouvertures intercellulaires (Rankin, 2004). Le passage de l'exsudat riche en médiateurs vers le site enflammé induit un œdème. Qui est cliniquement caractérisé par un gonflement des tissus (Regnault, 1992).

Les modifications vasculaires, permettent la migration des leucocytes hors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel et déclenche alors la phase cellulaire (Witko-sarsat et al., 2000).

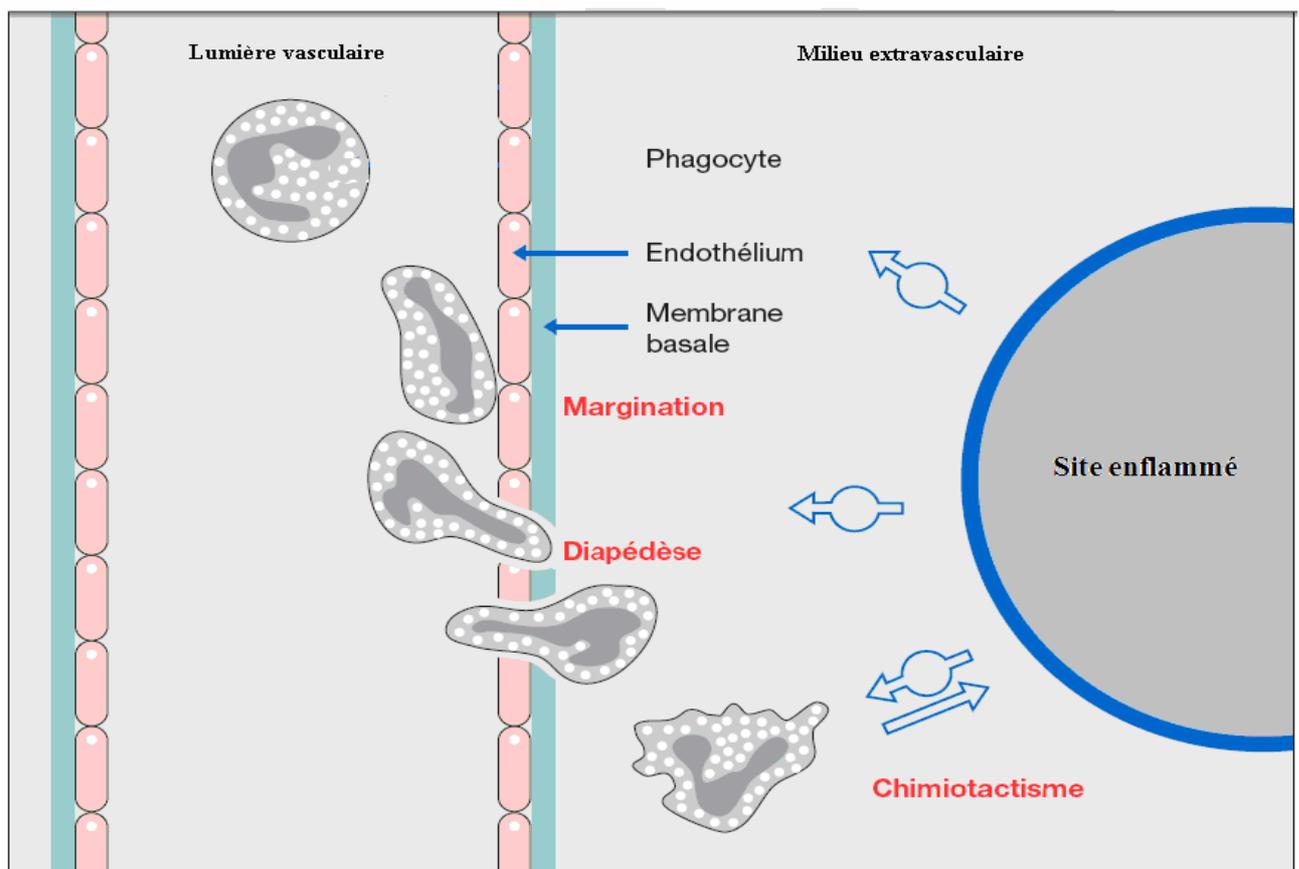
### **1. 1. 2. La phase cellulaire**

Les polynucléaires sont les premières cellules qui migrent vers le site enflammé, pendant les 6 à 24 premières heures, puis un peu plus tard en 24 à 48 heures les monocytes et les lymphocytes sont recrutés.

La marginalisation des cellules sur le site enflammé se fait en une trentaine de minutes. Lesquels sont adhérents le long des cellules endothéliales (figure 2) (Wagner et Roth, 2000). Ce contact entre les cellules endothéliales et les cellules migratrices rendu possible par l'expression de molécules adhésives, sous l'influence des médiateurs inflammatoires initiaux aussi bien à la surface des cellules endothéliales qu'à la surface des leucocytes (Wagner et Roth, 2000 ; Rankin,

2004). Des interactions additionnelles avec d'autres médiateurs tels que le PAF (Platelet Activated Factor), le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ) ou les lipopolysaccharides, augmentent l'adhésivité de la paroi vasculaire. Ces médiateurs induisent l'expression de nouvelles molécules de surface conduisant à l'adhésion ferme des cellules (Dallegrì et Ottonello, 1997).

Une fois adhérentes, les cellules migrent vers le milieu extravasculaire à travers les ouvertures initialement établies entre les cellules endothéliales (Rankin, 2004). Elles se déplacent alors directement vers l'agent causal de l'inflammation, guidées par un gradient de concentrations de substances dites chimioattractantes. Ces substances peuvent être libérées par l'agent infectieux, les cellules endommagées, les cellules endothéliales et par les leucocytes déjà présents dans le foyer inflammatoire (Wagner et Roth, 2000) (figure 2). Arrivés au niveau du site inflammatoire, la phagocytose et la libération de différentes enzymes hydrolytiques (protéase, élastase et de collagénase....etc) des polynucléaires permettent la destruction de l'agent pathogène. Cependant, les macrophages permettent le nettoyage du foyer inflammatoire et l'élimination des débris cellulaires et tissulaires (Diegelmann et Evans, 2004).



**Figure 2.** Principales étapes de l'extravasation du PMN et de sa migration vers le site inflammatoire. Cette migration est élicitée par des interactions adhésives entre les neutrophiles et les cellules endothéliales et guidée par un gradient de concentrations de substances chimioattractantes (Janeway et al., 2001).

### 1. 1. 2. 1. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les polynucléaires neutrophiles (PMNs), représentent 50 à 70% des leucocytes circulants dans le sang (Botting et Botting, 2000). Ils constituent la première ligne de défense de l'organisme contre les agents infectieux et les substances étrangères (Whyte, 2000).

Une fois activés, les PMNs synthétisent des produits d'abord stockés dans des granules primaires (lyzosomes) ou secondaires, puis libérés soit à l'intérieur même de la cellule et agissant sur les substances phagocytées, soit dans le milieu extra-cellulaire. Ces produits sont nombreux : cathepsine G, myéloperoxydase, protéinase-3, chondroïtine-sulfate, héparine-sulfate, collagenase, phosphatase acide et alcaline, lactoferrine, PAF, eicosanoïdes (TXB2, LTB4, 5-HETE), radicaux libres oxygéné...etc (Borregaard et Cowland, 1997 ; Gompertz et Stockley, 2000 ; Natahan, 2002).

Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires constituent le système des phagocytes mononucléés. De nombreuses situations engendrent l'activation des macrophages rencontre avec un micro-organisme, avec une particule inerte, avec un produit de dégradation tissulaire ou liaison avec un ligand naturel pour un de leurs récepteurs : anticorps, thrombine, fibrine, facteurs de croissance, cytokines (Rankin, 2004).

L'activation des macrophages a pour conséquences : *i*) La phagocytose, qui est un processus beaucoup plus lent que celle des polynucléaires neutrophiles. La digestion du matériel phagocyté est souvent incomplète et des peptides sont apprêtés dans les phagosomes et les phagolysosomes pour être ultérieurement présentés aux lymphocytes T par des molécules HLA de classe II exprimés à la surface de la cellule (Adrie et Pinsky, 2000). *ii*) La libération de nombreux produits à savoir les enzymes, cytokines, composants du complément, composants de la coagulation, radicaux libres intervenant dans les mécanismes de l'inflammation (Dallegrì et Ottonello, 1997). Les fonctions des différents leucocytes impliqués dans la réponse inflammatoire sont résumées dans le tableau 1.

Les fibroblastes de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase, stromélysine, cathepsines, sérine protéase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (Botting et Botting, 2000).

Les polynucléaires éosinophiles agissent au cours des phénomènes allergiques mais aussi au cours des processus inflammatoires. Activés alors par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques de médiateurs de l'inflammation, ils produisent à leurs tours différentes molécules favorisant l'inflammation (Botting et Botting, 2000).

Les basophiles, cellules circulantes, et les mastocytes, cellules tissulaires, sont capables de libérer plusieurs médiateurs importants de la réaction immuno-allergique et inflammatoire tels que histamine, sérotonine, leucotriène, PAF (Botting et Botting, 2000).

Les lymphocytes interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par la production de différentes cytokines (Adrie et Pinsky, 2000).

Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre jouent un rôle important au cours de l'inflammation (Wagner et Roth, 2000). L'état de jonction des cellules entre elles et avec la matrice extra-cellulaire contrôle le passage des liquides et des macromolécules de l'espace intra-vasculaire vers les tissus interstitiels. Cet état de jonction fait intervenir de nombreuses protéines trans-membranaires ou intra-cellulaires tels que connexines, cadhérines, protéines du cytosquelette, intégrines de surface (Janeway et al., 2001). Le tonus vasculaire et la vasomotricité sont assurés par les fibres musculaires lisses de la paroi des vaisseaux et sont régulés par des molécules produites par les cellules endothéliales elles-mêmes. Ces molécules favorisent soit la vasoconstriction soit la vasodilatation.

Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post-inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (Aggarwal et Shishodia, 2006).

**Tableau 1.** Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire (Botting et Botting, 2000 ; Rankin, 2004)

Type cellulaire	Fonction basique
Neutrophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire, ont des propriétés phagocytaires et sont activés par des chimioattractants dans le site de l'agression.
Mastocytes	Cellules phagocytaires, résidentes dans les tissus de connexions et dans les muqueuses. Libèrent de médiateurs inflammatoires (essentiellement anaphylactiques).
Basophiles	Morphologiquement similaires aux mastocytes. Migrent vers le tissu extravasculaire et ont des propriétés phagocytaires. Interviennent dans les réactions allergiques.
Eosinophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire où ils peuvent survivre plusieurs semaines. Ils ont des propriétés phagocytaires et interviennent dans les infections parasitaires.
Plaquettes	Source initiales de médiateurs inflammatoires et interviennent aussi dans la cascade de coagulation.
Monocytes	Se différencient en macrophages tissulaires, dans le foie, les poumons... où ils peuvent y survivre pendant des années. Ce sont de puissants phagocytes, ils sont impliqués dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et B et dans la libération des médiateurs inflammatoires.

### 1. 1. 3. La phase de réparation

Cette dernière sera plus ou moins importante et son intensité est liée au degré de destruction cellulaire. Les macrophages ne complètent pas seulement l'action des polynucléaires neutrophiles, mais également jouent un rôle de présentateurs de l'antigène et de réparateurs. Il s'agit d'une régénéscence due à des molécules comme les cytokines et les médiateurs dont le rôle est parfaitement prédestiné. Au début, ce sont les cellules endothéliales qui vont réparer l'endothélium. Ceci est dû à diverses molécules tels que la collagénase I ou III, lesquelles agissent sur le stroma cellulaire. Si la destruction est plus importante, non seulement les macrophages vont participer à l'angiogénèse, bientôt remplacés par les fibroblastes, ces dernières produisant la fibronectine, la laminine et du collagène est l'élément clef de reconstruction. Dans la réaction aigue, les vaisseaux reconstruits, feront que cette dernière va s'arrêter (Botting et Botting, 2000).

## **1. 2. Inflammation chronique**

La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique conduisent à la chronicité de l'inflammation (Blake et al., 2000). En effet, une infiltration excessive des leucocytes au niveau du site inflammatoire et une mauvaise élimination de l'agent causal de l'inflammation sont à l'origine du développement de l'inflammation chronique (Rankin, 2004). L'inflammation chronique est également provoquée dans le cas de certaines maladies auto-immunes, où des antigènes du soit activent continuellement le système immunitaire. La réponse inflammatoire chronique est ainsi caractérisée par une longue durée (Anzai et al., 2004).

C'est ce qui arrive dans les crises de la goutte par exemple, causées par le dépôt de cristaux d'urate dans les tissus. La présence de ces cristaux attire les neutrophiles qui les phagocytent. Etant résistants à l'action des enzymes lysosomiales, les neutrophiles n'arrivent pas à s'en débarrasser et les rejettent avec leurs enzymes dans les tissus environnants. Ce qui conduit au recrutement de nouveaux leucocytes, essentiellement les macrophages et les lymphocytes et amplifie la réponse inflammatoire qui devient chronique (Regnault, 1992).

## **1. 3. Médiateurs de l'inflammation**

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (Rankin, 2004).

Le tableau 2 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation. On peut distinguer deux types de substances médiatrices. Les unes sensibilisent les neurones et provoquent la vasodilatation. C'est le cas des prostaglandines et des leucotriènes B<sub>4</sub>, métabolites de l'acide arachidonique qui lui-même provient des phospholipides membranaires libérés par l'action de phospholipase A<sub>2</sub> en réponse à une lésion tissulaire. Les autres activent ou sensibilisent les nocicepteurs et augmente la perméabilité vasculaire, c'est le cas de la bradykinine plasmatique, la sérotonine plaquettaire et de l'histamine qui sont libérées par les mastocytes (Nathan, 2002). D'autres molécules sont impliquées dans la genèse ou l'entretien des processus inflammatoires. Les cytokines, les interleukines (ILs) et le facteur de nécrose tumorale («tumor necrosis factor» TNF) sont produits par les cellules du système immunitaire tandis que le facteur de croissance neuronale («nerve growth factor», NGF) est produit par les fibroblastes. Ce dernier favoriserait l'excitabilité des nocicepteurs en se fixant sur son récepteur tyrosine-kinase. Un certain nombre de tachykinines dont la Substance P et le peptide relié au gène de la calcitonine

(CGRP) sont libérées par les terminaisons libres des neurones sensoriels et stimulent une vasodilatation (Dray, 1995).

La substance P active les macrophages, les monocytes, les lymphocytes et libère l'oxyde nitrique (NO) à partir des cellules endothéliales. Après inflammation la surexpression des récepteurs vanilloïdes 1 (VR1) et de canaux spécifiques du sodium («specific sodium channel», SNS) peut contribuer à une augmentation de la sensibilité aux médiateurs inflammatoires. Les neurones des fibres A expriment la SP et le facteur neurotrophique dérivé du cerveau («brain-derived neurotrophic factor», BDNF) lors de l'inflammation, et contribuent à induire une sensibilisation centrale dans le tissu lésé (Dray, 1995 ; Ma et Woolf, 1996).

**Tableau 2.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Regnault, 1992 ; Dallegri et Ottonello, 1997; Rankin, 2004).

Médiateurs	Origine	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Platelet activating factor (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la bronchoconstriction, l'aggrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kallicréine	Plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Plasma	Clive le composant du complément C <sub>3</sub> pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : - LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité des micro-vaisseaux.

- LTB <sub>4</sub>	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandines	Essentiellement par les leucocytes	Provoquent la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hagman (XII)	Présent dans le plasma et activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	Présente dans le plasma, formée à partir du fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
L'IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophiles, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

## 2. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Butterfield et al., 1997). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). L'appellation espèces réactives de l'oxygène n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certaines dérivées oxygénées réactives non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxyde d'azote ( $ONOO^-$ ) (Favier, 2003). Le tableau 3 résume les divers ROS.

**Tableau 3.** Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002)

Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet}$
Monoxyde d'azote	$NO^{\bullet}$
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Peroxyde organique	$ROOH$
Acide hypochlorique	$HOCl$
Aldéhydes	$HCOR$
Oxygène singulet	$^1O_2$
Peroxyde d'azote	$ONOO^-$

L'espèce réactive primaire de l'oxygène est l'anion superoxyde produit à partir d'une molécule d'oxygène, cette dernière mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions. Généralement, il est peu réactif, mais représente un précurseur d'espèces plus agressives tel que le peroxyde d'hydrogène (Robinson et al., 2006).

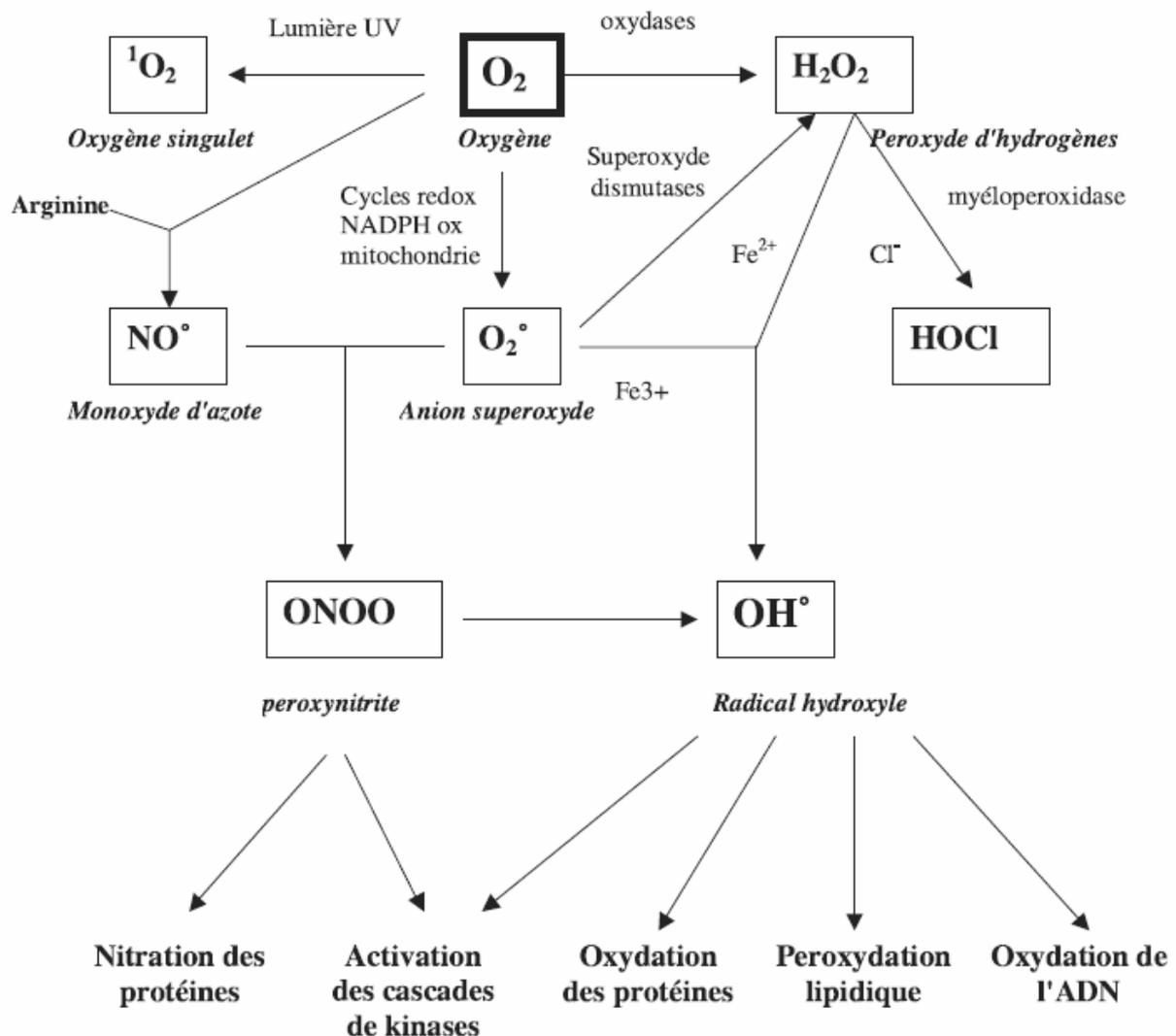
Le radical hydroxyle est formé par la dégradation du peroxyde d'hydrogène en présence de métaux de transition sous leur forme réduite. Ainsi, le peroxyde d'hydrogène associé au fer ferreux conduit à la réaction de Fenton (Favier, 2003).

Le radical hydroxyle est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (Bruijn et al., 1997).

Le radical peroxyde peut également réagir avec le radical superoxyde aboutissant, là encore, à la production du radical hydroxyle. Ce mécanisme réactionnel se nomme la réaction d'Haber-Weiss qui ne se produit qu'en présence de métaux. Le peroxyde d'hydrogène peut néanmoins être considéré comme un dérivé réactif de l'oxygène potentiellement toxique car sa faible réactivité, associée à sa capacité à traverser les membranes biologiques, fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de synthèse (Favier, 2003).

## 2. 1. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes (figure 3). On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.



**Figure 3.** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

### 2. 1. 1. Sources exogènes

Les organismes vivants sont exposés à une large variété de ROS de sources non métaboliques exogènes. Les rayonnements ( $X$  et  $\gamma$ ) peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV, quant à eux, sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants (Beani, 1995).

Les polluants de l'air, comme la fumée des cigarettes et les contaminants industriels, constituent une source importante de ROS, ils attaquent et causent des endommagements dans l'organisme que ce soit par interaction directe avec la peau ou après inhalation dans les poumons (Koren, 1995).

Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Martínez-Cayuela, 1995).

Une grande partie des aliments qu'on consomme est oxydée et contient différents types d'oxydants tels que les peroxydes, les aldéhydes, les acides gras oxydés et les métaux de transition (Ames, 1986). Ces derniers génèrent des radicaux hydroxyles, très actifs, par interaction de l'espèce peu réactive  $H_2O_2$  avec le radical  $O_2^{\cdot-}$  par la réaction de Fenton et Haber-Weiss.

### 2. 1. 2. Sources endogènes

Les ROS sont produits en continu dans la cellule durant toute la vie de chaque cellule dans l'organisme.

La chaîne respiratoire mitochondriale constitue une source majeure des ROS dans les systèmes biologiques (Chen et al., 2003). Dans les conditions physiologiques normales, 1 à 2% de l'oxygène réduit dans la mitochondrie est converti en  $O_2^{\cdot-}$  par la NADH déshydrogénase et l'ubisemiquinone de la chaîne respiratoire (Bai et Cederbaum, 2001). Cette quantité de  $O_2^{\cdot-}$  produite peut être amplifiée en trois cas. Une fois la respiration devient plus intense (effort physique), lorsque la fraction d'oxygène inspiré augmente et lors des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels. Les enzymes responsables de la production de ROS, sont présentes de façon ubiquitaire dans les mitochondries des mammifères (Figure 4).

Le cytochrome *b5* réductase catalyse la réduction du cytochrome *b5* à partir du NADPH cytosolique qui pourrait produire  $O_2^{\cdot-}$  (Whatley et al., 1998).

Les monoamine oxydases (MAO) catalysent l'oxydation des amines qui s'accompagne d'une libération de  $H_2O_2$  (Hauptmann et al, 1996) au cour de la synthèse des neurotransmetteurs à

monoamine (dopamine, sérotonine). Les MAO pourraient être une source importante de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> au cours de l'ischémie (Kunduzova et al, 2002) et du vieillissement (Maurel et al, 2003).

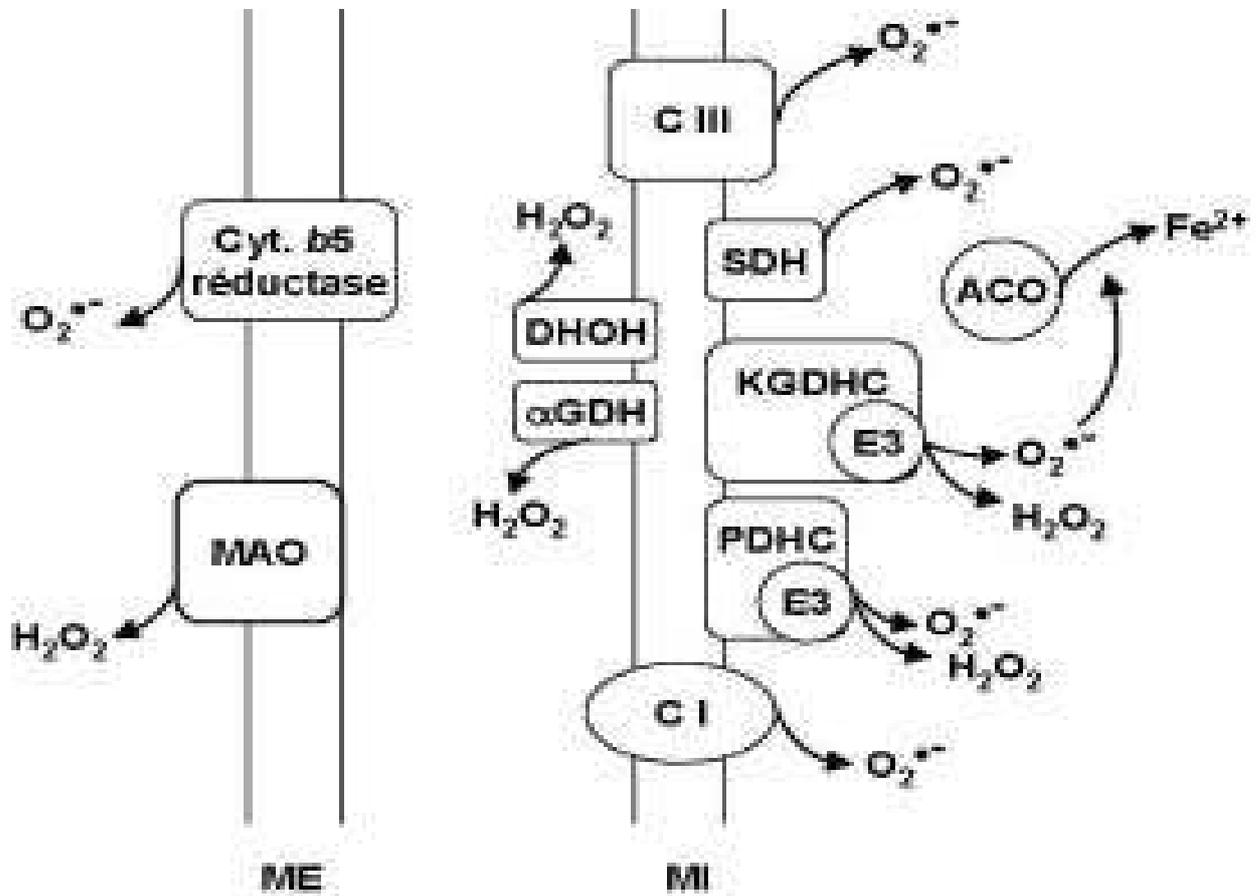
Le dihydroorotate déshydrogénase (DHOH) intervient dans la synthèse des nucléotides pyrimidiques en convertissant le dihydroorotate en orotate. En absence de son accepteur naturel d'électrons, le coenzyme Q situé dans la membrane interne mitochondriale et la DHOH peut produire H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Löffler et al, 1996).

L' $\alpha$ -glycérophosphate déshydrogénase utilise également le coenzyme Q comme accepteur d'électrons. Cette enzyme, FAD-dépendante, catalyse l'oxydation du glycérol-3-phosphate impliquée dans le métabolisme des lipides et dans la navette du glycérol-3-phosphate est produire le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Kwong et Sohal, 1998).

La succinate déshydrogénase (SDH) et l'aconitase mitochondriales interviennent dans le cycle de Krebs. La succinate déshydrogénase est une flavoprotéine qui oxyde le succinate en fumarate en utilisant le coenzyme Q comme accepteur d'électrons. Elle pourrait produire le radical superoxyde, probablement via le FAD en absence du coenzyme Q (Zhang et al, 1998). L'aconitase est responsable de la conversion du citrate en isocitrate. Le superoxyde inhibe l'aconitase en induisant la libération de Fe<sup>2+</sup> qui induit la formation de OH<sup>•</sup> (Gardner et Fridovich, 1992).

L'enzyme dihydrolipoamide déshydrogénase, également appelée E3, est une flavoprotéine commune aux complexes  $\alpha$ -kétoglutarate déshydrogénase (KGDHC) et pyruvate déshydrogénase (PDHC). Ce sont des complexes enzymatiques constitués de trois enzymes (nommées E1, E2, E3). Plusieurs équipes ont montré que l'enzyme E3 peut produire O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Starkov et al., 2004). La production des ROS par le complexe  $\alpha$ -kétoglutarate déshydrogénase est stimulée par une faible disponibilité en NAD<sup>+</sup> qui est l'accepteur final des électrons de ce complexe (Starkov et al, 2004).

Le complexe I et III de la chaîne respiratoire sont les principaux producteurs d'anion superoxyde, mais le mécanisme moléculaire de la réaction reste controversé (Grivennikova et Vinogradov, 2006).



**Figure 4.** Les sources de ROS dans la mitochondrie. MAO : monoamine oxydase; cytochrome *b5* réductase ; C III : complexe III ; C I : complexe I ; SDH : succinate déshydrogénase ; DHOH : dihydroorotate déshydrogénase ;  $\alpha$ -GDH :  $\alpha$ -glycérophosphate déshydrogénase ; KGDHC : complexe  $\alpha$ -kétoglutarate déshydrogénase ; PDHC : complexe pyruvate déshydrogénase ; ACO : aconitase ; ME et MI : membranes externe et interne mitochondriales (Andreyev et al, 2005).

Autres chaînes de transport d'électrons (peroxysomes et microsomes) contribuent également à la production du  $O_2^{\bullet-}$  dans les cellules en aérobose. Les cytochromes  $P_{450}$  et  $b_5$  de la chaîne de transport d'électrons des microsomes peuvent produire des ROS quand ils interrompent le cycle redox normal et détournent le flux d'électrons vers l' $O_2$  (Sevanian et al., 1990). Les cytochromes réductases impliquées dans les réactions redox des cytochromes  $P_{450}$  et  $b_5$  peuvent, à leur tour, produire le  $O_2^{\bullet-}$  et le  $OH^{\bullet}$  suite à leur auto-oxydation (Sevanian et al., 1990 ; Bernhardt, 1996). La glycollate oxydase ou D-aminoacid oxydase des peroxysomes catalysent la réduction bivalente de la molécule d'oxygène produisant ainsi le peroxyde d'hydrogène sans formation du radical  $O_2^{\bullet-}$  (del Rio et al., 1996). Le foie est l'organe central de cette production.

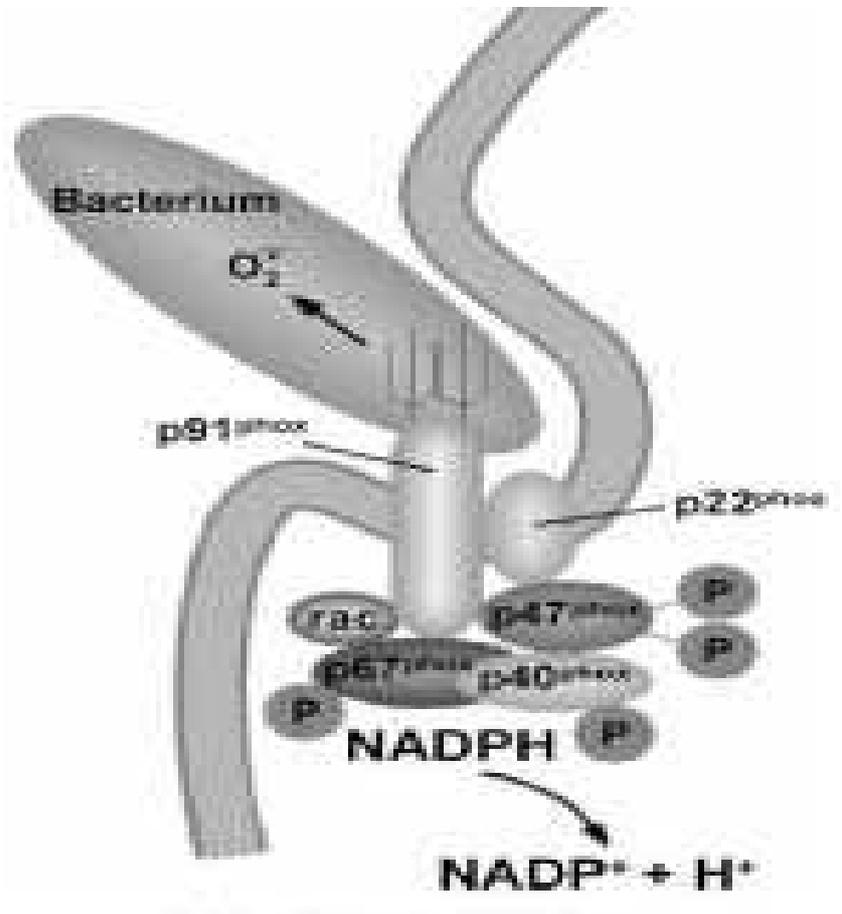
L'activité de quelques enzymes cytoplasmiques conduit également à la formation des ROS comme produit de leur cycle catalytique; la xanthine oxydase et l'aldéhyde déshydrogénase forment l'exemple le plus important (Fridovich, 1970 ; Rajagopalan, 1980). Dans les érythrocytes, une source importante de la production des ROS est l'auto oxydation de l'hémoglobine conduisant à la formation de l'anion radical  $O_2^{\bullet-}$ . En présence de donneurs d'électrons, une réduction bivalente de l' $O_2$  lié à l'hémoglobine prend place résultant en la formation du  $H_2O_2$  (Bartosz, 2003).

Le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ), une autre espèce radicalaire, est synthétisé à partir de l'arginine par les différentes  $NO^{\bullet}$  synthases (NOS) à des fins de médiation au niveau des cellules nerveuses, endothéliales et des macrophages (Bredt, 2003).

Les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leukotriènes, thromboxanes et prostaglandines impliquent la production des ROS. Le radical  $OH^{\bullet}$ , formé au cours de la synthèse des prostaglandines par les cyclooxygénases, intervient secondairement dans la cascade de l'acide arachidonique en inhibant la cyclooxygénase et en privilégiant la voie métabolique du thromboxane  $A_2$ .

La source majeure du  $O_2^{\bullet-}$  est sans doute la flambée respiratoire des cellules phagocytaires activées (neutrophiles, éosinophiles et macrophages) en réponse aux stimuli inflammatoires. Cette flambée respiratoire est caractérisée par une augmentation intense de la consommation de l'oxygène, et son acteur principal est le complexe enzymatique NADPH oxydase (Babior et al., 2002) formé de plusieurs sous unités protéiques membranaires (cytochrome  $b_{558}$ ) et cytoplasmiques ( $P_{47}^{phox}$ ,  $P_{67}^{phox}$  et  $P_{40}^{phox}$ ,  $P_{91}^{phox}$ ,  $P_{22}^{phox}$ ) (figure 5). Dans les cellules en repos, les sous unités cytoplasmiques sont dissociées et le complexe est inactif mais suite à une stimulation, elles subissent une translocation vers la membrane plasmique et forment avec le cytochrome  $b_{558}$  le complexe NADPH oxydase actif (Hancock et al., 2001). La contribution de l'enzyme NADPH oxydase des neutrophiles est capitale dans la lutte anti-infectieuse car elle permet la destruction des bactéries et des corps étrangers phagocytés (Babior

et al., 2002). De même, la myéloperoxydase lysosomiale des phagocytes participe dans ce processus par sa production du HOCl à partir du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et du Cl<sup>-</sup> (Rodrigues et al., 2002).



**Figure 5.** Composition moléculaire de la NADPH oxydase phagocytaire. Le complexe enzymatique est localisé dans la membrane du phagosome pendant la phagocytose. L'enzyme Nox2 (ou gp91phox) est étroitement associée à la petite sous-unité p22phox ; elles forment les deux parties du flavocytochrome b558. Les protéines p47phox, p67phox et Rac2 sont des régulateurs essentiels de Nox2, étant donné qu'une déficience de l'une de ces protéines entraîne une immunodéficience. L'activation de la Nox2 nécessite la translocation des régulateurs cytosoliques vers le cytochrome b558 inactif localisé dans la membrane. Les protéines p67phox et Rac semblent réguler la catalyse tandis que p47phox est un adaptateur liant p67phox à gp91phox. (Orient et al, 2007).

## **2. 2. Dommages des radicaux libres**

Le principal danger des ROS vient de leur capacité à oxyder et endommager les composants de la cellule. Dans le cas où les systèmes de défense sont dépassés, les radicaux libres attaquent les molécules biologiques situées dans la région de leur production. Ces radicaux libres étant très réactifs et ayant une courte durée de vie alors, toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont susceptibles d'être touchées, notamment les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

### **2. 2. 1. Dommages des lipides**

Les radicaux libres sont susceptibles d'interagir chimiquement au niveau des doubles liaisons des chaînes d'acides gras polyinsaturés constituant les membranes (Bonfont Rousselot et al, 1994). Étant donné qu'ils peuvent subir, lors de ces attaques, une dégradation en chaîne connue sous le nom de peroxydation lipidique (Favier, 2003), cette dernière peut être résumée en quatre grandes étapes.

Au cours de la première étape, un ROS, arrache les atomes d'hydrogène présents sur les lipides membranaires et laisse le lipide avec un électron libre, rendant ce dernier capable de réagir avec les autres lipides environnants (Favier, 2003).

À la seconde étape, la réaction de ce lipide porteur d'un électron libre avec l'oxygène engendre ensuite un radical peroxyde ( $\text{LOO}^{\bullet}$ ), ce dernier réagit à son tour avec un autre lipide membranaire, arrachant à ce dernier un hydrogène. Au cours de cette réaction, le radical peroxyde est converti, par l'ajout de cet hydrogène, en radical hydroperoxyde stable. Seulement, le lipide d'où provient l'hydrogène se retrouve lui-même transformé en radical libre porteur d'un électron célibataire (hydroperoxyde).

Les hydroperoxydes lipidiques ainsi formés sont dégradés principalement en malonedialdéhyde (MDA) (Chaudhary et al, 1996) et 4-hydroxynonéol (4-HNE) (Schneider et al, 2008) qui peuvent réagir de manière covalente avec les protéines et les inactiver. Ces produits sont très toxiques puisqu'ils peuvent également modifier l'ADN et sont impliqués dans les mécanismes apoptotiques et cancérogènes (Ramakrishnan et al, 1993).

### **2. 2. 2. Dommages des protéines**

Les protéines les plus sensibles aux attaques des radicaux libres sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH) comme de nombreuses enzymes cellulaires et protéines du transport. Les modifications oxydatives des protéines par les ROS provoquent

l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Levine, 2002). Nous pouvons classer les réactions d'oxydation de protéines en deux catégories. D'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique soit par une formation d'un pont bi-tyrosine, soit par des coupures en cas d'une forte agression, soit par des modifications de certains acides aminés en cas d'une agression modérée et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE (Levine, 2002).

De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome ((Levine, 2002).

### **2. 2. 3. Dommages des acides nucléiques**

Généralement, il existe au sein de la cellule, deux types d'ADN qui sont l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ROS du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources de ROS cellulaire qui est la chaîne respiratoire mitochondriale. Ainsi le taux de bases oxydées serait 2 à 3 fois supérieur dans l'ADN mitochondrial par rapport à l'ADN nucléaire (Stevnsner et al., 2002).

Les réactions d'oxydation de l'ADN par le radical hydroxyle créent un grand nombre de dommages de l'ADN, qui peuvent être classées en cinq catégories. l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées tels que le 8 oxo guanine, 8 nitro guanine, formamidopyrimidine, 8 oxo adénine, formimidouracile, 5 hydroxy cytosine, 5-hydroxy méthyl uracile, thymine diol et l'oxazolone. Ces radicaux libres sont aussi capables d'attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Favier, 2003).

Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN. Le MDA réagit avec les acides nucléiques et forme des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés (Marnett, 1999).

## **3. Les antioxydants**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Favier, 2003).

Généralement, l'équilibre entre les effets positifs et négatifs des radicaux libres est particulièrement fragile. La production des radicaux libres est strictement régulée par notre organisme qui a développé des moyens de protection contre les effets destructeurs des radicaux libres. Ce système de protection est réparti en deux classes majeures (Ames et al., 1993).

### **3. 1. Les antioxydants endogènes**

Les radicaux libres se produisent spontanément et d'une manière continue au sein de notre organisme. Cependant, ils sont rigoureusement contrôlés par des antioxydants dits endogènes.

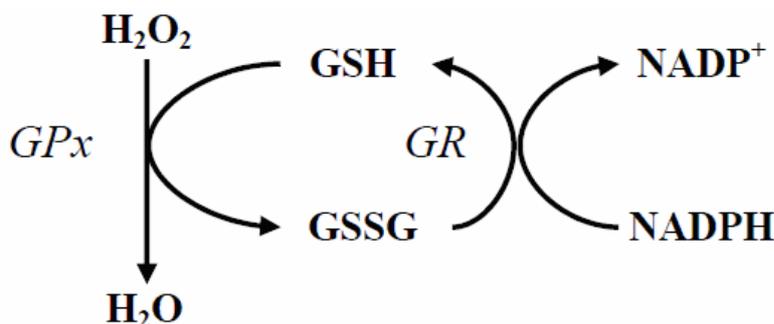
Ces derniers sont représentés principalement par des enzymes, tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène conduisant à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).

#### **3. 1. 1. Superoxyde dismutase (SOD)**

La superoxyde dismutase est un enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en  $H_2O_2$ . Ce dernier pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. Il existe trois isoformes de SOD chez les mammifères. Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire (Favier, 2003 ; Pokora et al., 2003).

#### **3. 1. 2. Glutathion peroxydase (GPx)**

La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du  $H_2O_2$  (figure 6). Ce système prend aussi en charge les lipides peroxydés. La GPx est l'enzyme clef du système et nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le glutathion disulfite (GSSG) ainsi produit est réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron. Le rapport GSH/GSSG est un index de l'état d'oxydation dans la cellule (Yu, 1994).



**Figure 6.** Elimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR (Yu, 1994).

### 3. 1. 3. Catalase (CAT)

La catalase est un enzyme réagit efficacement avec le peroxyde d'hydrogène pour donner de l'eau et de l'oxygène. La CAT est localisée principalement dans le peroxysome, mais elle se trouve aussi dans le cytoplasme (Yu, 1994). La GPx et la CAT permettent ainsi l'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Toutefois, la CAT semble jouer un rôle important en présence de forte concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, alors que la GPx prend en charge les hydroperoxydes et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> même en faible quantité. La GPx est ainsi considérée comme la source majeure de protection contre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les hydroperoxydes (Kalpakcioglu et Şenel, 2008).

## 3. 2. Les antioxydants exogènes

Toutes les défenses précédentes peuvent être renforcées par des composants exogènes, dans le cas où les systèmes de défense sont dépassés. Ainsi plusieurs substances d'origines alimentaires (animale et végétales) peuvent agir en tant qu'antioxydants. Mais la source végétale est considérée comme la plus utilisée, puis qu'elle est largement consommé dans notre alimentation quotidienne. Elles incluent les flavonoïdes, la vitamine E, les caroténoïdes, la vitamine C et l'acide urique....etc.

### 3. 2. 1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, qui se retrouvent en grande quantité dans le vin rouge, le thé vert, les légumes et dans les extraits d'un grand nombre de plantes (Pincemail et al., 2002). Les

flavonoïdes sont des composés hydrosolubles, Leur principale fonction semble être la coloration des plantes. Actuellement, près de 6000 flavonoïdes ont été décrits (Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes présentent un squelette tricyclique à 15 atomes de carbone, constitué de deux cycles de benzène (A et B) et le pont à 3 carbones entre ces deux cycles forme généralement le troisième hétérocycle (C) (figure 5).

Généralement les flavonoïdes sont répartis en plusieurs classes selon la présence ou l'absence de la double liaison entre C2 et C3, du groupement cétone en position C4 et du groupement hydroxyle en position C3. Les flavonoïdes de la même classe se différencient entre eux par les substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucidiques sur leurs cycles (Ross et Kasum, 2002). Contrairement aux autres classes, le cycle B des isoflavonoïdes est en position 3 au lieu de la position 2 du cycle C. Les classes les plus communes des flavonoïdes sont les flavanones, les flavones, les flavanonols, les flavonols, les flavanols et les isoflavones (figure 7).

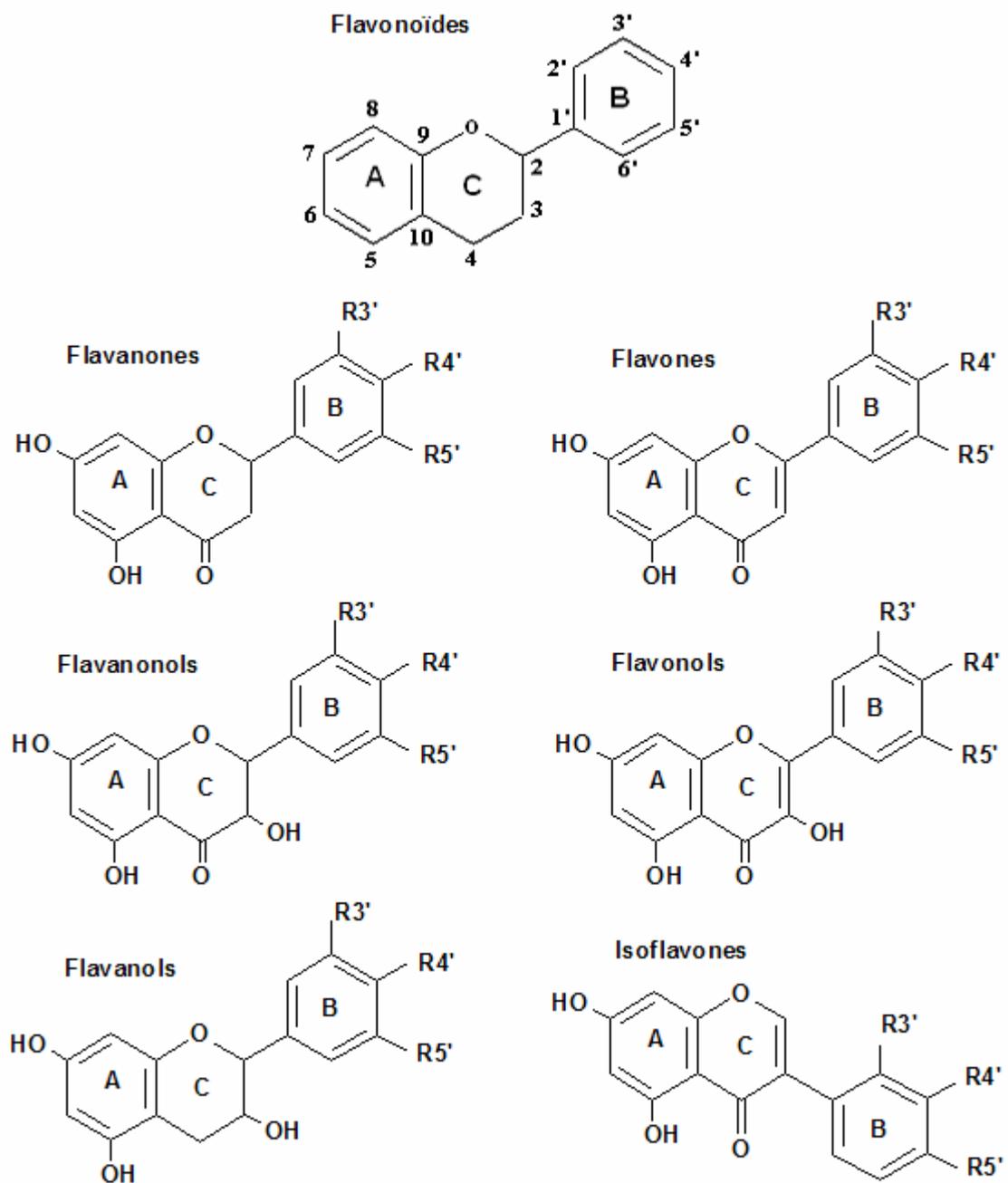
L'alimentation nous apporte environ 75 mg de flavonoïdes par jour. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile d'olive, les oignons, le cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavanols et les flavonols (Schewe et Sies, 2003).

Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante et anti-inflammatoire, car ils sont capables de piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles, anions superoxydes et de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire (Ghedira, 2005). Actuellement, les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmacobiologiques comme les effets antiallergiques, anti-thrombotiques, anti-tumoraux et hépatoprotecteurs (Middleton et al., 2000).

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui agissent comme de puissants scavengers des espèces réactives de l'oxygène produites dans l'organisme (Gao et al., 2001 ; Ross et Kasum, 2002). Le pouvoir scavenger des flavonoïdes est due probablement à la position des substituants hydroxyles dans les cycles A et B (Kim et al., 1996). Il est d'autant plus important que le nombre d'hydroxylation est élevé. La présence de la double liaison entre C2 et C3 potentialise également les propriétés antioxydantes des flavonoïdes (Kim et al., 1996). Les flavonoïdes exercent également leur pouvoir anti-oxydant soit par la chélation des ions métalliques (fer et cuivre) impliqués dans la chaîne de production des ROS, soit par l'inhibition des systèmes enzymatiques (NADPH oxydase et xanthine oxydase) responsables de leur production (Pietta, 2000). Ils sont aussi capables d'activer les systèmes antioxydants endogènes tels que la glutathion peroxydase (Gao et al, 2001 ; Ross et Kasum, 2002).

Quant à l'activité anti-inflammatoire, plusieurs études ont prouvé que les flavonoïdes exercent des activités anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation.

C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent le métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase et de la cyclooxygénase (Ghedira, 2005).



**Figure 7.** Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

### **3. 2. 2. La vitamine E**

La vitamine E est un important antioxydant qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les graines, le lait, les oeufs et les légumes à feuilles vertes (Meydani, 2000), qui représentent la source la plus importante, d'ailleurs, Il a été montré que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus biodisponible que la vitamine E synthétique (Burton et al., 1998).

La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la  $\beta$ -amyloïde (A $\beta$ ), d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients atteints de la maladie d'Alzheimer obtiennent de remarquables progrès après le traitement par la vitamine E (Yatin et al., 1999 ; Nishida et al., 2006 ).

### **3. 2. 3. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes forment une classe de composés phytochimiques très importante qui se trouvent principalement dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes. Ils, empêchent les dommages génétiques et protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication, comme ils empêchent l'expression des oncogènes, augmentant l'activité de communication des gap junctions (Mascio et al., 1991).

Les exemples de caroténoïdes, incluent l'alpha carotène, bêta carotène, lycopène, phytofluène, phytoène, lutéine, neoxanthine, viloxanthine, anthéroxanthine, alpha et beta cryptoxanthine. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet. Cette chaîne polyène, par un mécanisme d'addition, permet l'incorporation des espèces réactives ou radicaux libres et de ce fait ralentir leur propagation.

Les caroténoïdes sont impliqués dans la prévention du cancer de la prostate et du poumon (Mascio et al., 1991).

### **3. 2. 4. La vitamine C**

L'acide ascorbique est un puissant réducteur régénéré par les enzymes ascorbates réductases et largement utilisé comme un antioxydant de référence (Favier, 2003). Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les agrumes, les légumes, le poivron (Yu, 1994). Il peut directement réagir avec des espèces oxygénées réactives comme OH<sup>\*</sup>

ou  $O_2^{\cdot-}$  et former le radical semidéshydroascorbate peu réactif, qui est rapidement oxydé en acide déshydroascorbique (Carty et al., 2000).

### **3. 2. 5. L'acide alpha-lipoïque**

Il a depuis été reclassé comme antioxydant qui peut piéger les radicaux libres au niveau intracellulaire et extracellulaire. Du fait qu'il est aussi bien liposoluble qu'hydrosoluble, il peut accéder à toutes les parties de nos cellules. L'acide lipoïque réduit la glycation et favorise le transfert du glucose sanguin aux cellules en stimulant l'activité insulinique (Ghibu et al., 2008).

## 4. *Zingiber officinale* Roscoe

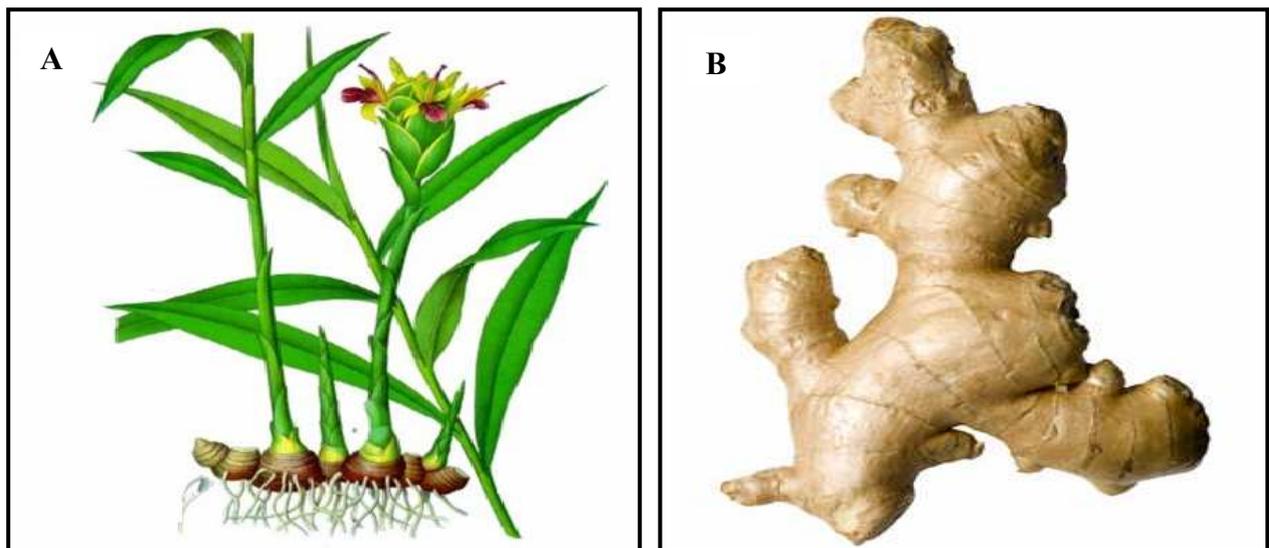
### 4. 1. Description botanique

Le gingembre, *Zingiber officinale* est une grande plante vivace tropicale herbacée de la famille des Zingiberaceae, cette plante port de roseau qui mesure jusqu'à 3m de haut (tableau 4).

**Tableau 4.** La classification botanique de *Zingiber officinale* (Faivre et al., 2006).

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	<i>Liliopsida</i> (Monocotylédones)
Sous-classe	<i>Zingibéridéés</i>
Ordre	<i>Scitaminales</i> ou <i>zingibérales</i>
Famille	<i>Zingibéraceae</i>
Genre	<i>Zingiber</i>

C'est une plante qui a des feuilles lancéolées, une inflorescence dense avec des bractées latérales et des fleurs parfumées vertes pâles à labelle pourpre avec des traînées rouges sur les lèvres (figure 8). La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (bruneton, 1999). Son rhizome est noueux et parfumé, avec une peau beige pâle, et une chair jaune pale juteuse et parfumée. Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques (Faivre et al., 2006).



**Figure 8.** *Zingiber officinale*. **A.** La plante entière. **B.** Le rhizome.

## 4. 2. Production

Les rhizomes sont les parties les plus utilisées du gingembre. La production mondiale annuelle s'élève à plus de 1 millions de tonnes. Les principaux pays producteurs (tableau 5) sont l'Inde, la Chine et l'Indonésie avec un taux de 66% de la production mondiale. Le Nigeria et le Népal produisent 20%, donc ces cinq pays à eux seuls couvrent 86% de la production mondiale.

**Tableau 5.** Les principaux pays producteurs du rhizomes du gingembres (Faivre et al., 2006).

Pays	Production en tonnes	Pourcentage
Inde	275000	26,5 %
Chine	260000	25 %
Indonésie	151000	14,5 %
Nigeria	110000	11%
Népal	90000	9 %
Bangladesh	43000	4 %
Thailand	33000	3 %
Philippines	30000	3 %
Autres pays	39000	4 %
Total	1031000	100%

## 4. 3. Utilisation traditionnelle

Le rhizome du gingembre est utilisé en médecine traditionnelle indienne et chinoise depuis plus de 2500 ans (Shukla et Singh, 2006), tandis que son utilisation comme épice remonte à des dates encore plus anciennes.

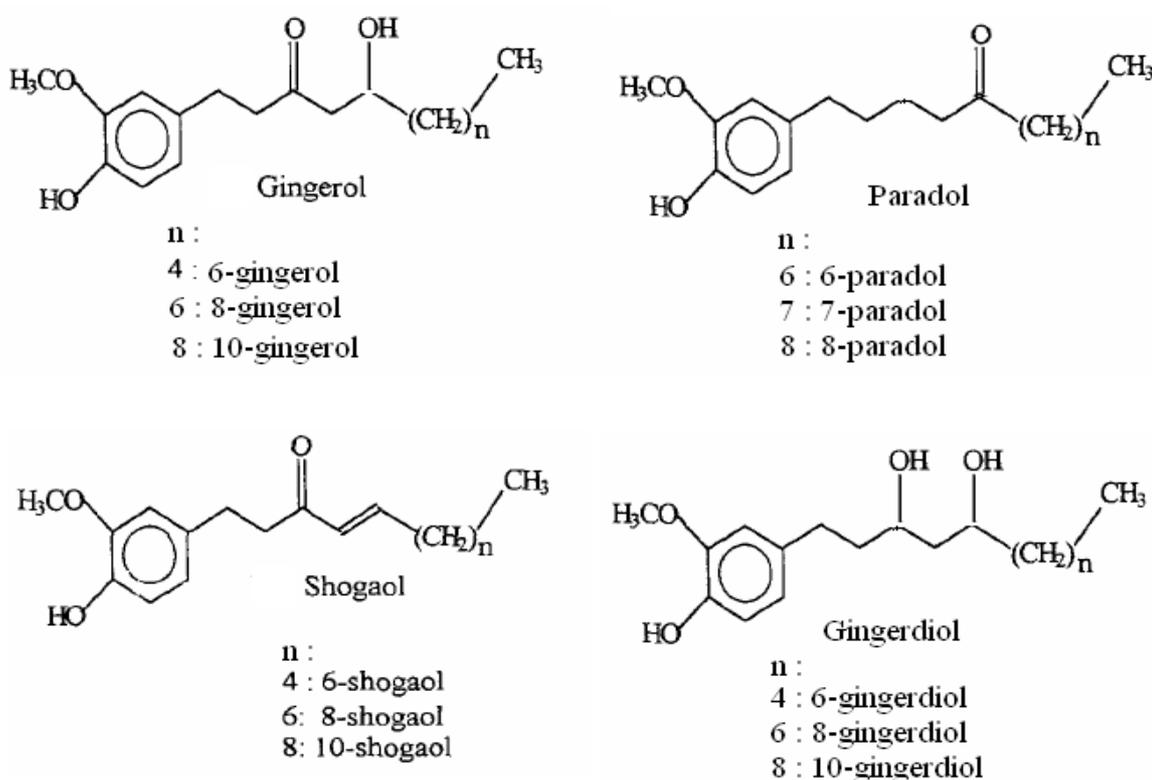
Le rhizome du gingembre est traditionnellement utilisé pour traiter un grand nombre d'affections. En effet, il est utilisé pour traiter le rhumatisme (anti-inflammatoire), comme il sert pour traiter aussi la migraine, les vomissements, la toux et les maladies cardiovasculaires (Bruneton, 1999 ; Shukla et Singh, 2006).

En médecine anglaise, le gingembre est largement utilisé pour traiter les dyspepsies atones avec flatulence, ainsi que dans les coliques. Son utilisation comme analgésique externe fut tôt reconnue. Son usage externe le plus commun est comme antalgique dentaire (Faivre et al., 2006).

#### 4. 4. Composition chimique

Le rhizome du gingembre, comme tous les rhizomes des autres plantes est très riche en amidon qui représente environ 60% de la composition générale (Bruneton, 1999). Il renferme aussi différentes protéines (10%) et des acides gras (10%) (Parthasarathy et al., 2008). Les oléorésines, qui sont un mélange d'huiles essentielles et de résines constituent 7%. Les huiles essentielles sont également présentes à des taux qui varient entre 1 et 3% selon l'origine géographique de la plante. Ces huiles essentielles sont de couleur jaune à brune et réparties en trois grandes classes à savoir les sesquiterpènes, les alcools sesquiterpéniques et les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques (tableau 6). Des acides aminés (2%) ainsi que d'autres constituants sont aussi présents dans les rhizomes du gingembre (Allais, 2009).

Les activités biologiques du gingembre sont souvent attribuées aux oléorésines comme les diarylheptanoides (gingerol, shogaol, gingerdiol et paradol) (Faivre et al., 2006). Ces derniers sont caractérisés par un cycle phénylique contenant des groupements hydroxyliques et methoxyliques et une chaîne latérale de longueur variable. Ainsi, les composants de la même famille sont distingués par les différences dans le nombre des atomes de carbone dans la chaîne latérale et par la présence ou l'absence du groupe hydroxyle et de la double liaison entre C4 et C5 (figure 9).



**Figure 9.** Structure chimique des composants non volatiles les plus répandus des oléorésines (Jolad et al., 2004 ; Shukla et singh, 2006).

**Tableau 6.** Composition chimique du rhizome du gingembre (Favre et al., 2006 ; Zhou et al., 2006).

Produits	Classe et sous classe	Constituants
Amidon (60 %)	/	Amylose
Protéines et acides aminés (12%)	/	/
Acides gras (10%)	/	Acide oléique, acide linoléique
Oliorésines (7%)	Diarylheptanoides	Gingérol, shogaol, zingéone, gingediol, paradols.
Huiles essentielles (3%)	Sesquiterpènes	
	Monoterpènes	camphène (11%), $\beta$ -phellandrène (10%), limonène (3%), $\alpha$ - $\beta$ pinène (3%), myrcène (0,9%).
	Monoterpénols	linalool (12,5%), citronnellol (2%).
	Monoterpénals	Citronnellal (0,5%), myrténal, phellandral (0,2%).
	Carbure sesquiterpénique	zingibérène (17%), $\alpha$ -farnésène (12%), $\alpha$ -bisabolène (8%), $\beta$ -ar curcumène (8%), [ $\beta$ -sesquiphellandrène (5%).
	Alcools sesquiterpéniques	Néral (4%), géranial (2%), citral, chavicol, esters acétique et caprylique, gingediol, alpha-curcumène
	Hydrocarbures aliphatiques et aromatiques	Toluène, Alcools aliphatiques, Alcool cuminique, Aldéhydes aliphatiques, Cétones aliphatiques.
Autres constituants		Acide pipécolique et glycérols de Monoacyldigalactosyle, acide cinnamique

## 4. 5. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Le gingembre est connu par de remarquables activités biologiques et pharmacobiologiques. Plusieurs travaux confirment que l'extrait aqueux du gingembre est efficace contre le trichomonas, les salmonelles et les staphylocoques dorés (Faivre et al., 2006).

Les extraits du gingembre ont des effets stomachiques, représentés par une stimulation de la muqueuse gastrique et l'augmentent du flux salivaire. Les sesquiterpènes sont aussi capables d'activer la protection cellulaire de l'épithélium gastrique et augment le tonus de la musculature intestinale (Faivre et al., 2006). Chez l'homme, une dizaine d'études visant à évaluer les propriétés anti-émétiques du gingembre ont été publiés. La majorité des essais mettent en évidence une activité supérieure à celle du contrôle (Bandyopadhyay et al., 2007).

L'activité anticancéreuse du gingembre est également étudiée. En effet, l'extrait hydro-alcoolique de rhizome présente une forte activité antimittotique et stimule la production des cytokines impliquées dans l'hématopoïèse et l'activité des macrophages (Faivre et al., 2006).

An niveau cardiaque, Il est admis que les oléorésines et spécialement le gingérol et le shogaol abaissent la pression artérielle et inhibent la synthèse du cholestérol en bloquant l'enzyme (HMG CoA réductase) et agissant sur la synthèse des stérols par la voie des mévalonates. D'autres études ont constaté que l'extrait alcoolique du gingembre est un hypotensif, vasodilatateur par le blocage des canaux de calcium dépendant au voltage (Ghayur et al., 2005).

Expérimentalement, le 6, 8- gingerol et le shogaol injectés par voie intraperitonéale sont des hépatoprotecteurs, car ils préservent les hépatocytes de rat contre la toxicité du tétrachlorure de carbone (bruneton, 1999).

Une étude démontre que les shogaols pourraient protéger les cellules (IMR-32, HUVEC) impliquées dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Les effets des différents composés antioxydants isolés du gingembre ont été observés *in vitro* ainsi que chez l'animal (Kim et Kim, 2004).

Ces dernières années, plusieurs études ont été consacrées à la mise en évidence des propriétés antioxydantes du gingembre dont plusieurs composés antioxydants ont été caractérisés (Kikuzaki et Nakatani, 1996). Certains d'entre eux seraient résistants à la chaleur et pourraient même être libérés durant la cuisson, ce qui explique l'augmentation de l'activité antioxydante du gingembre cuit (Shobana et Akhilender Naidu, 2000).

Le pouvoir scavenger présent dans l'extrait organique ou aqueux du gingembre est probablement dû à la capacité de ces oléorésines à donner des atomes d'hydrogènes par le substituant hydroxyle présent dans le cycle phénolique et transformer les radicaux libres sous la forme non radicalaire (Stoilova et al., 2006 ; Singh et al., 2008).

Les extraits du gingembre montrent également des activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, le gingerol, le shogaol et le paradol sont des puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des leucotriènes et des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet est dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase et de la cyclooxygénase (Setty et Sigal, 2005 ; Young et al., 2005 ; Lantz et al., 2007).

# MATERIEL ET METHODES

## 1. MATERIEL

### 1. 1. Animaux

L'étude est réalisée sur des souris males Albinos (Institut Pasteur Alger), pesant entre 20 et 30g. Ces souris sont utilisées après une période d'adaptation de 15 jours, durant laquelle elles ont été gardées dans des cages en polypropylène où elles ont accès libre à l'eau et à l'alimentation.

### 1. 2. Matériel végétal

Les rhizomes sec du gingembre (*Zingiber officinale*) utilisés dans cette étude ont été obtenu du marché local, et sont importés de la Chine. Les rhizomes ont été moulus jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de couleur claire jaune. La poudre est préparée juste avant l'extraction.

### 1. 3. Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés pour la préparation des différents réactifs utilisés dans la présente étude sont de grade analytique et proviennent de Sigma, Fluka et Prolabo.

#### 1. 3. 1. Solutions de travail

- \* Bleu d'évans (1%), préparé dans du NaCl 0.9% stérile.
- \* Acide acétique (0,7%), préparé dans du NaCl 0.9% stérile.
- \* Solution de DPPH (4mg/100ml) préparée dans le méthanol sous agitation.
- \* Solutions d'extrait aqueux est éthanolique utilisées dans les essais de la perméabilité vasculaire et de l'œdème de l'oreille in vivo sont préparées dans du NaCl 0.9% non stérile. Dans les tests antioxydant l'extrait est préparé dans de l'eau distillée.
- \* Thiocyanate de potassium (KCN) à 30% préparé dans de l'eau distillée.
- \* FeCl<sub>2</sub> (0,4g/100ml) préparée dans HCl dilué (3,5%) (test de l'effet antioxydant total).
- \* FeCl<sub>2</sub> (0,4g/100ml) préparée dans de l'eau distillée (test de chélation des métaux).
- \* β carotène (1mg/ml), préparé dans le chloroforme.
- \* Ferrozine (5mM), préparé dans le méthanol.
- \* BHT (Butylated Hydroxy Toluène) 1mg/ml, préparé dans l'éthanol (test de l'effet antioxydant total et test de β-carotène/acide linoléique).
- \* Acide ascorbique (0,5mg/ml), préparé dans de l'eau distillée.
- \* EDTA (Ethylene Diamine Tetra acetic Acid) 1mg/ml, préparée dans de l'eau distillée.

## **2. METHODES**

### **2. 1. Extraction**

#### **2. 1. 1. Préparation de l'extrait éthanolique**

L'extraction est réalisée sur les rhizomes du gingembre sec. Pratiquement 20g de poudre sont bien remués dans 100ml d'éthanol, le mélange obtenu est laissé sous agitation pendant 48h. Le filtrat ainsi obtenu est concentré au rotavapor (Buchi) à 50°C puis lyophilisé (lyophilisateur Phywe chmisa).

#### **2. 1. 2. Préparation de l'extrait aqueux**

Après introduction de 20g de poudre de rhizomes séchés dans un ballon. 200ml d'eau distillée sont ajoutés et le mélange est bouilli pendant 20min. Le décocté obtenu est refroidi puis filtré, et le filtrat obtenu est lyophilisé, puis conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

### **2. 2. Activité anti-inflammatoire *in vivo***

#### **2. 2. 1. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris**

La capacité de l'extrait étudié à inhiber l'augmentation de la perméabilité vasculaire induite *in vivo* chez la souris par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique est évaluée dans cette étude. Le test est porté sur 24 souris (mâles Albinos, pesant entre 20 et 30g), réparties sur 4 groupes de 6 chacun.

\* Le premier groupe est traité avec 400mg/kg de l'extrait éthanolique du gingembre.

\* Le deuxième groupe est traité avec 400mg/kg de l'extrait aqueux du gingembre.

\* Le troisième groupe est traité avec 50mg/kg de l'indométhacin (anti-inflammatoire standard).

\* Le quatrième groupe (témoin) est traité avec du sérum physiologique (véhicule).

La perméabilité vasculaire est induite chez les souris selon la méthode de Kou et al. (2006). Chacun des quatre groupes a reçu un volume de 0,1ml soit de l'extrait aqueux ou éthanolique du gingembre ou de l'indométhacin ou du véhicule. Les solutions sont administrées aux souris, par voie orale (gavage). Une heure après le gavage les souris reçoivent une injection intra-veineuse de la solution du bleu d'évans (1%) et immédiatement après, l'inflammation est induite par l'injection intra péritonéale de la solution d'acide acétique (0,7%) à des volumes proportionnels au poids des souris (0,2 à 0,3ml).

Après 30 minutes, les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale, une petite incision au niveau de la ligne centrale au milieu de l'abdomen est pratiquée, et la cavité péritonéale est

lavée par injection de 2 à 3ml de sérum physiologique (selon le poids de la souris) suivie d'un massage doux de l'abdomen pendant 30s. Le liquide péritonéal est récupéré puis centrifugé à 1500 rpm pendant 10min. L'absorbance du surnageant est lue à 610nm contre un blanc (sérum physiologique).

Le pourcentage d'inhibition de la perméabilité est déterminé par rapport au résultat du groupe contrôle négatif (non traité) considéré comme le 100% de perméabilité, en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{NT} - A_T / A_{NT}) \times 100$$

$A_{NT}$  : Absorbance de groupe de souris non traité (reçu le véhicule).  $A_T$  : Absorbance de groupe de souris traitée (tests).

### 2. 2. 2. Œdème de l'oreille induit par le xylène

La capacité de l'extrait du gingembre à inhiber l'œdème de l'oreille induit *in vivo* chez la souris par l'application topique du xylène est évaluée dans cette étude. L'œdème de l'oreille est induit chez les souris selon la méthode de Hosseinzadeh et al. (2002), le test a porté sur 24 souris (mâles Albinos, pesant entre 20 et 30g), réparties sur 4 groupes de 6 chacun.

- \* Le premier groupe est traité avec 400mg/kg de l'extrait éthanolique du gingembre.
- \* Le deuxième groupe est traité avec 400mg/kg de l'extrait aqueux du gingembre.
- \* Le troisième groupe est traité avec 50mg/kg de l'indométhacin (anti-inflammatoire standard).
- \* Le quatrième groupe (témoin) est traité avec du sérum physiologique (véhicule).

Chacun des quatre groupes a reçu un volume de 0,1ml soit de l'extrait éthanolique ou aqueux du gingembre ou de l'indométhacin ou du véhicule. Les solutions sont administrées aux souris par voie orale (gavage). Une heure plus tard, les souris reçoivent une application topique de 0,03ml de xylène à l'aide d'une micropipette sur la surface antérieure de l'oreille droit. Après 30min, l'épaisseur des oreilles est déterminée à l'aide d'un pied à coulisse numérique. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est déterminé par rapport au résultat du groupe contrôle (témoin) considéré comme le 100% d'œdème en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (E_c - E_e / E_c) \times 100$$

$E_c$  : Moyenne de l'épaisseur de l'œdème du groupe témoin.  $E_e$  : Moyenne de l'épaisseur du groupe de souris traité (tests).

## **2. 3. Activité anti-oxydante *in vitro***

### **2. 3. 1. Test du DPPH**

L'évaluation de l'effet scavenger de l'extrait éthanolique du gingembre, envers le radical DPPH (1,1-Di Phényl Picryl Hydrazyl) est réalisée selon la méthode décrite par Que et al. (2006). Pratiquement, 2ml de la solution de DPPH (0,1mM) sont ajoutés à 2ml d'eau distillée contenant différents volumes d'acide ascorbique à 0.5mg /ml ou différents volumes d'extrait éthanolique étudié (gingembre 1mg/ml). Le contrôle est préparé de la même manière que les échantillons, sauf que l'échantillon est substitué par de l'eau distillée. Après 30min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 517nm contre un témoin. L'activité scavenger de l'extrait est exprimée en pourcentage d'inhibition est calculée selon la formule suivante :

$$\% \text{ Activité scavenger} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

**Ac** : Absorbance du contrôle. **Ae** : Absorbance de l'échantillon.

### **2. 3. 2. Activité antioxydante totale**

Dans cet essai, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique du gingembre est évaluée par l'auto oxydation de l'acide linoléique, selon la méthode décrite par Gulçin et al. (2005), à laquelle certaines modifications ont été apportées. Pratiquement, une émulsion est préparée en mettant dans un becher 0.028g d'acide linoléique, 0,028g tween20 et 10ml de solution tampon, le mélange est fortement agité à l'aide d'une micropipette de 5ml afin de former l'émulsion.

Des aliquotes de 600µl de cette émulsion sont immédiatement déposés dans des tubes contenant 600µl de la solution tampon (contrôle), ou 600µl de la solution BHT (150µl BHT + 450µl solution tampon) ou 600µl de l'extrait éthanolique du gingembre (15µl de l'extrait du gingembre + 585µl solution tampon).

La première lecture est faite après 15min d'incubation à 25°C et à l'obscurité ensuite les lectures se font chaque 24h pendant 96h, et ceci on mélange 1ml d'éthanol, 20µl thiocyanate de potassium (KCN), 20µl échantillon, 20µl FeCl<sub>2</sub>, après 3min, l'absorbance est lue à 500nm contre un blanc (éthanol). L'activité antioxydante est directement proportionnelle aux absorbances, et est exprimée en absorbance.

### **2. 3. 3. Chélation des métaux**

La capacité de l'extrait éthanolique du gingembre à fixer les ions Fe<sup>2+</sup> est évaluée par une méthode adaptée de celle rapportée par Le et al. (2007). Un volume de 500µl de l'extrait est

mélangé avec 100µl de FeCl<sub>2</sub> (0.6mM dans l'eau distillée) et 900µl de méthanol. Après 5min, 100µl de ferrozine sont ajoutés au milieu réactionnel, le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10min à température ambiante, permettant ainsi la complexation du fer résiduel et la formation d'un chromophore rouge (Fe(II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562nm. Le contrôle est préparé de la même manière en remplaçant l'échantillon par de l'eau distillée. Le pourcentage de l'activité de chélation de l'extrait éthanolique est calculé comme suit :

$$\% \text{ Chélation} : [(Ac-Ae)/Ac] *100$$

**Ac** : Absorbance du contrôle. **Ae** : Absorbance de l'échantillon

#### 2. 3. 4. Test β-carotène/acide linoléique

Dans cet essai, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique est évaluée par le système β-carotène/acide linoléique, selon la méthode décrite par Bougatef et al. (2009), à laquelle certaines modifications ont été apportées. Pratiquement, une émulsion est préparée en mettant dans un ballon 0.2g de tween40, 1ml de solution de β-carotène préparée dans du chloroforme, ce dernier est ensuite éliminé par évaporation rotative pendant 4min à 45°C à l'aide d'un rotavapor (Buchi). L'acide linoléique (25µl) et l'eau distillée (100 ml) sont en suite ajoutés au mélange, une forte agitation est appliquée pour former l'émulsion. Des aliquotes de 10ml de cette émulsion sont immédiatement déposés dans des tubes contenant 700µl d'eau distillée (contrôle), ou 450µl eau distillé et 250µl de la solution BHT ou 450µl eau distillé et 250µl de la solution de l'extrait éthanolique. Immédiatement après le dépôt de l'émulsion dans les tubes, l'absorbance des mélanges est mesurée à 490nm, c'est le temps zéro. Puis les tubes sont incubés dans un bain marie à 50°C pendant 2 heures, durant cette période l'absorbance est mesurée toutes les 15 minutes. Les lectures sont effectuées contre un blanc constitué de la même émulsion que celle du départ mais dépourvue de β-carotène et dans laquelle les échantillons sont remplacés par leurs solvants. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [1-(Aet- Ae0)/ (Act-Ac0)]*100$$

**Aet**: Absorbance de l'échantillon après 2 heures. **Ae<sub>0</sub>**: Absorbance de l'échantillon au temps 0.

**Act** : Absorbance du contrôle après 2 heures. **Ac<sub>0</sub>**: Absorbance du contrôle au temps 0.

# RESULTATS

## 1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

### 1. 1. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris

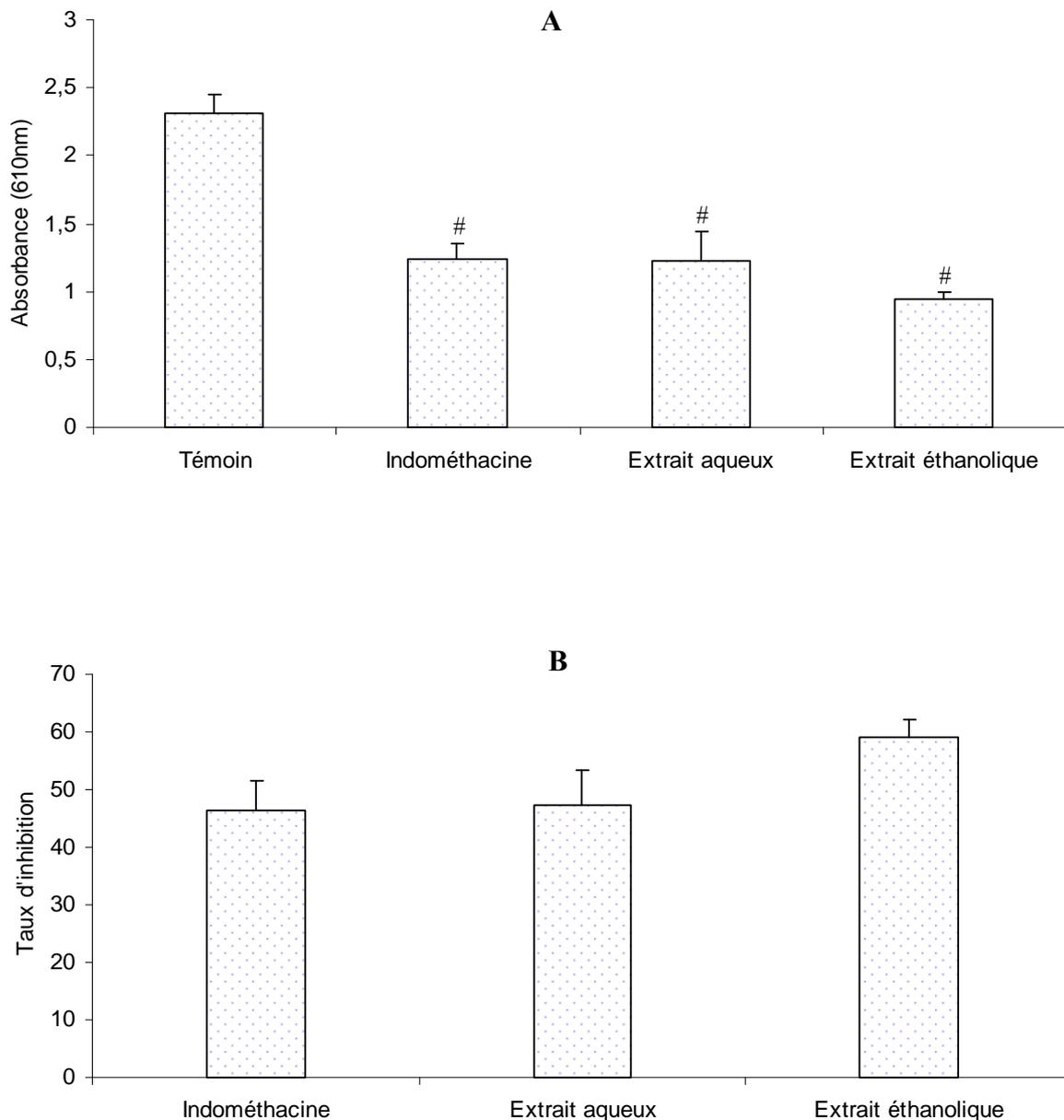
L'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre a été investigué sur des souris albinos. La perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique a été utilisée comme modèle d'inflammation aiguë. Laquelle est induite chez la souris par l'injection intra péritonéale d'une solution d'acide acétique 0,7% à des volumes proportionnels au poids des souris (0,2 à 0,3ml). Après 30 minutes, l'absorbance de l'exsudat récupéré de la cavité péritonéale de chaque souris est déterminée à 610nm.

Les souris du groupe non traité, qui ont reçu par voie orale 0,1ml de sérum physiologique (véhicule) une heure avant l'injection de l'acide acétique, ont développé au bout de 30 minutes une importante perméabilité vasculaire. Cette perméabilité est caractérisée par la formation d'un volume d'exsudat coloré en bleu (passage du bleu d'évans) dont l'intensité est mesurée à 610nm. L'absorbance obtenue est de  $2.3 \pm 0.13$  (Figure 10A).

Les souris du groupe traité oralement avec 50mg/kg d'indométhacine (anti-inflammatoire standard), une heure avant l'injection de l'acide acétique, ont donné une absorbance nettement inférieure à celle du groupe témoin avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ). En effet, l'absorbance de l'exsudat des souris de ce groupe récupéré, 30 minutes après l'induction de la perméabilité est de  $1.23 \pm 0.12$  seulement (figure 10A). Ainsi la perméabilité vasculaire a été réduite d'environ 47% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 10B).

Le traitement oral des souris avec 400mg/kg de l'extrait éthanolique ou aqueux du gingembre, une heure avant l'induction par l'acide acétique induit une nette atténuation de la perméabilité par rapport aux témoins ( $p \leq 0,01$ ). L'exsudat des souris traitées avec l'extrait éthanolique donne une absorbance très faible de  $0.94 \pm 0.05$  seulement (figure 10A). La perméabilité vasculaire a été ainsi réduite d'environ 60% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 10B).

L'extrait aqueux a engendré un effet comparable à celui de l'indométhacine. En effet, une absorbance de  $1.22 \pm 0.21$  a été obtenue avec l'exsudat récupéré de la cavité péritonéale des souris traitées avec l'extrait aqueux du gingembre (figure 10A). Ce qui correspond à un taux d'inhibition d'environ 47% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 10B).



**Figure 10.** Perméabilité vasculaire induite chez la souris par injection intra péritonéale de l'acide acétique. Les souris sont traitées oralement une heure avant l'induction de la perméabilité avec du sérum physiologique (groupe témoin) ou avec l'indométhacine (50mg/kg) ou l'extrait éthanolique ou aqueux du gingembre (400mg/kg). **A** : Les résultats sont exprimés en absorbances des exsudats récupérés de la cavité abdominale. **B** : Taux d'inhibition de la perméabilité vasculaire chez les souris traitées par rapport au groupe témoin considéré comme le 100% de perméabilité. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n=6). Groupe traité vs groupe témoin ; #  $p \leq 0,01$  (test t de student).

## 1. 2. Œdème de l'oreille induit par le xylène

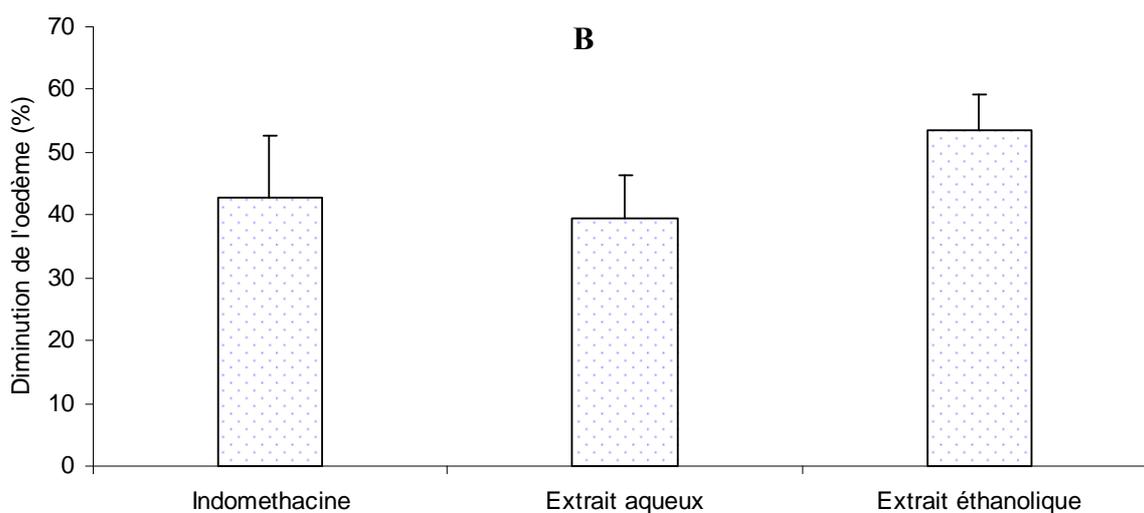
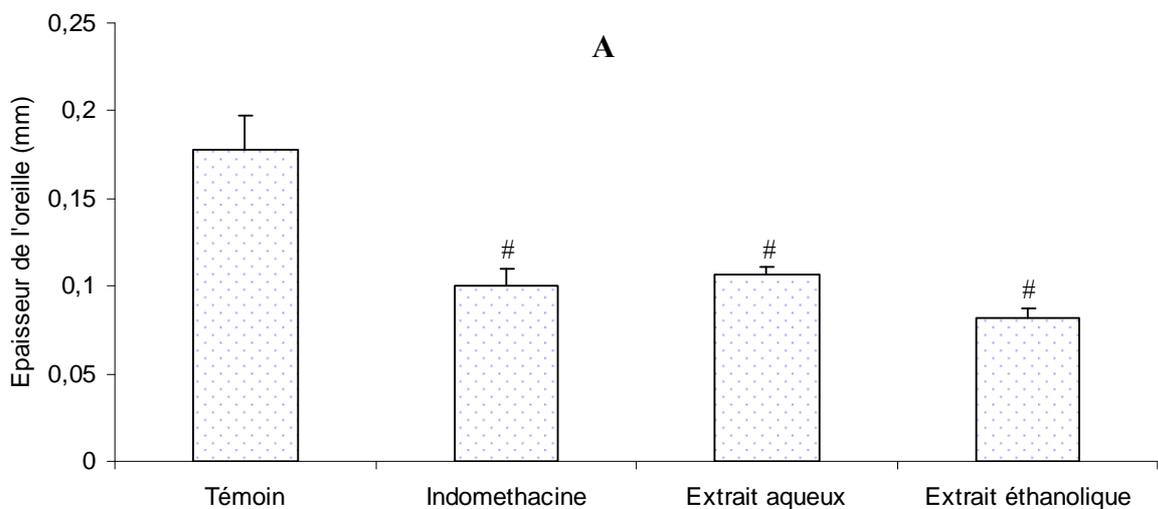
Le deuxième test utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre est celui de l'œdème de l'oreille de souris induit par le xylène. Ce modèle, consiste en l'application locale de 0,03ml de xylène pur sur l'oreille droite de la souris, qui après une heure provoque une inflammation caractérisée par le développement rapide d'un œdème, ce dernier atteint son maximum au bout d'une demi heure. La réponse œdémateuse est ensuite quantifiée par mesure de l'épaisseur du pavillon de l'oreille à l'aide d'un pied à coulisse numérique.

Les souris du groupe non traité, qui ont reçu par voie orale, 0,1ml de sérum physiologique (véhicule) une heure avant l'application du xylène, ont développé au bout de 30 minutes un œdème caractérisé par un gonflement du pavillon de l'oreille. L'épaisseur obtenue est de  $0.178 \pm 0.001$ mm (Figure 11A).

Les souris du groupe traité oralement avec 50mg/kg d'indométhacine (anti-inflammatoire standard) donnent une épaisseur nettement inférieure à celle du groupe témoin avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ). En effet l'épaisseur obtenue est de  $0.100 \pm 0.01$ mm seulement (figure 11A). L'œdème de l'oreille a été ainsi réduit d'environ 44% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 11B).

Le traitement oral des souris avec 400mg/kg d'extrait éthanolique ou aqueux du gingembre, avant l'induction de l'œdème, induit une nette atténuation de l'œdème par rapport aux témoins ( $p \leq 0,01$ ). En effet, l'oreille des souris traitées avec l'extrait éthanolique révèle une épaisseur de  $0,08 \pm 0,005$ mm seulement (figure 11A). L'œdème de l'oreille a été ainsi réduit d'environ 54% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 11B).

L'extrait aqueux du gingembre a engendré un effet très proche de celui de l'indométhacine. En effet, une épaisseur de  $0,106 \pm 0,004$ mm a été obtenue (figure 11A). Ce qui correspond à un taux d'inhibition de 40% par rapport aux souris du groupe témoin (figure 11B).



**Figure 11.** Œdème de l'oreille induit chez la souris par le xylène. Les souris sont traitées oralement une heure avant l'induction de l'œdème avec du sérum physiologique (groupe témoin) ou avec l'indométhacine (50mg/kg) ou l'extrait éthanolique ou aqueux du gingembre (400mg/kg). **A** : Épaisseur moyenne de l'oreille droit 30 min après l'application du xylène. **B** : Taux de diminution de l'épaisseur de l'oreille chez les souris traitées comparées avec le groupe témoin considéré comme le 100% de l'œdème. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n=6). Groupes traités vs groupe témoin ; #  $p \leq 0,001$  (test t de student).

## 2. Activité anti-oxydante *in vitro*

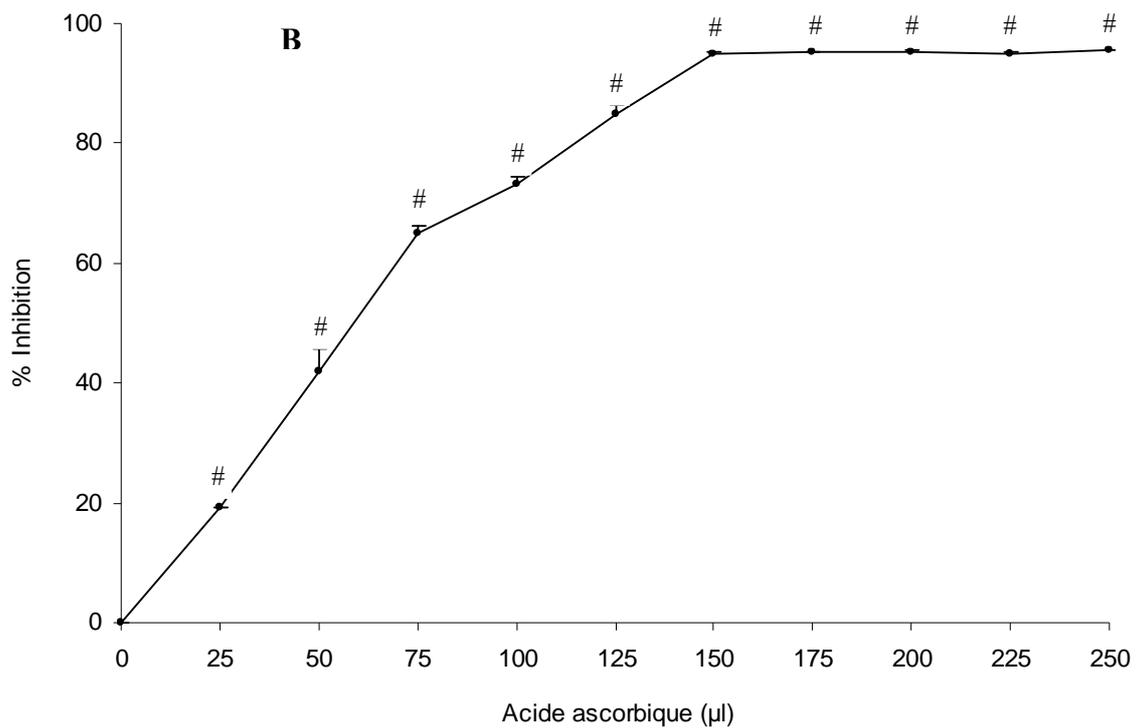
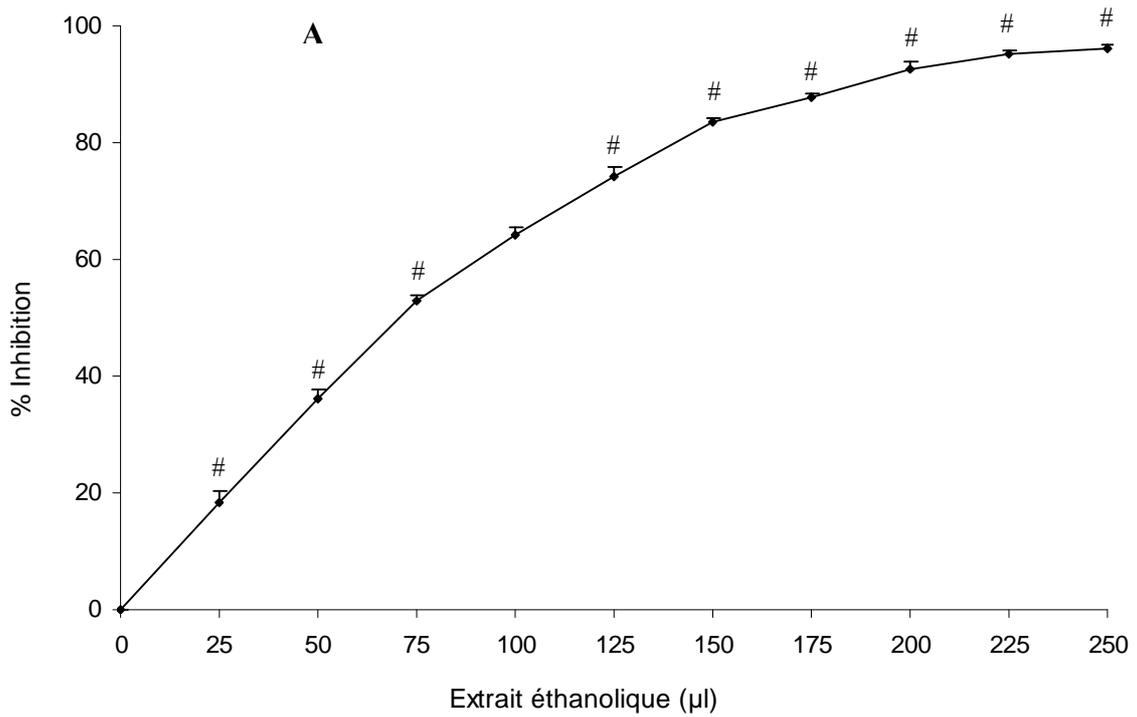
Pour les activités anti-oxydantes, notre étude se limitera à l'étude de l'extrait alcoolique, car l'étude de l'extrait aqueux a été réalisé dans notre laboratoire dans des études précédentes (non publiées) et seront utilisés pour discuter et comparer les résultats obtenus.

### 2. 1. Test du DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique du gingembre ou de l'acide ascorbique (antioxydant standard) est effectuée à l'aide du test du DPPH, qui est un radical de couleur violette intense. L'activité scavenger d'un antioxydant est indiquée par sa capacité à diminuer l'absorbance de la solution du DPPH à 517nm (virage de la coloration violette vers une coloration jaunâtre), conséquence de la réduction du radical DPPH.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique du gingembre présente une forte activité scavenger envers le radical DPPH. En effet, l'utilisation des différents volumes de l'extrait éthanolique du gingembre pris à partir d'une solution mère d'une concentration fixe (1mg/ml) donne une activité scavenger dose dépendante. La pente de la courbe est très grande et ne commence à se stabiliser qu'à partir du point 175 $\mu$ l, où on constate que la pente atteint son minimum (figure 12). L'extrait étudié a donné un pourcentage d'inhibition maximal d'environ 96% par rapport au contrôle positif ( $p \leq 0,01$ ).

L'analyse des résultats obtenus révèle une  $IC_{50}$  égale à 23 $\mu$ g/ml ce qui correspond à un volume de 90 $\mu$ l de la solution d'extrait éthanolique obtenu en utilisant la formule  $y = 0,3803x + 15,639$ , cette valeur est assez proche de celle de l'acide ascorbique qui est de 18,5 $\mu$ g/ml soit un volume de 73 $\mu$ l obtenu en utilisant la formule  $y = 0,3722x + 22,555$ .



**Figure 12.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre sur l'oxydation du DPPH (A) extrait éthanolique. (B) acide ascorbique. Les résultats sont présentés en pourcent d'inhibition de l'oxydation du DPPH, par rapport au contrôle positif, considéré comme le 100% d'oxydation. Chaque point représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=3). vs contrôle positif, Acide ascorbique vs contrôle positif ; # $P \leq 0.01$  (test t de Student).

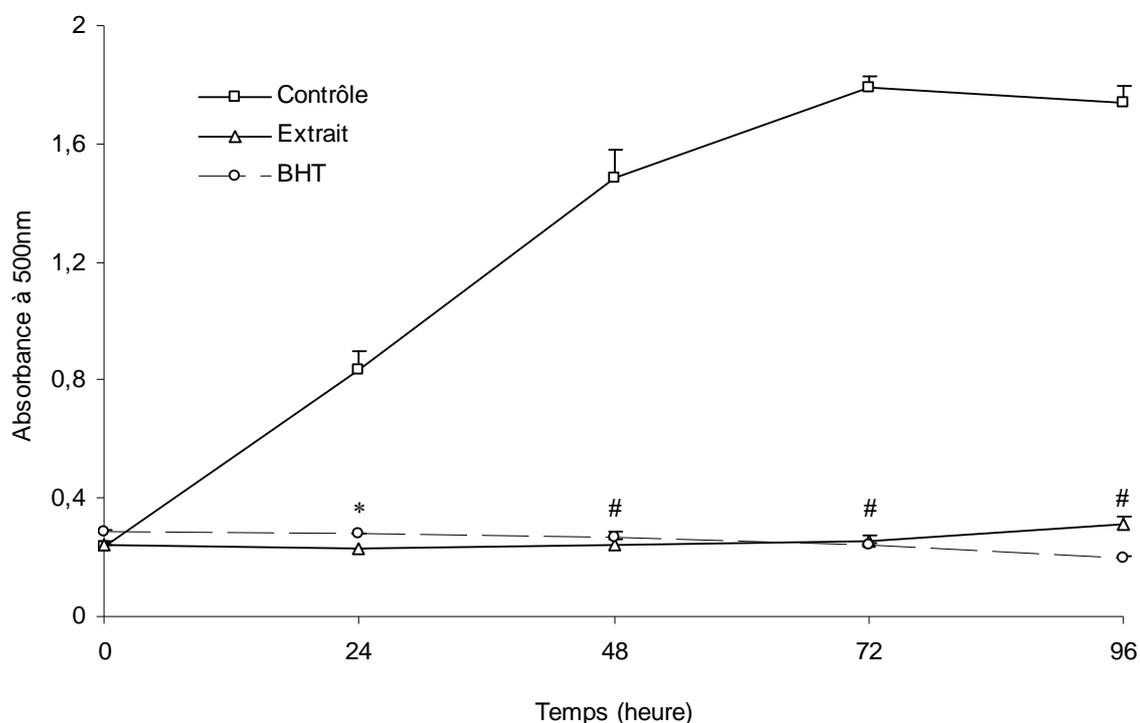
## 2. 2. Activité antioxydante totale

L'activité antioxydante totale de l'extrait éthanolique du gingembre est déterminée par le test du thiocyanate ferrique qui détermine la quantité de peroxyde produit au cours des premières étapes de la peroxydation lipidique. L'absorbance obtenue est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique à un volume de 15 $\mu$ l seulement pris à partir d'une solution mère avec une concentration de 1mg/ml présente une forte activité anti-oxydante totale. La peroxydation lipidique est fortement atténuée après 24h ( $p \leq 0,05$ ), cet effet s'accroît encore plus après 48h ( $p \leq 0,01$ ) par rapport au contrôle positif avec des absorbances de  $0,226 \pm 0,005$  et  $0,243 \pm 0,018$  respectivement (figure 13).

La figure 13, montre que l'absorbance obtenue avec l'extrait éthanolique du gingembre et le BHT sont très faibles par rapport au contrôle positif ce qui présente une bonne activité antioxydante, cette activité reste stable pendant 96h.

Pour en plus en absence d'un antioxydant (contrôle positif) l'absorbance augmente rapidement, et passe de 0,835 après 24h, à 1,787 après 72h (figure 13).



**Figure 13.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre sur la peroxydation lipidique (acide linoléique). Les résultats sont présentés en absorbances, par rapport au contrôle positif, considéré comme l'absorbance maximale. Chaque point représente la moyenne  $\pm$  SEM ( $n=3$ ). Extrait éthanolique vs contrôle positif, BHT vs contrôle positif ; \* $P \leq 0,05$  ; # $P \leq 0,01$  (test t de Student).

### 2. 3. Chélation des métaux

L'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique du gingembre est mesurée par le test du ferrozine qui détermine la complexation du fer résiduel et la formation d'un chromophore rouge (Fe(II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562nm, L'activité d'un antioxydant est indiquée par sa capacité de diminuer l'absorbance à 562nm qui est due à la réduction du complexe Fe(II)-Ferrozine.

Les différents volumes utilisés de l'extrait éthanolique du gingembre (25 à 200µl) pris à partir d'une solution mère avec une concentration de 1mg/ml ont provoqué une inhibition de la complexation d'une manière non significative par rapport au contrôle positif, considéré comme le 100% de la complexation. Les résultats obtenus montrent une très faible activité de chélation en fonction de la dose, l'inhibition maximale est d'environ 9% obtenue avec le volume maximal utilisé (figure 14A), ainsi l'absorbance reste élevée et stable malgré l'augmentation des volumes de l'extrait (figure 14B).

Par contre les mêmes volumes d'EDTA (chélateur standard) pris d'une solution mère avec la même concentration, induisent une forte activité inhibitrice de la complexation. Les différences par rapport au contrôle positif sont hauts significatifs ( $p \leq 0,01$ ). Cette inhibition est dose dépendante jusqu'au volume de 100µl qui présente une inhibition maximale de 95% par rapport au contrôle positif, après ce point l'inhibition se stabilise (figure 14A, 14B).



## 2. 4. Test $\beta$ -carotène/acide linoléique

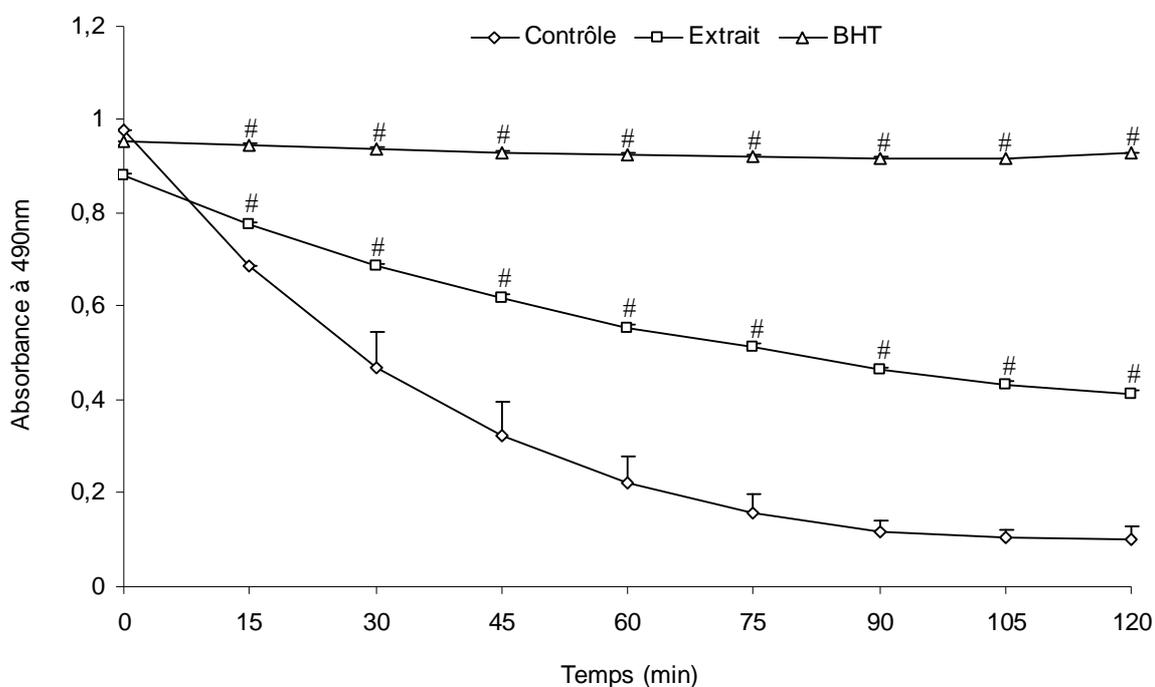
Le test du  $\beta$ -carotène/acide linoléique détermine l'oxydation du  $\beta$ -carotène par le peroxyde d'hydrogène produit au cours des premières étapes de la peroxydation lipidique. Cette oxydation aboutie à une décoloration du  $\beta$ -carotène, et l'absorbance mesurée sera proportionnelle à l'activité antioxydante.

L'extrait éthanolique du gingembre à un volume de 250 $\mu$ l pris d'une solution mère avec une concentration de 1mg/ml donne des absorbances significative ( $p \leq 0,05$ ) plus faibles que celle du contrôle positif considéré comme le 100% de la diminution.

Ainsi au temps 0, l'absorbance de l'échantillon est de  $0,882 \pm 0,003$  cette dernière diminue après 2h jusqu'à  $0,412 \pm 0,009$ , ce qui correspond à une inhibition d'environ 46% par rapport au contrôle positif (figure 15).

Cette activité du gingembre reste significativement inférieure par rapport à celle du BHT, qui donne une inhibition de 97% avec une absorbance de  $0,953 \pm 0,01$  au temps 0 et  $0,928 \pm 0,002$  après 2h (figure 15) par rapport au contrôle positif.

Par contre, en absence d'une substance antioxydante (contrôle positif) l'absorbance est diminué rapidement (décoloration rapide) et passe de  $0,976 \pm 0,002$  au temps 0 à  $0,102 \pm 0,028$  après 2h (figure 15).



**Figure 15.** Effet de l'extrait éthanolique du gingembre et du BHT sur la peroxydation lipidique. Les résultats sont exprimés en absorbances de  $\beta$ -carotène, par rapport au contrôle positif, considéré comme l'absorbance minimale. Chaque point représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=3). Extrait éthanolique vs contrôle positif, BHT vs contrôle positif ; # $P < 0,01$  (test t de Student).

# DISCUSSION

## 1. Action anti-inflammatoire in vivo

La perméabilité vasculaire induite chez la souris par l'injection intra péritonéale de l'acide acétique est un modèle standard et pratique, largement utilisé pour l'évaluation des propriétés anti-inflammatoires de différents agents (Okoli et al., 2006).

Le test est utilisé pour évaluer l'activité inhibitrice de l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre contre une augmentation de la perméabilité vasculaire qui est une caractéristique physiologique d'un tissu vascularisé lors d'une agression, dans laquelle se libèrent dans le foyer inflammatoire des médiateurs de l'inflammation, tels que l'histamine, les leucotriènes, les prostaglandines, l'interleukine-1 et d'autres médiateurs d'inflammation, suite à une stimulation des mastocytes (Okoli et al., 2006). Sous l'influence de ces médiateurs, les cellules endothéliales modifient leur cytosquelette, ce qui leur permet de se rétracter, donnant lieu à de fines ouvertures intercellulaires (Rankin, 2004). Ce qui conduit par suite à la dilatation des artérioles et des veinules, à cet effet, le débit local augmente et la perméabilité capillaire est exacerbée, ce qui explique l'extravasation du fluide connu sous le terme d'exudat qui est riche en médiateurs inflammatoires, en anticorps, en composants du complément et en différentes protéines plasmatiques (Regnault, 1992 ; Rankin, 2004 ; Okoli et al., 2006 ; Jeon et al., 2007).

La paroi vasculaire qui devient ainsi perméable, laisse échapper du liquide plasmatique dans le milieu interstitiel, causant ainsi un enflamment local (Giraudet et al., 1984). Où cette exsudation plasmatique contribue à enrichir le milieu extravasculaire en facteurs destinés à entretenir et à amplifier la réponse inflammatoire (Regnault, 1992).

En effet, il a été rapporté que l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre sont capables de réduire l'inflammation aiguë induite chez l'animal par l'acide acétique (Matsuda et al., 2002 ; El-abhar et al., 2008).

Certaines études ont montré que l'extrait éthanolique atténue efficacement le développement de l'inflammation du colon induite par l'acide acétique chez le rat (El-abhar et al., 2008). Il est généralement admis que l'atténuation de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique peut être due à la réduction de la production de médiateurs pro inflammatoires (Lantz et al., 2007).

Il a été rapporté que l'extrait organique et aqueux du gingembre inhibent par leurs composants actifs [le gingerol (6-8-10 gingerols) et ses dérivées (6-8-10 shogaols et paradols)] la production du LTB<sub>4</sub> (leucotriène B<sub>4</sub>) et de la PGE<sub>2</sub> (prostaglandine E<sub>2</sub>) par les neutrophiles humains (Koo et al., 2001 ; Thomson, 2002 ; Faivre et al., 2006 ; Lantz et al., 2007). Le gingerol et

le shogaol inhibent principalement l'activité de la 5-lipoxygénase et de la cyclooxygénase, enzymes catalysant la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines respectivement à partir de l'acide arachidonique (Thomson, 2002 ; Setty et Sigal, 2005 ; Faivre et al., 2006 ; Shukla et Singh, 2006).

Il est admis aussi que le [6]-gingerol et le [6]-paradol possèdent une forte activité anti-inflammatoire, ils sont capables à inhiber la production des cytokines pro inflammatoire tel que le TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor) et ceci via l'inhibition de l'expression du gène (Setty et Sigal, 2005 ; Shukla et Singh, 2006 ; Tripathi et al., 2006 ; El-abhar et al., 2008). Certaines études ont également prouvé que le [6]-gingerol présent dans l'extrait aqueux (Koo et al., 2001 ; Ahui et al., 2008) et hydroalcoolique du gingembre est pourvue de propriétés anti-histaminiques, en inhibent la formation de l'œdème induit chez le rat par l'histamine et la sérotonine (Matsuda et al., 2002 ; Penna et al., 2003). Sachant que l'histamine, la sérotonine et les eicosanoïdes augmentent le flux sanguin local et la perméabilité vasculaire induisant l'exsudation plasmatique et la formation d'un œdème (Rankin, 2004).

Le principal promoteur de la réponse pro inflammatoire est le facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B) (adrie et pinsky, 2000). Lee et ses collaborateurs (2009) ont prouvé que le 6-gingerol majeur constituant du gingembre est capable d'inhiber fortement l'expression des gènes pro-inflammatoire et la production des médiateurs inflammatoires comme le NO (nitric oxide) par la répression de l'activité de NF- $\kappa$ B.

Le 6-gingerol est aussi capable de diminuer l'expression des iNOS (inducible nitric oxide synthase), TNF $\alpha$  et IL-10 en bloquant la voie de signalisation de la PKC- $\alpha$ , activateur de NF- $\kappa$ B et cela par la suppression de la phosphorylation de la sous unité inhibitrice (I- $\kappa$ B $\alpha$ ) (Lee et al., 2009).

Dans le deuxième modèle de l'inflammation aigue, l'œdème de l'oreille induit par le xylène est appliqué sur des souris albinos, où l'application du xylène induit un œdème neural qui se produit en réponse à une stimulation des neurones sensoriels qui sécrètent des pro-inflammatoires neuro-péptidiques tels que la substance P, qui est un undecapeptide de la famille des tachykinines, il est largement distribué dans le système nerveux central et périphérique et en peut le trouver aussi dans les cellules endothéliales, les cellules inflammatoires, les fibroblastes, il fonctionne comme un neuro-transmetteur ou neuro-modulateur dans divers processus physiologiques (Nessler et al., 2006). Généralement il aboutit à la localisation de la vasodilatation et à l'extravasation de l'exsudat (Fulzele et al., 2007).

La substance P agit directement sur les NK-1R (neurokinin-1 receptor) existant dans les différents types de cellules immunitaires, les cellules endothéliales vasculaires. Elle est libérée par les neurones dans le cerveau moyen, en réponse au stress et aux dommages tissulaires pour vue de réguler les fonctions immunitaires, mais elle est capable d'induite plusieurs réponses

inflammatoires. Elle est capable aussi de faciliter la neurotransmission dopaminergique des neurones sensoriels de la moelle épinière en réponse à des stimuli nocifs où il stimule les neurones dorsaux. Dans la périphérie, la libération de la substance P des neurones sensoriels cause une libération des médiateurs de l'inflammation (Hosseinzadeh et al., 2002), une vasodilatation et d'une extravasation d'exsudat suggérant son rôle dans l'inflammation neuronique. Ainsi, il peut provoquer le gonflement de l'oreille chez la souris (Maggi, 1997 ; Nessler et al., 2006). Il s'agit du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses d'un liquide appelé exsudat contenant de l'eau et des protéines plasmatiques, se qui conduit à un gonflement des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, déclenche de la douleur (également provoquée par certains médiateurs chimiques) (Giraudet et al., 1984).

L'effet des extraits du gingembre sur l'œdème de l'oreille induit chez la souris par le xylène n'a pas fait l'objet d'études antérieures.

Les résultats apportés par la présente étude montrent que les extraits, éthanolique et aqueux du gingembre possèdent un effet anti-œdémateux est pourvu d'un effet anti-inflammatoire important qui est probablement dû à la combinaison entre les différents effets de la diminution de la perméabilité vasculaire, l'inhibition de la libération des médiateurs pro-inflammatoire et la migration des neutrophiles (Okoli et al., 2006).

Penna et ses collaborateurs (2003) ont illustré que l'extrait alcoolique du gingembre est capable d'inhiber la libération de la sérotonine et l'histamine par un mécanisme d'antagonisme sur les récepteurs spécifiques.

Certaines études ont également prouvé que l'extrait éthanolique du gingembre est capable d'empêcher l'ulcère gastrique induit par le stress ou l'alcool par l'inhibition probable de la production des eicosanoïdes et le blocage de l'infiltration des neutrophiles vers le site de l'inflammation (Aimbire et al., 2007). L'atténuation de l'œdème de l'oreille induit par le xylène peut être aussi due à la réduction de la production du leucotriène, prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) et du thromboxane B<sub>4</sub>, cette inhibition serait due principalement à la répression de l'activité de la 5-lipooxygénase et de la cyclooxygénase, enzymes catalysant la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines respectivement à partir de l'acide arachidonique par le gingerol et le dehydroparadol (Aimbire et al., 2007 ; Lantz et al, 2007).

## 2. Action anti-oxydante in vitro

L'activité antioxydante exprime le pouvoir de réduction des ROS. La capacité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique du gingembre est réalisée par le test du DPPH, ce radical libre est caractérisé par une coloration violette intense, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la couleur vire vers le jaune, l'intensité de coloration témoigne de la puissance de la substance anti-radicalaire (Duan et al., 2004).

Nos résultats montrent que le gingembre présente un très bon pouvoir anti-radicalaire DPPH, ceci est confirmé par la bibliographie, en effet, Stoilova et ses collaborateurs (2007) ont trouvés que les oléoresines présents dans l'extrait de CO<sub>2</sub> du gingembre (20µg/ml) possèdent une très bonne capacité scavenger de 90% avec une IC50 de 0,64µg/ml.

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

D'autres études ont prouvées que l'activité scavenger du radical DPPH des huiles essentielles et des oléorésines est due principalement au groupe hydroxyle phénolique libre présent dans l'anneau phénylique de gingerdiol et le groupe dimethoxy présent dans l'anneau phénylique de gingerol et de shogaol qui donnent un atome d'hydrogène et par conséquent transforment le radical DPPH sous sa forme non radicalaire DPPH-H (Sekiwa et al., 2000).

L'effet antioxydant total de l'extrait éthanolique du gingembre est déterminé à l'aide du test du thiocyanate ferrique, où l'oxydation de l'acide linoléique produise le peroxyde d'hydrogène qui oxyde le fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) et forme les ions ferriques (Fe<sup>3+</sup>), ces derniers font un complexe avec le thiocyanate qui a une coloration rouge, l'effet antioxydant se caractérise par une diminution de l'intensité de la couleur (Gülçin et al., 2004). Un autre test est utilisé pour évaluer l'effet antioxydant qui est le système β-carotène/acide linoléique, où l'auto-oxydation de l'acide linoléique produise le peroxyde d'hydrogène qui oxyde cette fois ci le β-carotène. Le principe de ce test est similaire à celui de l'effet antioxydant total sauf que L'effet antioxydant est proportionnel à la couleur du β-carotène (Bandyopadhyay et al., 2007).

Dans la présente étude, l'extrait éthanolique du gingembre a donné un effet antioxydant puissant, résultats qui sont en accord avec ceux rapportés auparavant par Singh et ses collaborateurs (2008) qui ont utilisé les huiles essentielles et les oléoresines extraites par l'éthanol

et d'autres solvants à partir du gingembre pour inhiber l'auto oxydation lipidique et la formation du peroxyde d'hydrogène à l'étape initiale.

Certaines études ont également montrés que le gingerol prévient potentiellement l'oxydation lipidique, cette prévention est principalement due a la présence du groupe  $\beta$ -hydroxycetonique dans leur structure (Bandyopadhyay et al., 2007).

L'inhibition de la peroxydation lipidique par le gingerol, constituant majeur de l'extrait éthanolique du gingembre a été étudiée sur plusieurs plantes de la famille de *Zingiberaceae* (Habsah et al., 2000). Les résultats de ces travaux, confirment que le gingembre bloque significativement la peroxydation lipidique induite in vivo chez le rat est élèvent le niveau de production des enzymes antioxydantes (Nicoll et Henein, 2007).

Un tel résultat a été rapporté par Bandyopadhyay et ses collaborateurs (2007) qui ont montré que l'extrait aqueux du gingembre inhibe fortement (90%) l'oxydation du  $\beta$ -carotène comparativement au BHT et au BHA (antioxydants standard) cette inhibition est probablement due à la présence de composants actifs tels que le gingerol, le curcumin, le shogaol,...etc, qui sont capables d'inhiber la péroxydation lipidique.

Singh et ses collaborateurs (2008) ont aussi prouvés que les huiles essentielles et les oléorésines présents dans l'extrait éthanolique du gingembre inhibent fortement l'auto oxydation lipidique. Il est important de rappeler que La péroxydation lipidique joue un rôle important dans la production des ROS, comme le peroxyde d'hydrogène. Des études précédents réalisées in vivo chez le rat ont prouvés que l'utilisation de la poudre du gingembre (5%) en mélange avec l'aliment réduit la péroxydation lipidique et le stress oxydant est augmente le taux de production des antioxydants plasmatiques (Afshari et al., 2006).

Le pouvoir de chélation des métaux de l'extrait éthanolique du gingembre est déterminé par le test de la ferrozine, dans lequel la complexation entre le fer résiduel et la ferrozine forme un chromophore rouge, le virage de la coloration rouge vers une solution transparente indique l'activité de chélation du fer résiduel (Gülçin et al., 2004).

L'analyse des résultats obtenus avec l'extrait éthanolique du gingembre montre que son effet sur la chélation des métaux est très faible voire même négligeable par rapport à l'EDTA (chélateur standard). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Hinneburg et ses collaborateurs (2005), ces derniers ont prouvé que l'extrait aqueux du gingembre présente un très faible effet chélateur. Il est fort probable que l'extrait éthanolique du gingembre ne possède pas de principes actifs doués d'activité chélatrice.

En conclusion, les résultats obtenus avec l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre prouvent que les deux extraits possèdent une forte activité anti- inflammatoire et antioxydante. La perméabilité vasculaire et l'œdème de l'oreille qui sont les modèles utilisés pour évaluer leurs capacités anti-inflammatoires sont fortement réduits par les deux extraits, probablement en agissant par plusieurs mécanismes plus essentiellement l'inhibition de métabolisme de l'acide arachidonique et la production des prostaglandines et des leucotriènes et l'inhibition de la libération de la sérotonine et de l'histamine.

Quant à l'activité antioxydante l'étude s'est limitée à l'extrait alcoolique, car l'étude de l'extrait aqueux a été réalisée dans notre laboratoire dans des études précédentes (non publiées), où on a trouvé que cet extrait possède une très bonne activité scavenger de radical DPPH, comme il peut inhibe la peroxydation lipidique.

## Conclusion générale

Dans cette étude, les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre sont évaluées *in vivo* sur des souris Albinos. Cependant, les activités anti-oxydantes sont réalisées *in vitro* et sont limitées à l'étude de l'extrait éthanolique, car l'étude de l'extrait aqueux a été réalisée dans des études précédentes.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique et aqueux du rhizome du gingembre sont de bons anti-inflammatoires. Cette activité est prouvée par les tests de la perméabilité vasculaire induite chez la souris par l'injection intra péritonéale de l'acide acétique et de l'œdème de l'oreille induit aussi chez la souris par l'application local du xylène prouvent que l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre possèdent des propriétés anti-inflammatoires très intéressantes comparativement à l'anti-inflammatoire standard.

L'inhibition de la perméabilité vasculaire et l'œdème de l'oreille de l'extrait éthanolique et aqueux du gingembre obtenu est due probablement à l'inhibition de l'activité de la 5-lipooxygénase et de la cyclooxygénase, enzymes catalysant la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines respectivement à partir de l'acide arachidonique et les autres pro inflammatoires tels que la sérotonine et l'histamine par les oléoresines non volatiles présents dans ces deux extraits.

Le pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique du gingembre est intéressant comparativement aux antioxydants standard qui est capable d'inhiber la peroxydation lipidique et réduire les radicaux libres responsable en leurs donnent des atomes d'hydrogènes. Cependant, le pouvoir chélateur des métaux de cet extrait est très faible.

L'action inhibitrice des oléorésines pures sur la production des médiateurs pro-inflammatoires et des radicaux libres étant confirmée l'approche génétique qui permet d'études d'expression des gènes pro-inflammatoires et pro-oxydants et une bonne piste.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adrie A and Pinsky MR (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med.* **26**, 364 -375.
- Aggarwal BB and Shishodia S (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol.* **71**, 1397 -1421.
- Ahui MLB, Champy P, Ramadan A, Van LP, Araujo L, André KB, Diem S, Damotte Kati-Coulibaly S, Offoumou MA, Dy M, Thieblemont N and Herbelin A (2008). Ginger prevents The-mediated immune responses in a mouse model of airway inflammation. *Int Immunopharmacol.* **8**, 1626 -1632.
- Aimbire F, Penna SC, Rodrigues M, Rodrigues KC, Lopes-Martins RAB and Sertie JAA (2007). Effect of hydroalcoholic extract of *Zingiber officinalis* rhizomes on LPS-induced rat airway hyperreactivity and lung inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, article in press.
- Allais D (2009). Le Gingembre. *Actual Pharm.* **(483)**, 53 -54.
- Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging (cancer/mutation/endogenous DNA adducts/oxygen radicals). *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90**, 7915 -7922.
- Anzai T, Yashikawa T, Kaneko H, Maekawa Y, Iwanag S, Asakura Y and Ogawa S (2004). Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombus formation after anterior myocardial infarction. *Chest.* **125**, 384-389.
- Atawodi SE (2004). Antioxidant potential of African medicinal plants. *Afr J Biotechnol.* **4 (2)**, 128 -133.
- Babior BM., Lambeth JD and Nauseef W (2002). The neutrophil NADPH Oxidase. *Arch Biochem Biophys.* **397**, 342 -344.
- Bai J and Cederbaum AI (2001). Mitochondrial catalase and oxidative injury. *Biol Signals recept.* **10 (3-4)**, 189 -199.
- Bandyopadhyay M, Chakraborty R and Raychaudhuri U (2008). Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. *Food Sci Technol.* **41**, 816 -825.
- Bartosz, G (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comm Toxicol.* **9**, 5 -21.
- Beani JC (1995). Actions biologiques du rayonnement solaire sur la peau. *Rev Int Pédi.* **259**, 2 -7.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA and Freeman BA (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury

- from nitric oxide and superoxide (endothelium-derived relaxing factor/desferrioxamine/ischemia/superoxide dismutase). *Proc Natl Acad Sci U S A.* **87**, 1620-1624.
- Bernhardt R (1996). Cytochrome P<sub>450</sub>: Structure, function and generation of reactive oxygen species. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* **127**, 137-221.
- Bhatia M, Sidhapuriwala J, Moochhala SM and Moore PK (2005). Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat. *Br J Pharmacol.* **145**, 141-144.
- Blake DR, Bodamyali T, Stevens CR and Winyard PG (2000). Inflammation. In *Free radicals and inflammation*. Winyard PG, Blake DR and Evans CH Eds, Birkhäuser (Berlin), pp: 11-17.
- Bonnefont-Rousselot D (2004). Gamma radiolysis as a tool to study lipoprotein oxidation mechanisms. *Biochimie.* **86**, 903-911.
- Borregaard N and Cowland JB (1997). Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. *Blood.* **89**, 3503-3521.
- Botting RM and Botting JH (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clin Drug Investig.* **19**, 1-7.
- Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y and Nasri M (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem.* **114**, 1198-1205.
- Bourke E and Moynagh PN (1999). Antiinflammatory Effects of Glucocorticoids in Brain Cells, Independent of NF- $\kappa$ B. *J Immunol.* **163**, 2113-2119.
- Bredt DS (2003). Nitric oxide signalling specificity – the heart of the problem. *J Cell Sci.* **116**, 9-15.
- Bruijn LI, Beal MF, Becher MW, Schulz JB, Wong PC, Price DL and Cleveland DW (1997). Elevated free nitrotyrosine levels, but not protein-bound nitrotyrosine or hydroxyl radicals, throughout amyotrophic lateral sclerosis (ALS)-like disease implicate tyrosine nitration as an aberrant in vivo property of one familial ALS-linked superoxide dismutase 1 mutant (nitration/oxidation). *Proc Natl Acad Sci U S A.* **94**, 7606-7611.
- Brunneton J (1999). Gingembre, *Zingiber officinalis* Roscoe. In *Pharmacognosie*, 3ème édition, Technique et Documentation, (Paris), pp: 299-301.
- Burton GW, Traber MG, Acuff RV, Walters DN, Kayden H, Hughes L and Ingold KU (1998). Human plasma and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr.* **67**, 669-684.

- Butterfield DA, Howard BJ, Yatin S, Allen KL and Carney JM (1997). Free radical oxidation of brain proteins in accelerated senescence and its modulation by N-tert-butyl-a-phenylnitron (aging membrane proteins anti-aging agents). *Am J Clin Nutr.* **94**, 674 -678.
- Carty JL, Bevan R, Waller H, Mistry N, Cooke M, Lunec J and Griffiths HR (2000). The Effects of Vitamin C Supplementation on Protein Oxidation in Healthy Volunteers. *Biochem Biophys Res Commun.* **273**, 729 -735.
- Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S and Hoppel CL (2003). Production of reactive oxygen species by mitochondria. Central role of complex III. *J Biol Chem.* **278**, 36027 -36031.
- Dallegri F and Ottonello L (1997). Tissue injury in neutrophilic inflammation. *Inflamm Res.* **10**, 382-391.
- del Rio LA, Corpas FJ, Sandalio LM, Corpas FJ, Pastori GM, Bueno P and Lopez-Huertas E (1996). Peroxisoms as a source of superoxide and hydrogen peroxide in stressed plants. *Biochem Soc Trans.* **24**, 434 -438.
- Diegelman RF and Evans MC (2004). Wound healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* **9**, 283 -289.
- Donovan CE, Mark DA, He HZ, Liou HC, Kobzik L, Wang Y, Sanctis GTD, Perkins DL and Finn PW (1999). NF- $\kappa$ B/Rel Transcription Factors: c-Rel Promotes Airway Hyperresponsiveness and Allergic Pulmonary Inflammation. *J Immunol.* **163**, 6827 -6833.
- Dray A (1995). Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaesth.* **75**, 125- 131.
- El-Abhar HS, Hammad LNA and Abdel Gawad HAS (2008). Modulating effect of ginger extract on rats with ulcerative colitis. *J Ethnopharmacol.* **118**, 367 -372.
- Faivre CI, Lejeune R, Staub H and Goetz P (2006). *Zingiber officinale* Roscoe. *Rev Phytother.* **2**, 99 -102.
- Favier A (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual Chim.* 108 -115.
- Fridovich I (1970). Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem.* **231**, 899 -911.
- Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R and Aviram M (2000). Ginger Extract Consumption Reduces Plasma Cholesterol, Inhibits LDL Oxidation and Attenuates Development of Atherosclerosis in Atherosclerotic, Apolipoprotein E-Deficient Mice. *J Nutr.* **130**, 1124 -1131.
- Fulzele SV, Babu RJ, Ahaghotu E and Singh M (2007). Estimation of proinflammatory biomarkers of skin irritation by dermal microdialysis following exposure with irritant chemicals. *Toxicology.* **237**, 77 -88.

- Fürst S (1999). Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain research bulletin*. **48 (2)**, 129 -141.
- Gao Z, Huang K and Xu H (2001). Protective effect of flavonoids in the roots of *Scutellaria Baicalensis Georgia* against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. *Pharmacol Res*. **43(2)**, 173 -178.
- Georgetti SR, Casagrande R, Mambro VM, Azzolini A and Fonseca M (2003). Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS J*. **5 (2)**, 1 -5.
- Ghayur MN, Gilani AH, Afridi MB and Houghton PJ (2005). Cardiovascular effects of ginger aqueous extract and its phenolic constituents are mediated through multiple pathways. *Vascul Pharmacol*. **43**, 234 -241.
- Ghedira K (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytother*. **4**, 162 -169.
- Ghibu S, Richard C, Delemasure S, Vergely C, Mogosan C and Muresan A (2008). An endogenous dithiol with antioxidant properties: Alpha-lipoic acid, potential uses in cardiovascular diseases. *Ann Cardiol Angeiol*. **57**, 161 -165.
- Giraudet P, Faure A and Frot J (1984). La phase d'amplification de la réaction inflammatoire. In *La réaction inflammatoire : Physiologie et exploration clinique*, Vigot, (Paris), pp: 56 - 106.
- Gompertz S and Stockley RA (2000). Inflammation-Role of neutrophil and eosinophil. *Semin Respir Infect*. **15**, 14 -23.
- Gopalakrishna R and Anderson W (1989). Ca<sup>2+</sup> - and phospholipid-independent activation of protein kinase C by selective oxidative modification of the regulatory domain (oxygen radicals/Ca<sup>2+</sup>-dependent regulation/phorbol esters/protein phosphorylation/signal transduction). *Proc Natl Acad Sci U S A*. **86**, 6758 -6762.
- Grant RA, Filman DJ, Finkel SE, Kolter R and Hogle JM (1998). The crystal structure of Dps, a ferritin homolog that binds and protects DNA. *Nat Struct Biol*. **5 (4)**, 294 -303.
- Gülçin I, Alici HA and Cesur M (2005). Determination of in Vitro Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. *Chem Pharm Bull*. **53(3)**, 281 -285.
- Hancock JT, Desikan R and Neill SJ (2001). Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochem Soc Trans*. **29**, 345 -350.
- Hauptmann N, Grimsby J, Shih JC and Cadenas E (1996). The Metabolism of Tyramine by Monoamine Oxidase A/B Causes Oxidative Damage to Mitochondrial DNA. *Arch Biochem Biophys*. **335( 2)**, 295 -304.

- Hay C and Debellerocche J (1997). Carrageenan-induced hyperalgesia is associated with increased cyclo-oxygenase-2 expression in spinal cord. *Neuroreport*. **8 (5)**, 1249 -1251.
- Hinneburg I, Dorman HJD and Hiltunen R (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem*. **97**, 122 -129.
- Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M and Mahmoudi M (2002). Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine*. **9**, 135 -141.
- Janeway CA, Travers P, Walport M and Shlomchik M (2001). An introduction to immunobiology and innate immunity. In *Immunology*, 5<sup>th</sup> edition, (New York), pp: 347 -380.
- Jeon HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kang YS, Lim CJ, Kim YM and Park EH (2007). Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *J Ethnopharmacol*. article in press.
- Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, Chen GJ, Bates RB and Timmermann BN (2004). Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE2 production. *Phytochemistry*. **65**, 1937 -1954.
- Jongstra-Bilen J, Hayashi H, Harrison R, Chiu B, Chan JR, Ostergaard HL, Inman RD, Jongstra J and Cybulsky MI (2002). Modulation of Mac-1 (CD11b/Cd18)-mediated adhesion by the leukocyte-specific protein 1 key to its role in neutrophil polarisation and chemotaxis. *J Immunol*. **169**, 415 -423.
- Kalpakcioglu B and Şenel K (2008). The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. **27**, 141 -145.
- Kikuzaki H and Nakatani N (1996). Cyclic diarylhyptanoids from rhizomes of *zingiber officinale*. *Phytochemistry*. **43 (1)**, 273 -277.
- Kim DSHL and Kim JY (2004). Side-chain length is important for shogaols in protecting neuronal cells from  $\beta$ -amyloid insult. *Bioorg Med Chem Lett*. **14**, 1287 -1289.
- Kim EC, Min JK, Kim TY, Lee SJ, Yang HO, Han S, Kim YM and Kwon YG (2005). [6] Gingerol, a pungent ingredient of ginger, inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. **335**, 300 -308.
- Kim HP, Son KH, Chang HW and Kuang SS (1996). Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci*. **2(1)**, 1-8.
- Kohen R and Nyska A (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. **30**, 620 -650.

- Koo KLK, Ammit AJ, Tran VH, Duke CC and Roufogalis BD (2001). Gingerols and Related Analogues Inhibit Arachidonic Acid-Induced Human Platelet Serotonin Release and Aggregation. *Thromb Res.* **103**, 387 -397.
- Kou J, Si M, Dai G, Lin Y and Zhu D (2006). Antiinflammatory activity of Polygala japonica extract. *Fitoterapia.* **77**, 411 -415.
- Krippeit-Drews P, Kramer C, Welker S, Lang F, Ammon HPT and Drews G (1999). Interference of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic  $\beta$ -cells. *J Physiol.* **514 (2)**, 471 -481.
- Kumar S, Christophides GK, Cantera R, Charles B, Han YS, Meister S, Dimopoulos G, Kafatos FC and Barillas-Mury C (2003). The role of reactive oxygen species on Plasmodium melanotic encapsulation in Anopheles gambiae. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100 (24)**, 14139 -14144.
- Kunduzova OR, Bianchi P, Parini A and Cambon C (2002). Hydrogen peroxide production by monoamine oxidase during ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol.* **448**, 225 -230.
- Kwong LK and Sohal RS (1998). Substrate and Site Specificity of Hydrogen Peroxide Generation in Mouse Mitochondria. *Arch Biochem Biophys.* **350 (1)**, 118 -126.
- Lantz RC, Chen GJ, Sarihan M, Solyom AM, Jolad SD and Timmermann BN (2007). The effect of extracts from ginger rhizome on inflammatory mediator production. *Phytomedicine.* **14**, 123 -128.
- Le K, Chiu F and Ng K (2007). Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii. *Food Chem.* **105**, 353 -363.
- Lee TY, Lee KC, Chen SY and Chang HH (2009). 6-Gingerol inhibits ROS and iNOS through the suppression of PKC- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B pathways in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* article in press.
- Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P and Prost M (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *Presse Med.* **30**, 1076 -1081.
- Levine RL (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med.* **32 (9)**, 790 -796.
- Llewellyn-Jones CG, Hill SL and Stockley RA (1994). Effect of fluticasone propionate on neutrophil chemotaxis, superoxide generation, and extracellular proteolytic activity in vitro. *Thorax.* **49**, 207 -212.
- Löffler M, Becker C, Wegerle E and Schuster G (1996). Catalytic enzyme histochemistry and biochemical analysis of dihydroorotate dehydrogenase/ oxidase and succinate dehydrogenase in mammalian tissues, cells and mitochondria. *Histochem cell boil.* **105**, 119 -128.

- Ma QP and Woolf CJ (1996). Progressive tactile hypersensitivity: an inflammation-induced incremental increase in the excitability of the spinal cord. *Pain*. **67**, 97 -106.
- Maggi CA (1997). The effects of tachykinins on inflammatory and immune cells. *Regul Pept*. **70**, 75 -90.
- Marnett LJ (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*. **424**, 83 - 95.
- Martínez-Cayueta M (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. **77**, 147 -161.
- Mascio PD, Murphy ME and Sies H (1991). Antioxydant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*. **53**, 1948 -2008.
- Matsuda H, Morikawa T, Sakamoto Y, Toguchida I and Yoshikawa M (2002). Labdane-type Diterpenes with Inhibitory Effects on Increase in Vascular Permeability and Nitric Oxide Production from *Hedychium coronarium*. *Bioorg Med Chem*. **10**, 2527 -2534.
- Matthijssens F, Back P, Braeckman BP and Vanfleteren JR (2008). Prooxidant activity of the superoxide dismutase (SOD)-mimetic EUK-8 in proliferating and growth-arrested *Escherichia coli* cells. *Free Radic Biol Med*. **45**, 708 -715.
- Maurel A, Hernandez C, Kunduzova O, Bompard G, Cambon C, Parini A and Francés B (2003). Age-dependent increase in hydrogen peroxide production by cardiac monoamine oxidase A in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. **284**, 1460 -1467.
- Meydani M (2000). Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr*. **71**, 1665 -1668.
- Middleton E JR, Kandaswami C and heoradies TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*. **52**, 673-751.
- Morel Y and Barouki R (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. **342**, 481 -496.
- Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature*. **420(6917)**, 846 -852.
- Nessler S, Stadelmann C, Bittner A, Schlegel K, Gronen F, Brueck W, Hemmer B and Sommer N (2006). Suppression of autoimmune encephalomyelitis by a neurokinin-1 receptor antagonist -A putative role for substance P in CNS inflammation. *J Neuroimmunol*. **179**, 1 - 8.
- Nicoll R and Henein MY (2007). Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A hot remedy for cardiovascular disease. *Umea*. 408 -409.
- Nishida Y, Yokota T, Takahashi T, Uchihara T, Jishage KI and Mizusawa H (2006). Deletion of vitamin E enhances phenotype of Alzheimer disease model mouse. *Biochem Biophys Res Commun*. **350**, 530 -536.

- Nunoshiba T, Derojas-walker T, Wishnok JS, Tannenbaum SR and Demple B (1993). Activation by nitric oxide of an oxidative-stress response that defends *Escherichia coli* against activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*. **90**, 9993 -9997.
- Okoli CO, Akah PA, Nwafor SV, Anisiobi AI, Ibegunam IN and Erojikwe O (2007). Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams. *J Ethnopharmacol*. **109**, 219 -225.
- Panda K, Chattopadhyay R, Ghosh MK, Chattopadhyay DJ and Chatterjee IB (1999). Vitamin C prevents cigarette smoke induced oxidative damage of proteins and increased proteolysis. *Free Radic Biol Med*. **27**, 1064 -1079.
- Parthasarathy VA, Chempakam B and Zachariah TJ (2008). Ginger. In *Chemistry of spices*, CAB International, Kerala (India), pp: 70 -76.
- Penna SC, Medeiros MV, Aimbire FSC, Faria-Neto HCC, Sertié JAA and Lopes-Martins RAB (2003). Anti-inflammatory effect of the hydralcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema. *Phytomedicine*. **10**, 381 -385.
- Peter P, Bradley MD, Dennis A, Priebat MD, Robert D, Christensen MD and Gerald Rothstein MD (1982). Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol*. **78**, 206 -209.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K and Defraigne JO (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Rev Fr Endocrinol Clin*. **16**, 233 -239.
- Pokora W, Reszka J and Tukaj Z (2003). Activities of superoxide dismutase (SOD) isoforme during growth of *Scenedesmus* (Chlorophyta) species and strains grown in batch cultures. *Acta Physiol Plant*. **25 (4)**, 375 -384.
- Que F, Mao L and Pan X (2006). Antioxidant activities of Wve Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Intern*. **39**, 581 -587.
- Rajagopalan KV (1980). Xanthine oxidase and aldehyde oxidase. In: "Enzymatic basis of detoxification". Jacoby W Ed Press. New York.
- Ramakrishnan N, McClain DE and Catravas GN (1993). Membranes as sensitive targets in thymocyte apoptosis. *Int J Radiat Biol*. **63**, 693 -701.
- Rankin JA (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues*, **15**, 3 -17.
- Regnault JP (1992). Réactions immunitaires. In *Agression et défense du corps humain*. Vigot, (Paris), pp: 202 -225.
- Robinson KM, Janes MS, Pehar M, Monette JS, Ross MF, Hagen TM, Murphy MP and Beckman JS (2006). Selective fluorescent imaging of superoxide in vivo using ethidium-based probes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **103 (41)**, 15038 -15043.

- Rodrigues MR, Rodriguez D, Russo M and Campa A (2002). Macrophage activation includes high intracellular myeloperoxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* **292**, 869 -873.
- Rosen GM and Rauckman EJ (1981). Spin trapping of free radicals during hepatic microsomal lipid peroxidation. *Proc Nat Acad Sci USA.* **78 (12)**, 7346 -7349.
- Ross JA and Kasum CM (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safty. *Annu Rev Nutr.* **22**, 19 -34.
- Schewe T and Sies H (2003). Flavonoids as protectants against prooxidant enzymes. *Biol Med.* **34**, 243 -253.
- Schneider C, Porter NA and Brash AR (2008). Routes to 4-hydroxynonenal: Fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *J Biol Chem.* **283(23)**, 15539 -15543.
- Sekiwa Y, Kubota K and Kobayashi A (2000). Isolation of Novel Glucosides Related to Gingerdiol from Ginger and Their Antioxidative Activities. *J Agric Food Chem.* **48**, 373 -377.
- Setty AR and Sigal LH (2005). Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy and side effects. *Semin Arthritis Rheum.* **34**, 773 -784.
- Sevanian A, Nordenbrand K., Kim E, Ernester L and Hochstein P (1990). Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase and cytochrome P<sub>450</sub>. *Free Radic Biol Med.* **8**, 145 -152.
- Shobana S and Akhilender Naidu K (2000). Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* **62 (2)**, 107 -110.
- Shukla Y and Singh M (2006). Cancer preventive properties of ginger: A brief review. *Food Chem Toxicol.* **45**, 683 -690.
- Singh G, Kapoor IPS, Singh P, Heluani CSD, Lampasona MPD and Catalan CAN (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem Toxicol.* **46**, 3295 -3302.
- Stocker R, Bowry VW and Frei B (1991). Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does  $\alpha$ -tocopherol. *Proc Nati Acad Sci USA.* **88**, 1646 -1650.
- Stevnsner A, Thorslunda T, Souza-Pintob NCD and Bohr VA (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol.* **37**, 1189 -1196.
- Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P and Gargova S (2007). Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem.* **102**, 764 -770.

- Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnaqeeb MA, Khan I and Ali M (2002). The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. **67 (6)**, 475 -478.
- Tripathi S, Maier KG, Bruch D and Kittur DS (2007). Effect of 6-Gingerol on Pro-Inflammatory Cytokine Production and Costimulatory Molecule Expression in Murine Peritoneal Macrophages. *J Surg Res*. **138**, 209 -213.
- Wagner JG and Roth RA (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev*. **52**, 349-374.
- Whatley SA, Curti D, Das Gupta F, Ferrier IN, Jones S, Taylor C and Marchbanks RM (1998). Superoxide, neuroleptics and the ubiquinone and cytochrome b5 reductases in brain and lymphocytes from normals and schizophrenic patients. *Mol Psychiatry*. **3**, 227 -237.
- Whyte M (2000). Neutrophils. In *Cellular mechanisms in airways inflammation*. Page CP, Banner KH, Spina D Eds, Birkhäuser (Berlin), pp: 125 -146.
- Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Lastcha B, Lesavre P and Halbwachs-Mcarelli L (2000). Neutrophils Molecules, Functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest*. **80**, 617 - 53.
- Yatin SM, Yatin M, Aulick T, Ain KB and Butterfield DA (1999). Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide associated free radicals increase rat embryonic neuronal polyamine uptake and ornithine decarboxylase activity: protective effect of vitamin E. *Neurosci Lett*. **263**, 17 -20.
- Young HY , Luo YL, Cheng HY, Hsieh WC, Liao JC and Peng WH (2005). Analgesic and anti-inflammatory activities of [6]-gingerol. *J Ethnopharmacol*. **96**, 207 -210.
- Yu BP (1994). Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiol Rev*. **74 (1)**, 139 -162.
- Zhou HL, Deng YM and Xie QM (2006). The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response *in vitro* and *in vivo* in mice. *J Ethnopharmacol*. **105**, 301 - 305.

## Résumé

Dans cette étude, les activités de l'extrait éthanolique et aqueux de rhizome du gingembre sont étudiés premièrement *in vivo* sur une inflammation aiguë en utilisant la perméabilité vasculaire induite chez la souris par l'acide acétique et l'œdème de l'oreille induit aussi chez la souris par une application locale du xylène comme des modèles. L'administration orale de ces extraits à une dose de 400mg/kg, une heure avant l'induction de l'inflammation exerce un effet anti-inflammatoire hautement significatif ( $p \leq 0,01$ ) en comparaison avec le groupe témoin, considéré comme le 100% d'inflammation. Deuxièmement, l'effet antioxydant de l'extrait éthanolique du gingembre est testé seul *in vitro* (l'étude de l'extrait aqueux est réalisée dans notre laboratoire dans des travaux précédents) en utilisant les testes du DPPH, de l'activité antioxydante totale, la chélation des métaux et le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Les résultats obtenus montrent que cet extrait possède une forte activité scavenger de radical DPPH et également une forte capacité d'inhiber la peroxydation lipidique dans les tests de l'activité antioxydante totale et de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Par contre, cet extrait n'a aucun effet sur la chélation des métaux.

**Mots clés :** Inflammation, oxydation, radicaux libres, gingembre.

## المخلص

في هذه الدراسة، تم أولاً اختبار نشاطية المستخلصين الإيثانولي والمائي لجذمور نبتة الزنجبيل حيويًا على الالتهاب الحاد باستعمال تقنيات النفاذية الوعائية المحدثة عند الفئران بواسطة حمض الخل (Acide acétique) ووذمة الأذن المحرصة أيضًا عند الفئران بالتطبيق الموضعي للـ xylène كنماذج، إعطاء المستخلصين عن طريق الفم بجرعة 400 ملغ/كغ ساعة قبل تحريض الالتهاب أبدى تأثيرًا معنويًا عاليًا ضد الالتهاب ( $p \leq 0.01$ ) مقارنة مع مجموعة الشاهد، باعتبار نسبة حدوث الالتهاب فيها هو 100%. ثانياً تم دراسة النشاطية المضادة للأكسدة والتي اقتصرت على المستخلص الإيثانولي (لأن المستخلص المائي تمت دراسته في أبحاث سابقة) باستعمال اختبارات DPPH، النشاطية الكلية المضادة للأكسدة، الفعل المخلي على المعادن و اختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. وبينت النتائج المحصل عليها أن هذا المستخلص يملك نشاطية عالية في إزاحة جذر DPPH كما يملك قدرة عالية على تثبيط أكسدة الليبيدات في اختباري النشاطية الكلية المضادة للأكسدة،  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. على العكس، هذا المستخلص لم يبدي أي تأثير في اختبار الفعل المخلي على المعادن.

**الكلمات المفاتيح:** الالتهاب، الأكسدة، الجذور الحرة، الزنجبيل.

## Summary

In the present study, the activities of ethanolic and aqueous extracts from ginger rhizome were evaluated firstly *in vivo* using acetic acid induced vascular permeability and xylene induced ear edema by topical application in mice as a models of acute inflammation. The oral administration of this extracts at dose of 400mg/kg, one hour before the induction of inflammation, showed a high significant ( $p \leq 0,01$ ) anti-inflammatory effect, compared to control group considered as 100% of inflammation. Secondly, the antioxidant effect of ethanolic extract was studied only *in vitro* (aqueous extract were studied in the priors works in our laboratory) using DPPH, total antioxidant activity, metal chelating and  $\beta$ -carotene/linoleic acid tests. Results obtained showed that this extract have a good scavenger effect towards DPPH radical and lipid peroxydation in total antioxidant activity and  $\beta$ -carotene/ linoleic acid tests. In Contrast, this extract hasn't metal chelating effect.

**Key words:** Inflammation, oxidation, free radicals, ginger.