

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

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



Département de Biologie



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

MEMOIRE

Présenté par

OUAHRANI Razia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En BIOCHIMIE

Thème

Evaluation du pouvoir antioxydant de *Pelargonium graveolens*

Soutenu le 04/07/2021, devant le jury composé de :

Présidente	Melle <i>BOUALI W.</i>	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme <i>MEDJDOUB H.</i>	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme <i>BELKACEM N.</i>	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

Titre et résumé en arabe

مضادات الأكسدة تمنع الأكسدة وتحايد الجذور الحرة المسؤولة عن تلف و شيخوخة الخلايا، والعديد من الأمراض. يهدف هذا العمل الى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لنبتة العطرشية *Pelargonium graveolens*، من عائلة Geraniaceae، التي تم جمعها شهر مايو 2021 من ولاية تلمسان، بلدية عين فزة باستخدام طريقة ارجاع الحديد FRAP.

في إطار هذا العمل تم إعداد مستخلصين : الأستونيك المائي والإيثانوليك المائي، حيث بلغت نسبة المرودين المتحصل عليهم 2.422% و 2.182% على التوالي. أظهر اختبار FRAP أن كلا المستخلصين لديهما قدرة ارجاع للحديد ولكن مستخلص الإيثانول المائي (مل/مغ $EC_{50} = 0.293$) لديه قدرة ارجاع قوية مقارنة بمستخلص الأستون المائي (مل/مغ $EC_{50} = 0.33$). حمض الأسكوربيك يتمتع بأعلى قدرة على الارجاع (مل/مغ $EC_{50} = 0.108$). استنادا إلى النتائج التي تم التوصل إليها، نستنتج أن الجزء الهوائي لنبتة العطرشية *Pelargonium graveolens* له نشاط هام لمكافحة الأكسدة، قد يكون راجعا إلى وجود جزيئات مختلفة في المستخلصات التي تم اختبارها. **الكلمات المفتاحية :** *Pelargonium graveolens*، FRAP، مستخلص الأستون المائي، مستخلص الإيثانول المائي، نشاط مضاد للأكسدة.

Titre et résumé en français

Les antioxydants empêchent l'oxydation et neutralisent les radicaux libres qui sont responsables des dommages et vieillissement cellulaire, et de nombreuses maladies.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation du pouvoir antioxydant de *Pelargonium graveolens*, plante de la famille des Geraniaceae, qui a été récoltée au mois de mai 2021 à la willaya de Tlemcen, commune d'Ain Fezza par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

Dans ce travail deux extraits ont été préparés : eau-acétonique et eau-éthanolique les rendements obtenus sont de l'ordre 2,422% et 2,182% respectivement.

Le test FRAP a montré que les deux extraits ont un pouvoir reducteur de fer mais l'extrait eau-éthanol ($EC_{50} = 0,293$ mg/ml) présente une forte capacité réductrice par rapport a l'extrait eau-acétone ($EC_{50} = 0,33$ mg/ml). L'acide ascorbique a la capacité réductrice la plus élevée ($EC_{50} = 0,108$ mg/ml).

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

Mots clés : *Pelargonium graveolens*, FRAP, extrait eau-acétone, extrait eau-éthanol, activité antioxydante.

Titre et résumé en anglais

Antioxidants prevent oxidation and neutralize free radicals that are responsible for cellular damages and agings, and many diseases.

The aim of this work is the evaluation of antioxidant activity of *Pelargonium graveolens*, plant belonging to the Geraniaceae family, collected in May 2021 in the city of Tlemcen, commune of Ain Fezza by the test of FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

In the present work, two extracts were prepared : water-acetone and water-ethanol, the yields obtained are about 2,422% and 2,182% respectively.

The FRAP test showed that both extracts have an iron reducing capacity but the water-ethanol extract ($EC_{50} = 0,293$ mg/ml) presents a strong reducing capacity compared to the water-acetone extract ($EC_{50} = 0,33$ mg/ml). Ascorbic acid has the highest reducing capacity ($EC_{50} = 0,108$ mg/ml).

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

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

Remerciement

Louange à ALLAH, le miséricordieux qui nous a donné la patience et le courage afin d'achever ce modeste travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme MEDJDOUB H.** «Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail et pour ses conseils et ses encouragements. Avec toutes ma gratitude et de mon respect les plus sincères.

J'adresse mes remerciements aussi à **Melle BOUALI W.** « Maître de Conférences A » au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ma fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Toutes ma gratitude s'adresse aussi à **Mme BELKACEM N.** «Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées je suis là, vraiment un grand remerciement pour leurs qualités d'enseignement qui nous a été dispensé.

Mes vifs remerciements à mes parents et ma famille pour leur soutien et leurs encouragements et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Je dédie ce mémoire

A mon très cher père OUAHRANI Mohamed

Mon exemple et ma fierté, je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité et ta compréhension...

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa, j'implore Dieu, tout puissant, de t'accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

A ma très chère mère

Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour toi ; ta prière, bénédiction et tes sacrifices m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu m'as aidé et soutenu pendant de nombreuses années. Puisse Dieu, tout puissant te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie.

A mon cher frère Khiredine

Pour toute l'ambiance et les moments d'enfance passés avec toi mon frère, Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans ta vie.

A mes chères sœurs Liela et Zohra

Pour l'amour que vous m'avez toujours donné, votre encouragement et toute l'aide que vous m'avez apportée durant ma vie. Que dieu vous protège, bénisse.

A mes nièces Alae, Sanaa ET Ines

A ma tante Badia

A mes amies Cherifa, Imane, Soumia et Amira

Je n'oublierai jamais nos moments de joie et de folies passés ensemble.

Merci d'être toujours à mes côtés.

A tous ceux qui j'aime

Merci !

Liste des abréviations

1O₂ : Oxygène singulet	IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité
ADN : Acide désoxyribonucléique	K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium
Cat : Catalase	NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
DO : Densité optique	NO : Monoxyde d'azote
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	NOS : Nitroxyde synthase
e⁻ : Électron	O₂ : Oxygène
EC₅₀ : La concentration qui correspond à une absorbance de 0,5	O₂^{-•} : Anion superoxyde
ERO : Espèces réactives de l'oxygène	OH[•] : Radical hydroxyle
Fe³⁺ : Fer ferrique	OMS : Organisation mondiale de la santé
Fe²⁺ : Fer ferreux	<i>P.graveolens</i> : <i>Pelargonium graveolens</i>
FeCl₃ : Chlorure ferrique	pH : Potentiel hydrogène
FRAP : Ferric reducing antioxidant power (Pouvoir réducteur de fer).	RL : Radical libre
FW : Fresh weight (poids frais de la plante).	RO[•] : Radical alkoxy
GAE : Gallic acid equivalents (équivalents d'acide gallique).	ROOH : Hydroperoxyde organique
GPx : Glutathions peroxydases	ROO[•] : Radical peroxy
GSH : Glutathion réduit	SOD : Superoxydes dimutases
GS-SG : Glutathion oxydé	TCA : Acide trichloacétique
H⁺ : Hydrogène	UV : Ultra-violet
H₂O : Molécule d'eau	UV-VIS : Ultraviolet-Visible
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène	

Liste des figures

Figure 1 : Parties aériennes de <i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér (Ghedira & Goetz, 2015)... 4	4
Figure 2 : (A) Champs de culture de géranium rosat (B) situation géographique du champ (commune de Chiffa, wilaya de Blida, 70Km au sud-ouest d'alger, Algérie) (Boukhatem <i>et al.</i> , 2011). 6	6
Figure 3 : Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Eddhima, 2019)..... 8	8
Figure 4 : Conséquences pathogènes du stress oxydant (Favier, 2006)..... 9	9
Figure 5 : Electrons de valence de l'oxygène moléculaire Un point représente un électron et un trait un appariement entre deux électrons (Eddhima, 2019). 10	10
Figure 6 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits (Migdal & Serres, 2011) 14	14
Figure 7 : Photographie personnelle de la plante après séchage (la partie aérienne)..... 19	19
Figure 8 : Photographie personnelle des étapes de préparation des extraits eau-acétone et eau-éthanol. (A) Rotavapor, (B) Filtration, (C) Extrait après évaporation, (D) Le produit récupéré après séchage dans l'étuve. 20	20
Figure 9 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> 23	23
Figure 10 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-acétone, de la partie aérienne de <i>Pelargonium graveolens</i> 26	26
Figure 11 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-éthanol, de la partie aérienne de <i>Pelargonium graveolens</i> 26	26
Figure 12 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique. ... 27	27

Liste des tableaux

Tableau 1: Les composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique de <i>Pelargonium graveolens</i> par l'HPLC-SM	5
Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>	7
Tableau 3: Sources de radicaux libres	11
Tableau 4 : Couleurs, aspects et rendement des extraits de <i>Pelargonium graveolens</i>	25
Tableau 5: Valeur des EC50 en mg/ml des deux extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> et de l'acide ascorbique.....	28

Table des matières

Introduction	1
Synthèse Bibliographique	
Chapitre 01	
Présentation de la Plante étudiée	
1. Généralité	2
1.1 plantes médicinales.....	2
1.2 plantes aromatiques	2
2. Présentation de <i>Pelargonium Graveolens</i>	2
2.1 historique	2
2.2 présentation de la famille des Géraniacées (Geraniaceae)	2
2.3 données botaniques.....	3
2.4 nomenclature	4
2.5 classification classique	4
2.6 culture.....	5
2.7 composition chimique de l'extrait de <i>Pelargonium graveolens</i>	5
3. Répartition géographique	5
3.1 dans le monde.....	5
3.2 en Algérie	5
4. Huile essentielle	6
Chapitre 02	
Stress oxydant	
1. Le stress oxydant.....	8
1.1 origine de stress oxydant	8
1.2 conséquences cellulaires du stress oxydant.....	9
1.3 maladies humaines liées à un stress oxydant.....	9
2. Les radicaux libres.....	10
2.1 sources de RL	10
2.2 rôle physiologiques des radicaux libres.....	11
2.3 rôle pathologique des radicaux libres	11
3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	12
3.1 les principales espèces réactives de l'oxygène (Les dérivés radicalaires).....	12

3.1.1	le radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$).....	12
3.1.2	le radical hydroxyle (OH^{\bullet}).....	12
3.2	les principales espèces réactives de l'oxygène (Les dérivés non radicalaires).....	13
3.2.1	le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	13
3.2.2	oxygène singulet (1O_2).....	13
3.3	les cibles biologiques des ER.....	14
3.3.1	les protéines.....	14
3.3.2	les lipides.....	15
3.3.3	l'ADN.....	15
4.	Antioxydants.....	15
4.1	antioxydants enzymatiques.....	15
4.1.1	le superoxyde dismutase (SOD).....	15
4.1.2	catalase (CAT).....	16
4.1.3	glutathions peroxydases (GPx).....	16
4.2	antioxydants non enzymatiques.....	16
4.2.1	antioxydants non enzymatiques endogènes.....	16
4.2.2	antioxydants non enzymatiques exogènes.....	17
5.	Composés primaires et Secondaires des végétaux.....	17
5.1	métabolites primaires.....	18
5.2	métabolites secondaires.....	18

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1.	Objectif.....	19
2.	Matériel végétal.....	19
3.	Préparation des extraits.....	20
3.1	préparation de l'extrait eau-acétone.....	20
3.2	préparation de l'extrait eau-éthanol.....	21
4.	Calcul du rendement.....	21
5.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	21
5.1	principe.....	21
5.2	solutions à préparer.....	21
5.3	mode opératoire.....	22
5.4	protocole.....	Erreur ! Signet non défini.

Résultats et interprétation

1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait.....	25
2. Evaluation de l'activité antioxydante	25
2.1 effet de l'extrait eau-acétone	25
2.2 effet de l'extrait eau-éthanol.....	26
2.3 effet de l'acide ascorbique.....	27
Discussion	28
Conclusion.....	32
Références Bibliographiques.....	33

Introduction

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

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

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

Notre travail s'inscrit dans ce contexte général, et a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de *Pelargonium graveolens*, une plante de la famille des *GERANIACEAE*. Ce travail comporte deux parties, la première concerne la préparation des deux extraits eau-acétonique et eau-éthanolique à partir de la partie aérienne de cette plante. La deuxième consiste en l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

Vue la situation sanitaire mondiale liée au COVID-19, la partie expérimentale est limitée au test de FRAP seulement.

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche des substances naturelles et bioactives (LASNABIO).

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 01 :

Présentation de la Plante étudiée

1. Généralité

1.1 plantes médicinales

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou plusieurs substances chimiques qui peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques. Elles sont utilisées comme matériel potentiel pour maintenir une bonne santé et de bonnes conditions et non seulement pour le traitement de maladies grâce à leurs constituants chimiques actifs présents dans différentes parties de ces plantes qui sont appelés « les métabolites secondaires » (Oladeji, 2016 ; Mera *et al.*, 2019).

1.2 plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses; elles constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels et elles sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent les huiles essentielles (El kalamouni, 2010).

2. Présentation de *Pelargonium Graveolens*

Pelargonium graveolens a des propriétés antibactériennes, antifongiques et pharmacologiques telles que des effets anti-inflammatoires et hypoglycémiques, elle est utile pour traiter l'acné et d'autres infections de la peau comme les brûlures, les capillaires brisés, les coupures, les dermatites, les ulcères et les plaies infectées (Pradeepa *et al.*, 2016).

2.1 historique

Les espèces de pélargonium sont originaires d'Afrique du Sud et ont été introduites en Europe au 17^{ème} siècle et ont été hybridées dans le monde entier. Aujourd'hui, les principales zones de production de géranium se situent en Chine et au Moyen-Orient, notamment en Égypte et au Maroc. Dans les régions tropicales, elle est cultivée comme une plante annuelle (Asgarpanah & Ramezanloo, 2015).

2.2 présentation de la famille des Geraniacées (GERANIACEAE)

GERANIACEAE est une famille de plantes dicotylédones avec 5 à 7 genres et environ 830 espèces, répandue dans les régions tempérées, subtropicales et tropicales. Les feuilles sont simples ou composées, alternes ou opposées, palmées ou pennées, pétiolées, avec des stipules. Les fleurs sont généralement bisexuées, actinomorphes,

solitaires ou disposées en cymes, et pseudo-emblèmes. Les sépales sont au nombre de 4-5, libres ou légèrement coniques, et persistants. Les pétales sont au nombre de 5 et rarement de 4 ou sont apétueux. Les étamines sont au nombre de cinq ou de 2-3 fois plus nombreuses que les pétales. L'ovaire est supérieur et 3-5-loculé. Les ovules sont au nombre de 1-2 par locule et axile placenta. Les styles sont isomères avec les locules de l'ovaire. Le fruit est une capsule ou un schizocarpe avec 5 méricarpes à une graine et séparés élastiquement d'un bec central. Les graines sont pendantes, généralement avec peu d'endosperme ou exalbuminées. L'embryon est plié (Xu & Deng, 2017).

2.3 données botaniques

Le *Pelargonium graveolens* est un bel arbuste érigé, ramifié, atteindre une hauteur de 1,3 mètre et une largeur de 1 mètre. Les tiges velues sont herbacées lorsqu'elles sont jeunes et deviennent ligneuses avec l'âge (Fig. 1) (Lawrence, 2002).

- **appareil végétatif : tiges, racines et feuilles**

Cette plante a des feuilles odorantes et persistantes lobées de 5 à 7 lobes et rugueuses, opposées, couvertes de poils glanduleux microscopiques. Les tiges sont vertes et deviennent plus foncées avec l'âge. la racine est de type pivotant (Boukhatem *et al.*, 2011).

- **appareil reproducteur : fleurs, graines et fruits**

Les fleurs sont irrégulières, de couleur rose violet, formant une pseudo-ombelle compacte. Les deux pétales postérieurs sont plus larges que les 3 antérieurs (Ghedira & Goetz, 2015).

Selon (Boukhatem *et al.*, 2011) Chaque fleur est constituée de :

Cinq sépales égaux. Cinq pétales plus ou moins ondulés dont deux différents, striés de rouge. Sept étamines portant les nectaires à leur base et cinq carpelles réunis en une colonne centrale surmontée d'un style commun qui se divise en cinq stigmates.

- **poils**

Le *P. graveolens* a des poils glanduleux sécréteurs d'essence donnant un aspect poisseux au toucher, protègent la plante contre les infestations dues aux pucerons et améliorant la pénétration des abeilles dans la fleur. (Boukhatem *et al.*, 2011).



Figure 1 : Parties aériennes de *Pelargonium graveolens* L'Hér (Ghedira & Goetz, 2015).

2.4 nomenclature

Diverses appellations sont attribuées à cette plante aromatique.

- Français : géranium rosat, géranium odorant.
- Anglais : attar of rose, rose-scented geranium, scented Pelargonium, rose geranium.
- Arabe : atterchya, atre el ward, العطر حشيشة العطر، عطر الورد، العطرشبية،

(Boukhatem *et al.*, 2011).

2.5 classification classique

Selon (Ghedira & Goetz, 2015).

Règne : Plantae Superdivision : Embryophyta

Division : Magnoliophyta

Subdivision : Spermatophytina

Classe : Magnoliopsida

Superordre : Rosanae

Ordre : Geraniales

Famille : Geraniaceae

Genre : *Pelargonium* L'Hér. Ex Aiton

Espèce : *Pelargonium graveolens* L'Hér.

2.6 culture

La plante peut être reproduite par bouturage au printemps ou à la fin de l'été, la coupe se fait à 15–20 cm au-dessus du sol (Ghedira & Goetz, 2015).

2.7 composition chimique de l'extrait de *Pelargonium graveolens*

Les recherches sur l'espèce *Pelargonium graveolens* sont basés sur la composition chimique des huiles essentielles (tableau.1) (Boukhris *et al.*, 2012).

Tableau 1: Les composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique de *Pelargonium graveolens* par l'HPLC-SM (Boukhris *et al.*, 2012).

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

3. Répartition géographique

3.1 dans le monde

L'espèce *Pelargonium graveolens* est largement répandu et cultivé en Espagne, en Italie, au Maroc, à l'Ile de la Réunion, en Egypte et en Chine, et cultivé dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales où il est distillée pour son huile essentielle (Ghedira & Goetz, 2015).

3.2 en Algérie

La plante est cultivée principalement à la wilaya de Blida (plaine de Mitidja)(fig. 2A), à des fins industrielles et ornementales. Sa plantation est pratiquée sur de petites parcelles dans des conditions de production difficiles, et elle est menacée d'abandon malgré les avantages qu'elle offrait : notoriété de son essence sur le marché mondial, commercialisation garantie, cycle de production rapide.

La distillerie locale (Extral Bio), sise à Chiffa (Blida, 50 km au sud ouest d'Alger) (fig. 2B), exploite quelques hectares de géranium pour l'extraction d'huiles essentielles (**Boukhatem *et al.*, 2011**).



A

B

Figure 2 : (A) Champs de culture de géranium rosat et (B) situation géographique du champ (commune de Chiffa, wilaya de Blida, 70Km au sud-ouest d'alger, Algérie) (**Boukhatem *et al.*, 2011**).

4. Huile essentielle

Les études sur les espèces de *P. graveolens* se sont concentrées sur la composition chimique des huiles essentielles car elle est utilisée comme une bonne source d'antioxydants, et dans les industries de la parfumerie, des cosmétiques et de l'aromathérapie dans le monde entier, grâce à sa potentielle immunitaire, à sa composition chimique (tableau.2). Elle est de couleur jaune claire avec une odeur rappelle celui de la rose et de la citronnelle (**Janin, 2006 ; Ćavar & Maksimović, 2012 ; Asgarpanah & Ramezanloo, 2015 ; Atailia, 2015**).

Chapitre 01 : Présentation de la Plante étudiée

Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* (Atailia, 2015).

Composés (%)		
Citronellol : 19,22	Butyrate de citronellyle 1,68	α -Caryophyllène 0,3
Géranol : 14,03	β -Germacrène 1,03	Acétate de citronellyle 0,3
Formiate de citronellyle 10,02	Hexanoate de géranyle 0,97	Tiglate de citronellyle 0,29
10-épi- γ -eudesmol 7,15	γ -Cubébène 0,92	α -Copaène 0,27
Acétate de géranyle 6,45	α -Cadinène 0,9	Cis- β -Ocimène 0,26
Linalol 5,6	β -Cubébène 0,81	Myrcène 0,23
Butyrate de géranyle 4,65	Cis Oxyde de rose 0,74	Limonène 0,2
Longifolène 3,25	Isobutyrate de géranyle 0,73	Guaiadiène-6,9 0,18
Isomenthone 3,08	α -Pinène 0,69	Spathulénol 0,16
β -Bourbonène 2,75	Alloaromadendrène 0,62	Trans- β -Ocimène 0,14
D-Germacrène 2,23	Propionate de citronellyle 0,56	α -Phellandrène 0,06
Formiate de géranyle 2	Menthone 0,39	Cis Oxyde de linalol 0,06
Tiglate de phénylethyle 1,89	Trans Oxyde de rose 0,31	Trans Oxyde de linalol 0,03
β -Caryophyllène 1,71		
Total = 96,86%		

Chapitre 02 :

Stress oxydant

1. Le stress oxydant

Le stress oxydant est l'incapacité de l'organisme de se défendre contre l'attaque des espèces réactives de l'oxygène ; suite à un déséquilibre associé à une production accrue de ces espèces ou à une diminution de la capacité de défense antioxydante présentes dans la cellule comme les vitamine E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, catalase, superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase... Ce déséquilibre (fig.3) favorise le développement et le déclenchement de plusieurs maladies comme le cancer, des pathologies oculaires et des maladies neurodégénératives... (Favier, 2006 ; Defraigne & Pincemail, 2008 ; Eddhima, 2019).

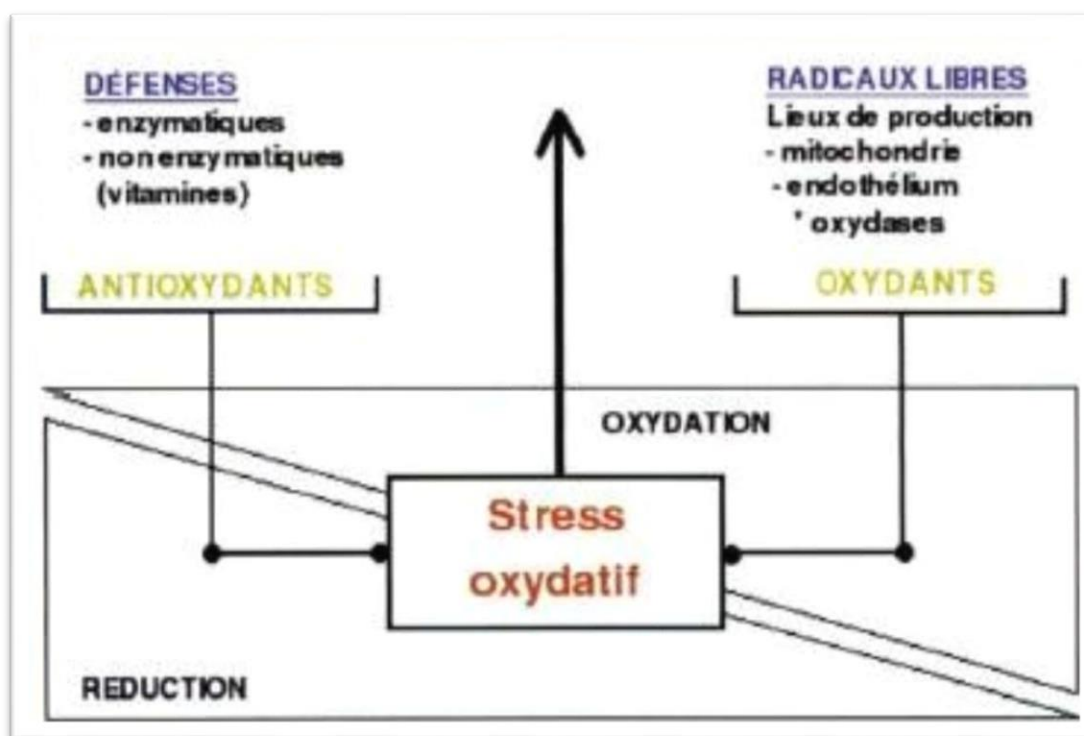


Figure 3: Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Eddhima, 2019).

1.1 origine de stress oxydant

Ce stress, lourde de conséquence est provoqué par une production importante et prolongée des EROs. Il peut avoir plusieurs origines : carence en antioxydants apportés par l'alimentation, anomalies génétiques et stress d'origine exogène : agents environnementaux, intoxication aux métaux lourds, la pollution, l'exposition prolongée au soleil et à différentes radiations, la prise des médicaments, l'alcool et le tabagisme... (Pincemail *et al.*, 1999 ; Migdal & Serres, 2011).

1.2 conséquences cellulaires du stress oxydant

Les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire (fig. 4). Les légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, les stress moyens faciliteront l'apoptose, les forts stress provoqueront la nécrose et les stress violents désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates (Favier, 2006).

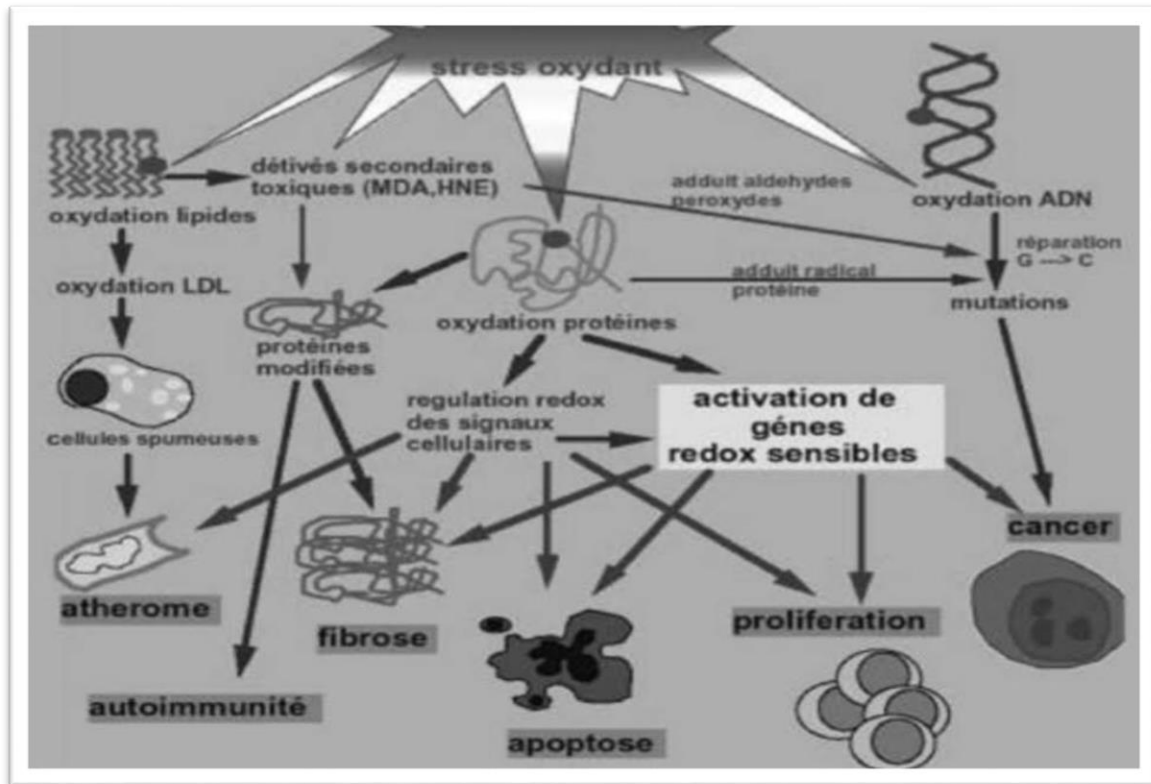


Figure 4 : Conséquences pathogènes du stress oxydant (Favier, 2006).

1.3 maladies humaines liées à un stress oxydant

Le stress oxydant sera la cause de plusieurs maladies comme les maladies cardiovasculaires, cancers, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigue, œdème pulmonaire, l'athérosclérose et vieillissement accéléré...ect. Car les EROs sont toxiques pour l'organisme et elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'ADN (altération du message génétique), dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines (Pincemail *et al.*, 1999 ; Favier, 2006).

2. Les radicaux libres

L'oxygène est une molécule indispensable à la vie des organismes aérobies, mais elle peut entraîner des dommages importants à la cellule en formant ce qu'on appelle les radicaux libres. Qui sont par définition des espèces chimiques possédant un électron non apparié sur leur couche orbitale périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité et le rend instable en cherchant à se stabiliser en captant un électron à partir d'une autre espèce chimique voisine : un lipide, une protéine ou un élément de l'ADN, c'est pourquoi ils sont nuisibles.

L'électron non apparié est représenté de manière conventionnelle par un point (Fig. 5). On peut distinguer les radicaux primaires qui dérivent soit de l'oxygène ou de l'azote comme l'anion superoxyde O_2^- , le radical hydroxyle OH^\cdot , le monoxyde d'azote NO^\cdot et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires lipides, protéines ou glucides... tels que les radicaux peroxydes RO_2^\cdot , les hydroperoxydes RO_2H et les radicaux alkoxydes RO^\cdot . Comme il existe d'autres substances réactives dérivées de l'oxygène, ne sont pas des radicaux libres, mais elles peuvent être leurs précurseurs comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le nitroperoxyde $ONOO^\cdot$ et l'oxygène singulet 1O_2 . L'ensemble de ces RLs primaires, secondaires et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003 ; Chiha *et al.*, 2016 ; Matou, 2019 ; Eddhima, 2019)

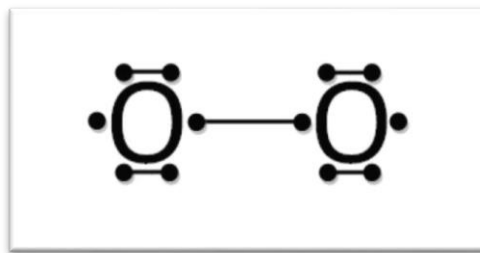


Figure 5 : Electrons de valence de l'oxygène moléculaire, un point représente un électron et un trait un appariement entre deux électrons (Eddhima, 2019).

2.1 sources de RL

Il existe un équilibre naturel entre la production des RLs et les systèmes antioxydants présentes dans la cellule à l'état physiologique. Dans certains cas, sous l'influence de certains stimuli pathologiques endogènes ou exogènes (tableau. 3). (Poisson, 2013).

Tableau 3: sources de radicaux libres (Poisson, 2013).

ENDOGENE	EXOGENE
Chaîne respiratoire mitochondriale	<u>Irradiation</u> : Rayons X, UV, radioactivité
<u>Cellule</u> : Macrophage	<u>Polluants</u> : Tabac, médicaments
<u>Enzymes</u> : NOS, NADPH oxydase	

2.2 rôle physiologiques des radicaux libres

Les RL peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique selon leur concentration. Ils sont impliqués dans des nombreuses fonctions physiologiques (Haleng, 2007 ; Favier, 2003) :

- Le fonctionnement de certaines enzymes.
- La transduction de signaux cellulaires.
- La défense immunitaire.
- La destruction des cellules tumorales par apoptose.
- La différenciation et au cycle cellulaire.
- la régulation de la dilatation capillaire.
- Le fonctionnement de certains neurones.
- La fécondation de l'ovule.
- la régulation des gènes.

2.3 rôle pathologique des radicaux libres

Les radicaux libres déclenchent une réaction en chaîne négative dans l'organisme, qui est responsables des dégâts cellulaires importants elle peut endommager les membranes cellulaires, bloquer l'action des principales enzymes, empêcher les processus cellulaires nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme, empêcher la division cellulaire normale, déclencher de cassures et de mutations au sein de l'ADN et bloquer la production d'énergie (Sharifi *et al.*, 2020).

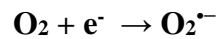
3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les organismes aérobies utilisent l'oxygène pour oxyder des substrats riches en carbone et en hydrogène. Cependant, lorsque les molécules sont oxygénées, l'oxygène est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactifs appelé espèces réactives de l'oxygène (des molécules contenant de l'oxygène mais leur réactivité est supérieure à celle de la molécule d'oxygène) (Benyamina, 2017).

3.1 les principales espèces réactives de l'oxygène (Les dérivés radicalaires)

3.1.1 le radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est un radical libre chargé négativement issu de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire :

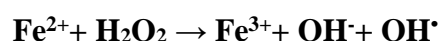


Ce radical est un déchet métabolique toxique produit naturellement dans les cellules respirant le dioxygène, en particulier au sein des mitochondries (par le complexe I et le complexe III), et par d'autres enzymes (exemple : la xanthine oxydase). Il est impliqué dans plusieurs fonctions cellulaires : la signalisation cellulaire, la réponse immunitaire et la prolifération cellulaire à des concentrations régulées, comme il joue un rôle dans la pathogenèse de nombreuses maladies. Sa production est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 (Fig. 6) (Muller *et al.*, 2007 ; Migdal & Serres, 2011; Zhang *et al.*, 2019).

3.1.2 le radical hydroxyle (OH^{\bullet})

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

– **la réaction de Fenton** : le peroxyde d'hydrogène oxyde le fer ferreux (Fe^{2+}) selon la réaction d'oxydoréduction suivante :



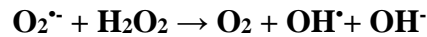
Le mélange fer ferreux et peroxyde d'hydrogène est un bon oxydant pour de nombreux composés organiques (réactif de Fenton). L'efficacité de cette réaction est

influencé par : la concentration initiale en ions ferreux, en peroxyde d'hydrogène, la, pH et température.

– **la réaction d'Haber Weiss :**

La réaction de Haber-Weiss génère des radicaux hydroxyls

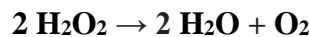
OH[•] à partir de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et de superoxyde O₂^{•-}



3.2 les principales espèces réactives de l'oxygène (Les dérivés non radicalaires)

3.2.1 le peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène est un composé chimique de formule H₂O₂, non radicalaire et il n'est pas chargé, il diffuse facilement à travers les membranes, Il existe naturellement chez les êtres vivants comme sous-produit de la respiration cellulaire. Les peroxydases catalysent la dismutation de H₂O₂ en H₂O et O₂ (Barouki, 2006).



3.2.2 oxygène singulet (1O₂)

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

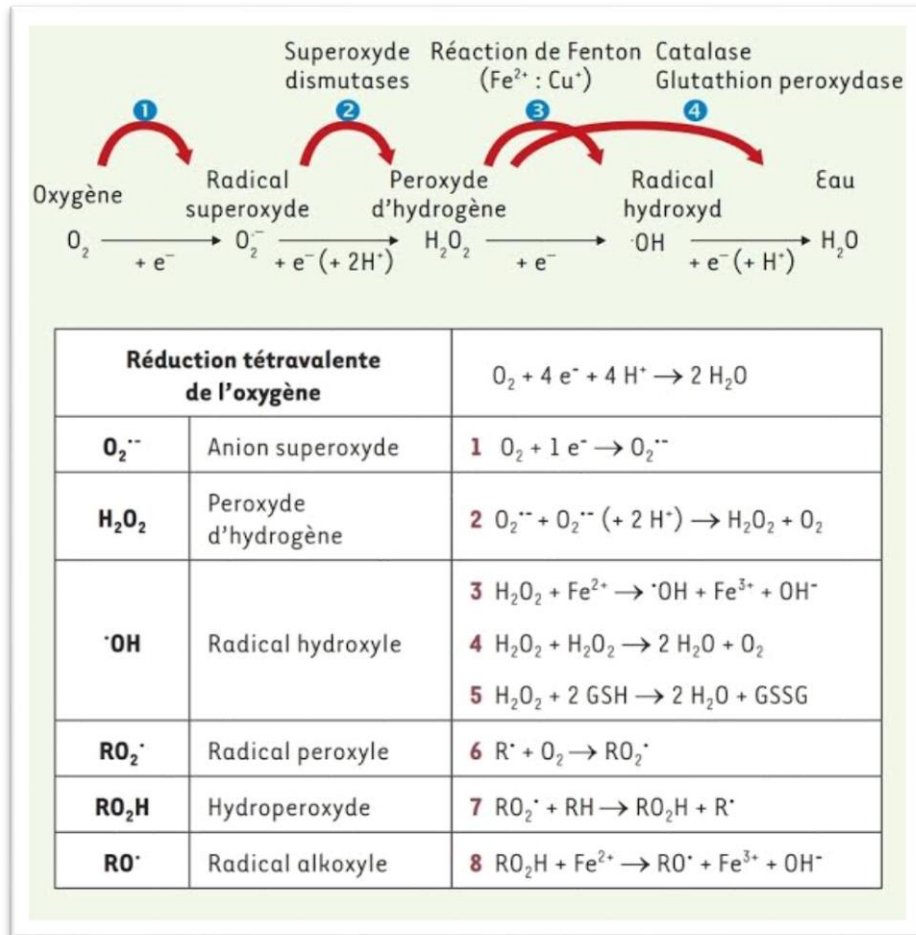


Figure 6 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits (Migdal & Serres, 2011)

3.3 les cibles biologiques des ER

Le stress oxydant provoque l'oxydation, de manière non spécifique et irréversible de molécules biologiques (protéines, lipides, l'ADN), conduisant à une perte de leurs fonction (Migdal & Serres, 2011).

3.3.1 les protéines

Les acides aminés et les protéines sont les premières cibles des EROs

Les types de ces modifications oxydatives :

- Oxydation des chaînes latérales des acides aminés conduit à la régulation de la fonction de nombreuses protéines.
- Oxydation de la chaîne polypeptidique suivie d'une fragmentation et/ou de la formation de liaisons croisées intra ou inter chaînes.
- Formation de protéines carbonylées (Migdal & Serres, 2011).

3.3.2 les lipides

L'oxydation des lipides par les ERO, appelée peroxydation lipidique ; un phénomène général qui se produit en présence de l'oxygène. Tous les lipides contenant des acides gras insaturés sont concernés quelle que soit leur origine (huiles végétales, huiles de poissons, graisses animales, membranes cellulaires, lipoprotéines). Plusieurs maladies sont associées à cette oxydation comme les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, les cancers et les maladies inflammatoires... (Cillard & Cillard, 2006).

3.3.3 l'ADN

Les RLs peuvent endommager l'ADN en oxydant le désoxyribose, en cassant le brin, en enlevant des nucléotides, en modifiant les bases et en réticulant l'ADN-protéine (Sharifi *et al.*, 2020).

4. Antioxydants

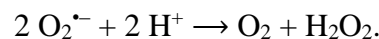
Les antioxydants permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal, de stabiliser la tolérance à l'insuline, d'améliorer l'immunité, et de diminuer la toxicité des médicaments. Ils sont classés en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques (Edhhima, 2019 ; favier, 2003).

4.1 antioxydants enzymatiques

L'organisme dispose de plusieurs mécanismes enzymatiques pour minimiser les dommages causés par les radicaux et empêcher la production excessive des RLs, Ces enzymes présentent SOD (superoxyde dismutase), CAT (catalase) et GPx (glutathion peroxydase) (Sharifi *et al.*, 2020).

4.1.1 le superoxyde dismutase (SOD)

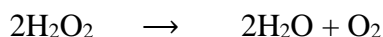
Le superoxyde dismutase est un métallo enzyme, oxydoréductase qui catalyse la dismutation des anions superoxyde $O_2^{\bullet -}$ en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :



Il agit comme un bon agent thérapeutique contre les maladies liées aux EROs. Il est présent dans le cytoplasme, la matrice mitochondriale et les peroxysomes (Bratovcic, 2020).

4.1.2 catalase (CAT)

La catalase est une protéine tétramérique en forme d'haltère avec 4s.u monomères identiques. Elle est présente dans le foie et les globules rouges à des concentrations élevées et elle joue un rôle central dans le maintien de l'équilibre du peroxyde d'hydrogène cellulaire (**Sharma & Ahmad, 2014**).

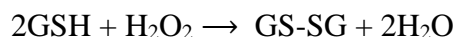


4.1.3 glutathions peroxydases (GPx)

La Glutathion peroxydase GPx est une classe d'enzymes antioxydants ayant la capacité de piéger les radicaux libres. Ceci aide à son tour à prévenir la peroxydation lipidique et à maintenir l'homéostasie intracellulaire ainsi que l'équilibre redox (**Gupta *et al.*, 2017**).

GPx catalyse la réduction de l' H_2O_2 en H_2O , en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron (**Halliwell & Gutteridge, 1989**).

La glutathion est oxydé avec formation d'un pont disulfure entre deux molécules de glutathion : on obtient la forme oxydée du glutathion GS-SG (**Borg & Reeber, 2008**).



4.2 antioxydants non enzymatiques

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

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

4.2.1 antioxydants non enzymatiques endogènes

Ils fournissent des mécanismes efficaces pour prévenir les dommages causés aux cellules et aux tissus par les RLs, dont les plus importants sont le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q et la mélatonine ... (**Malgorzata *et al.*, 2018**).

4.2.2 antioxydants non enzymatiques exogènes

Les antioxydants exogènes sont présents en quantités importantes dans les fruits, les légumes, les boissons (jus, thé, café), les noix et les produits céréaliers consommés couramment, ils retardent le processus de vieillissement (**Malgorzata et al., 2018**).

a) vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui est synthétisée principalement par les plantes. Elle s'incorpore facilement dans les membranes cellulaires et les protège contre la peroxydation lipidique. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E qui localise dans la membrane cellulaire (**Poisson, 2013 ; Bratovic, 2020**).

b) vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant. Elle a un rôle important dans la protection de l'organisme contre les RLs (**Poisson, 2013**).

c) β -carotène

Le carotène est le principal précurseur de la vitamine A chez l'homme, qui est apporté par l'alimentation. Il supprime les oxydations médiées par les radicaux libres et il protège les cellules corporelles contre les EROs et il aide à traiter les maladies liées à une carence en vitamine A... (**Tsuchihashi et al., 1995**)

d) polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques synthétisées par les plantes et présentent de nombreux avantages pour la santé humaine. Ils offrent une protection contre les espèces réactives de l'oxygène et l'azote (**Haida & Hakiman, 2019**).

5. Composés primaires et Secondaires des végétaux

Les métabolites primaires et secondaires sont des produits phytochimiques, présents naturellement dans les feuilles, les légumes et les racines, qui possèdent un mécanisme de défense et protègent de diverses maladies (**Pradeepa et al., 2016**).

5.1 métabolites primaires

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à ces composés organiques, comprennent : les protéines, les acides aminés, les glucides, les polysaccharides, les chlorophylles, les acides gras et les lipides. Ils sont synthétisés pendant la photosynthèse et jouent un rôle important dans le développement et la reproduction de la cellule végétale (**Hanson, 2003 ; Pradeepa *et al.*, 2016**).

5.2 métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont des sources uniques pour les produits pharmaceutiques, les produits d'additifs alimentaires, d'arômes et pour les substances biochimiques importants pour l'industrie. Ils sont synthétisés par la plante au cours de son développement à partir de métabolites primaires et ils sont spécifiques du temps, des tissus et des organes.

Ils jouent un rôle dans la défense des plantes contre les herbivores et les pathogènes... comprennent : les tannins, les flavonoïdes, les phénoliques, les alcaloïdes, les composés terpéniques, et les composés phénoliques (**Akula & Ravishankar, 2011**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pelargonium graveolens*, en utilisant le test de réduction du fer (FRAP).

L'étude a été réalisée au niveau de laboratoire LASNABIO (Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives) de la faculté des sciences, université de Tlemcen. Elle comporte deux parties :

- Partie 1 : préparation des extraits eau-acétone et eau-éthanol.
- Partie 2 : évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

2. Matériel végétal

La matière végétale utilisée au cours de cette étude est la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Pelargonium graveolens*, qui a été récoltée au mois de mai 2021 à la willaya de Tlemcen, commune d'Ain Fezza.

Après la récolte, la plante a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité à température ambiante pendant une semaine (fig. 7).



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

3. Préparation des extraits

3.1 préparation de l'extrait eau-acétone

- 10g de matière végétale sèche sont mélangés avec 100ml de solvant eau-acétone (30ml eau distillée + 70ml acétone) préalablement chauffé. Le mélange repose pendant 30 min (Extraction par infusion).
- Filtration de la solution.
- Evaporation du filtrat à l'aide d'un rotavapor, pour concentrer l'extrait.
- Séchage à l'étuve à 50°C pendant 24h.
- Récupération de produit (Fig.8).

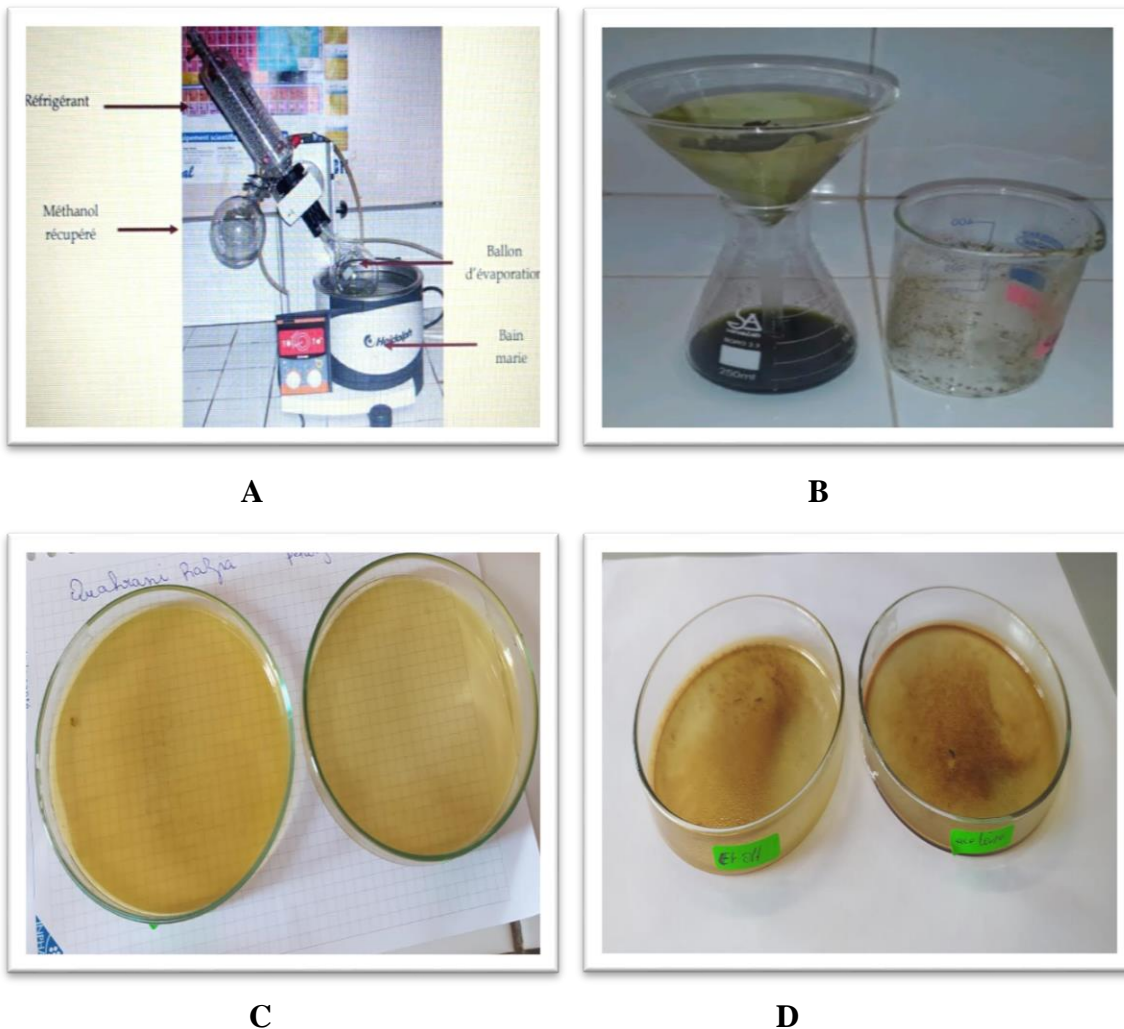


Figure 8 : Photographie personnelle des étapes de préparation des extraits eau-acétone et eau-éthanol. (A) Rotavapor, (B) Filtration, (C) Extrait après évaporation, (D) Le produit récupéré après séchage dans l'étuve.

3.2 préparation de l'extrait eau-éthanol

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

4. Calcul du rendement

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

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

Ou :

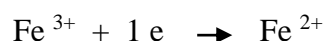
- R : rendement en pourcentage %.
- M2 : la masse de la boîte petri après séchage (contient l'extrait) en gramme.
- M1 : la masse de la boîte petri vide en gramme.
- P : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai).

5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de FRAP (Ferric reducing Antioxidant power).

5.1 principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est lié à son pouvoir antioxydant. Cette technique mesure la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe de ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2+}). Le fer ferrique est jaune, se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de la coloration du jaune au bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydante (**Habibou et al., 2019**).



5.2 solutions à préparer

- Solution tampon phosphate 0,2M ; pH = 6,6.
- Solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.
- Solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 0,1%.

5.3 mode opératoire

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

Après l'incubation 2,5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes.

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

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'eau distillée. Le protocole est montré dans la figure 09.

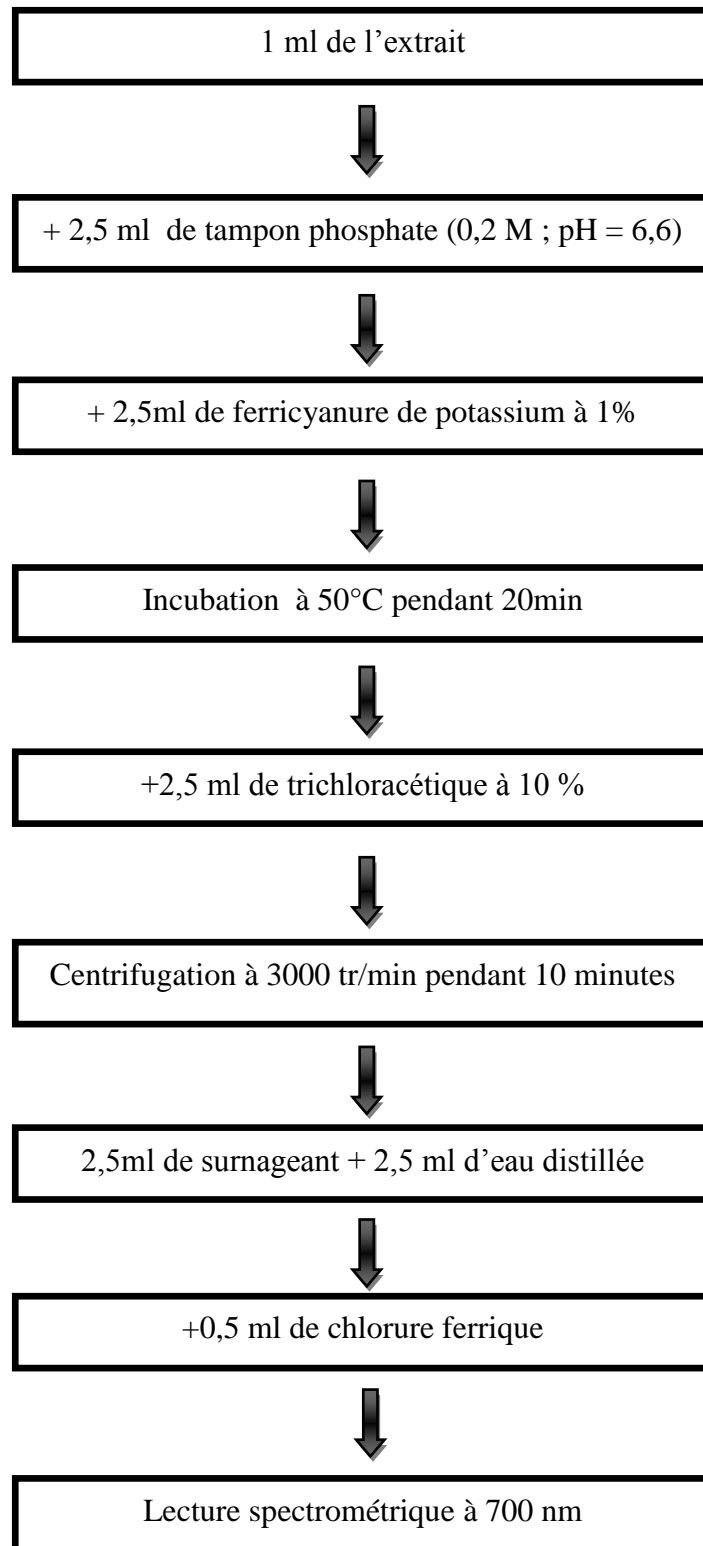


Figure 9 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Pelargonium graveolens*.

Résultats et interprétations

1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait

Les deux extraits obtenus à partir de l'extraction possèdent des caractéristiques identiques (couleur et aspect) avec deux rendements variables indiqués dans le tableau (04).

Tableau 4 : Couleurs, aspects et rendement des extraits de *Pelargonium graveolens*.

Extraits	Couleurs	Aspects	Rendement (%)
Eau-acétone	Marron	Pâteux	2,422
Eau-éthanol	Marron	Pâteux	2,182

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits possèdent une couleur marron et ils sont récupérés sous forme de pâte avec des rendements variables, l'extrait eau-acétone récupéré a donné un rendement appréciable (2,422 %) que l'extrait eau-éthanol (2,182%). Le rendement d'extraction dépend du solvant utilisé pour l'extraction.

2. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *Pelargonium graveolens* a été évaluée par la méthode de réduction de fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

2.1 effet de l'extrait eau-acétone

Les résultats de la capacité de l'extrait eau-acétone à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en fonction de la concentration sont représentés dans la figure 10. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé.

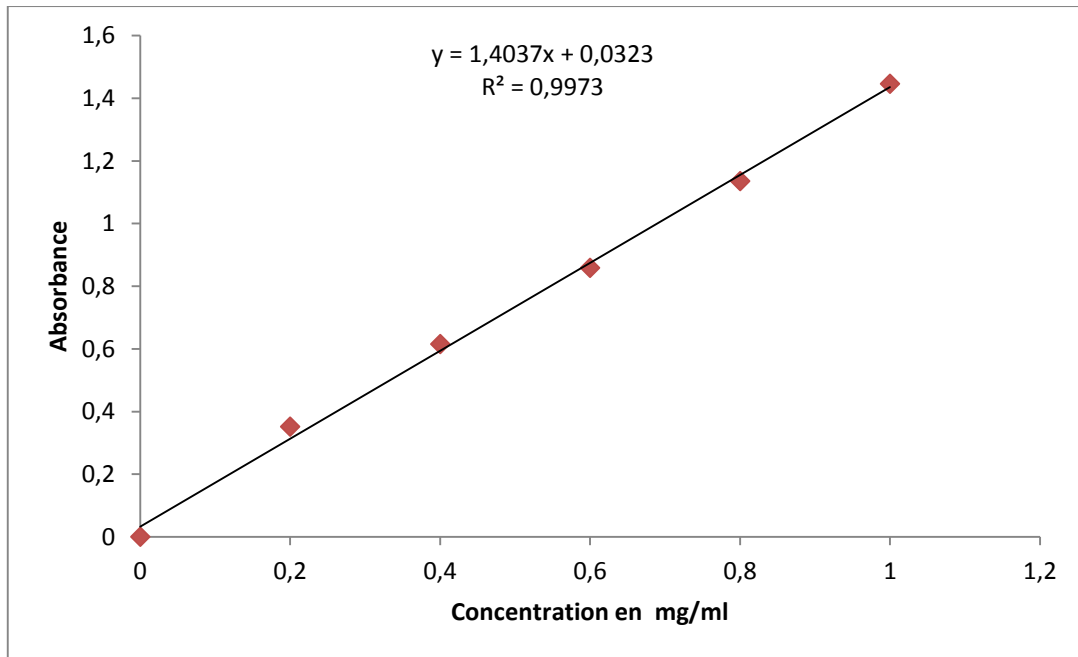


Figure 10 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-acétone, de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

2.2 effet de l'extrait eau-éthanol

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait eau-éthanol à réduire le fer en fonction de la concentration sont représentés dans la figure 11.

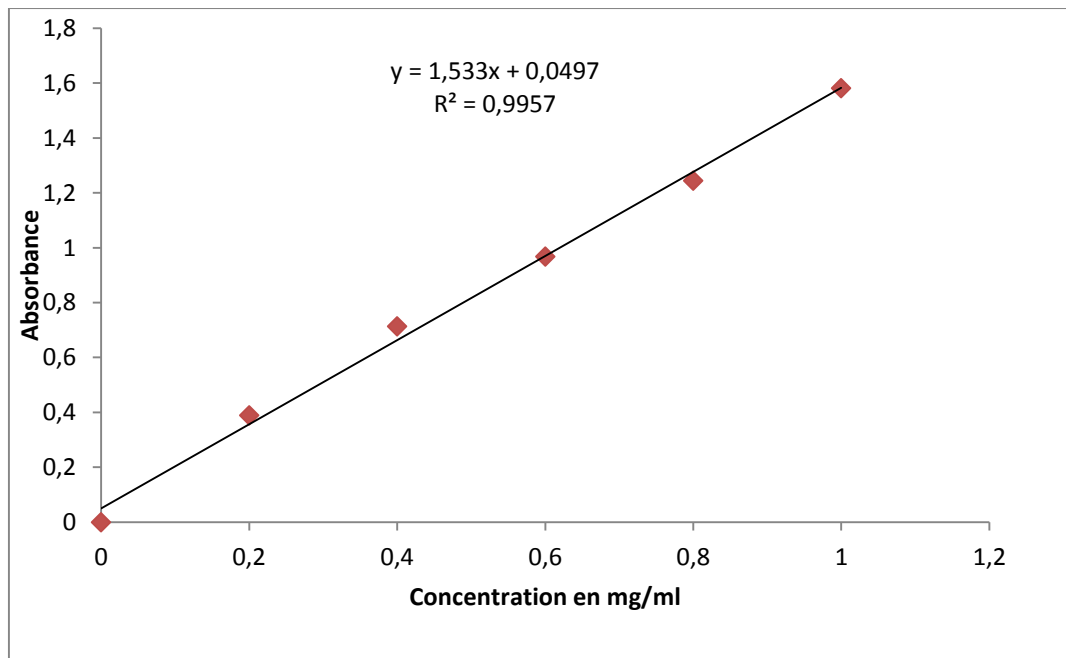


Figure 11 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-éthanol, de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

2.3 effet de l'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les deux extraits, eau-acétone et eau-éthanol. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 12.

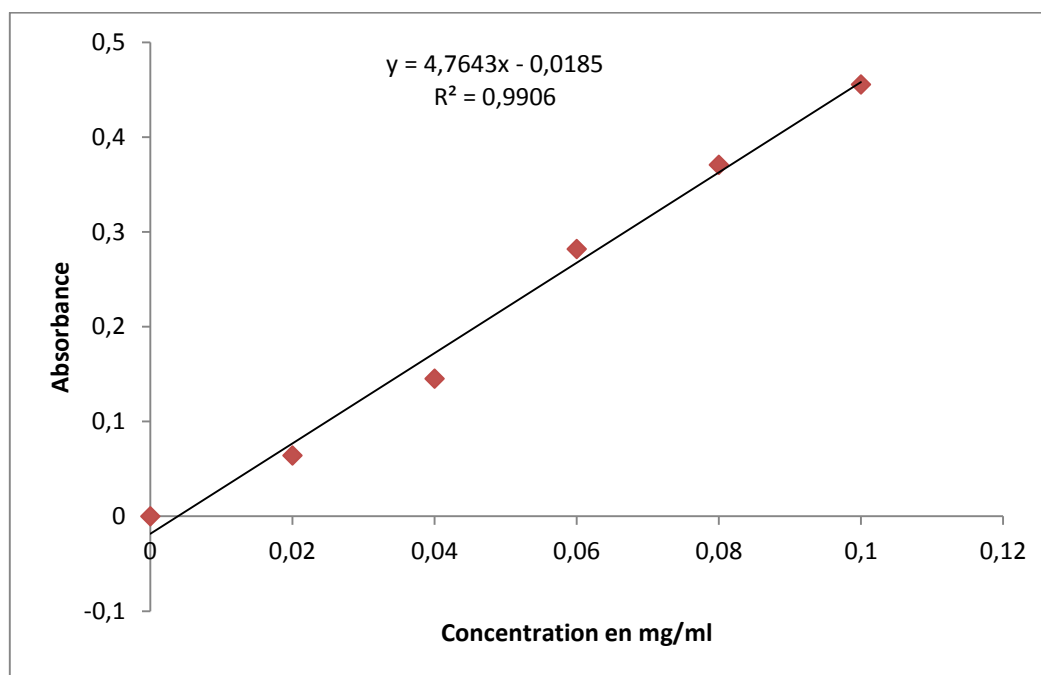


Figure 12 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.

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

L'extrait eau-éthanol présente l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec une absorbance $A=1,582$ à une concentration de 1mg/ml comparé à l'extrait eau-acétone $A=1,446$.

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

Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs d' EC_{50} (la concentration qui correspond à une absorbance de 0,5 à 700nm). Ces concentrations sont déterminées graphiquement à partir des équations indiquées dans les graphes.

Les valeurs d' EC_{50} sont montrées dans le tableau 05.

Tableau 5: Valeur des EC₅₀ en mg/ml des deux extraits de *Pelargonium graveolens* et de l'acide ascorbique.

	Acide ascorbique	Eau-éthanol	Eau-acétone
EC ₅₀	0,108	0,293	0,33

L'EC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. L'étude de l'activité réductrice du fer a montré que l'acide ascorbique a EC₅₀ la plus faible (0,108mg/ml), suivi par l'extrait eau-éthanol (0,293mg/ml), et l'extrait eau-acétone qui a la valeur d'EC₅₀ la plus élevée (0,33mg/ml).

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

Discussion

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. De nos jours, ces plantes à parfum occupent une place prépondérante dans la découverte de nouvelles substances thérapeutiques (**Boukhatem et al., 2011**).

L'objectif de ce travail est porté sur l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits : eau-acétone et eau-éthanol de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

Afin d'évaluer les effets biologique de *Pelargonium graveolens*, nous avons commencé par la préparation des deux extraits, par la méthode d'extraction par infusion, en utilisant deux solvants polaires (acétone et éthanol) où nous avons déterminé les rendements de chaque extrait.

Le rendement le plus élevé a été obtenu dans l'extrait eau-acétone (2,422%), comparé à l'extrait eau-éthanol (2,182%), cette variabilité du rendement peut être due aux solvants utilisés dans la méthode d'extraction. L'extraction consiste à séparer les composés chimiques d'un organisme végétal à l'aide de solvants sélectifs. Le choix du solvant est basé sur sa polarité et sa capacité à extraire certaines molécules ; l'extraction d'une molécule se fera toujours par un solvant de même polarité. L'acétone et l'éthanol sont des solvants polaires qui dissolvent les principes riches en groupements hydrophiles comme les terpenoïdes, les phénols, les lactones et les alcaloïdes (**Tahouo, 2016**).

La méthode de FRAP a été réalisée pour mettre en évidence l'activité antioxydante des deux extraits (eau-acétone et eau-éthanol). Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des deux extraits de *Pelargonium graveolens* et de l'acide ascorbique (employé dans cette méthode comme un control positif). Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre le fer ferrique Fe^{3+} et les composés présents dans l'extrait. Le fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe de ferricyanure de potassium se réduit en fer ferreux Fe^{2+} , par ces composés (**Habibou et al., 2019**).

La détermination des valeurs d' EC_{50} (concentration de l'extrait à une absorbance égale à 0,5), permet de classer la capacité à réduire le fer par les deux extraits et l'acide ascorbique. Les résultats montrent que l'extrait eau-acétone ($EC_{50} = 0,33$ mg/ml) présente une faible capacité réductrice par rapport à l'extrait eau-éthanol ($EC_{50} = 0,293$ mg/ml). L'acide ascorbique a la capacité réductrice la plus élevée ($EC_{50} = 0,108$ mg/ml).

Asgarpanah & Ramezanloo (2015) ont évalué la capacité antioxydante de l'huile de *Pelargonium graveolens* par le test d'activité de piégeage des radicaux DPPH. La valeur IC50 de l'huile de géranium était de 66,45µg/ml comparé avec celle de l'acide ascorbique employé comme standard (IC50 = 38,49µg/ml), ce qui montre que l'huile de cette espèce est dotée d'un pouvoir antioxydant très intéressant.

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

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

En comparant avec les quatre espèces du genre *Thymus* (*T. capitatus*, *T. ciliatus*, *T. bleicherianus* et *T. algeriensis*). **Amarti et al., (2011)** ont réalisés une étude pour évaluer L'activité antioxydante des huiles essentielles de *T. capitatus*, *T. ciliatus* et *T. bleicherianus* par le test DPPH par rapport à l'essence de *T. algeriensis* et à d'autres espèces de thym de la littérature. Les valeurs de la IC50 obtenus sont IC50= 0,069 mg/ml, 0,074 mg/ml et 0,077 mg/ml respectivement. Ces valeurs sont comparables à celles de l'acide ascorbique et l' α -tocophérol qui ont été utilisés comme contrôles positifs. Les quatre espèces possèdent un pouvoir antioxydant important peut être due à leurs profils chimiques riches en phénols.

Finalement, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Pelargonium graveolens* a une activité antioxydante remarquable et importante, qui peut être due à la présence de

différentes molécules dans les extraits testés. Cette plante peut être considérée comme un futur candidat prometteur en tant que complément alimentaire, il est donc essentiel d'établir les bases scientifiques de leurs actions thérapeutiques, qui peuvent servir de source pour le développement de médicaments efficaces. Ce travail est encore préliminaire et mérite d'être reproduit par d'autres techniques antioxydantes.

Conclusion

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*, plante de la famille des géraniacées. Par la méthode de réduction de fer FRAP.

Ce travail commencé par la préparation des deux extraits : eau-acétone et eau- éthanol les rendements sont de l'ordre 2,422% et 2.182% respectivement.

Les résultats de la méthode de réduction de fer FRAP, montrent que les deux extraits ont une capacité à réduire le fer qui augmentent avec l'augmentation de la concentration. Les valeurs d'EC₅₀ permettent de classer cette capacité, l'extrait eau-éthanol (EC₅₀ = 0.293mg/ml) a une activité antioxydante plus élevée par rapport à l'extrait eau-acétone (EC⁵⁰ = 0.33mg/ml).

D'après les résultats obtenus plusieurs perspectives peuvent être proposées.

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

Références Bibliographiques

A

1. **Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., Afor, E., Akinrinlola, B. L., Onibon, T. R., Akinboboye, A. O., ... & Farombi, E. O. (2007).** Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*. *African Journal of Biotechnology*, 6(10).
2. **Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
3. **Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., ... & Chaouch, A. (2011).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta botanica gallica*, 158(4), 513-523.
4. **Asgarpanah, J., & Ramezanloo, F. (2015).** An overview on phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L.
5. **Atilia, I., & Djahoudi, A. (2015).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivé en Algérie. *Phytothérapie*, 13(3), 156-162.

B

6. **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
7. **Benyamina, B. A. (2017).** Etude des effets de l'extrait d '*Artemisia absintium* L. chez les rats intoxiqués au plomb. Etude neurocomportementale, biochimique et in Silico de composés d'*Artemisia absinthium* L. à potentiel thérapeutique ciblant les récepteurs du Système Nerveux Central (Doctoral dissertation).
8. **Boukhatem, M. N., Saidi, F., Hamaidi, M. S., Hakim, Y., & Mekarnia, M. (2011).** Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie: état des lieux et perspectives. *Phytothérapie*, 9(5), 304-309.
9. **Boukhris, M., Simmonds, M. S., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2013).** Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytotherapy research*, 27(8), 1206-1213.
10. **Bratovcic, A. (2020).** Antioxidant Enzymes and their Role in Preventing Cell Damage. *Acta Scientifci Nutritional Health*, 4(3), 01-07.

11. **Borg, J., & Reeber, A. (2008).** Biochimie métabolique. 2e édition (LES COURS DU PCEM) (ELLIPSES MARKETING edition). ELLIPSES, France métropolitaine. P-264.

C

12. **Cardenas, J. (2017).** *Pélargonium. Doctissimo.*

13. **Cardoso, B. R., Hare, D. J., Bush, A. I., & Roberts, B. R. (2017).** Glutathione peroxidase 4: a new player in neurodegeneration?. *Molecular Psychiatry*, 22(3), 328-335.

14. **Ćavar, S., & Maksimović, M. (2012).** Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. *Food control*, 23(1), 263-267.

15. **Chiha, F., Benkara, Y., Sellami, A., & Karouche, S. (2016).** Stress oxydant: influence d'une complementation nutritionnelle en antioxydantset adaptation a l'exercice physique. *مجلة العلوم الإنسانية*, 52-63.

16. **Cillard, J., & Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.

D

17. **Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.

E

18. **Eddhima, Z. (2019).** *Les radicaux libres: effets, mecanismes et approches therapeutiques* (Doctoral dissertation).

19. **El Kalamouni, C. (2010).** *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation).

F

20. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

21. **Favier, A. (2006).** Oxidative stress in human diseases. *In Annales pharmaceutiques francaises*, 64(6), 390-396.

G

22. **Ghedira, K., & Goetz, P. (2015).** Géranium rosat: *Pelargonium graveolens* L'Hér.(Géraniaceae). *Phytothérapie*, 13(3), 197-201.
23. **Gupta, S., Agarwal, A., Banerjee, J., & Alvarez, J. G. (2007).** The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstetrical & gynecological survey*, 62(5), 335-347.

H

24. **Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O. (2019).** Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal*, 15(12), 159-171.
25. **Haida, Z., & Hakiman, M. (2019).** A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food science & nutrition*, 7(5), 1555-1563.
26. **Hanson, J.R. (2003).** Natural products: the secondary metabolites. *Royal Society of Chemistry*, 7.
27. **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989).** Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon.

J

28. **Janin, J. (2006).** Intoxication volontaire par l'ingestion d'huile essentielle de Géranium Bourbon (*pélargonium Graveolens*) : à propos d'un cas réunionnais (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
29. **Jeyakodi, S., Krishnakumar, A., & Chellappan, D. K. (2018).** Beta Carotene- Therapeutic Potential and Strategies to Enhance Its Bioavailability. *Nutri Food Sci Int J Review Article*, 7(4).

K

30. **Koh, E., & Fluhr, R. (2016).** Singlet oxygen detection in biological systems: Uses and limitations. *Plant signaling & behavior*, 11(7), e1192742.

L

31. **Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.
32. **Lawrens, E. (2002).** *Pelargonium graveolens* L'Heritier. Kirstenbosch National Botanical Garden. Disponible sur Internet : URL : <http://pza.sanbi.org/pelargonium-graveolens>

M

33. **Matou, M. (2019).** Composition et propriétés biologiques d'extrait de *Phyllanthus amarus* Sehumacher et thonngong (1827) utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles (Doctoral dissertation).
34. **Mera, I. F. G., Falconí, D. E. G., & Córdova, V. M. (2019).** Secondary metabolites in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Rev Bionatura*, 4, 1000-9.
35. **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
36. **Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018).** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
37. **Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A., & Van Remmen, H. (2007).** Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(4), 477-503.

O

38. **Oladeji, O. (2016).** The Characteristics and roles of medicinal plants: Some important medicinal plants in Nigeria. *Nat Prod Ind J*, 12(3), 102.

P

39. **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999).** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.

40. **Poisson, C. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique (Doctoral dissertation).

41. **Pradeepa, M., Kalidas, V., & Geetha, N. (2016).** Qualitative and quantitative phytochemical analysis and bactericidal activity of *Pelargonium graveolens* L'Her. *Int J Appl Pharm*, 8(3), 7-11.

S

42. **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020).** Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

43. **Sompaga, S., Jyothi, B. A., Chekuri, S., Baburao, N., & Anupalli, R. R. (2016).** Organic Extracts of *Pelargonium graveolens*: Phenol Content, Anti-oxidant and Anti-bacterial Activities. *European Journal of Medicinal Plants*, 17(1), 1-8.

T

44. **Tahouo, F. (2016).** procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes (Doctoral dissertation).

45. **Tsuchihashi, H., Kigoshi, M., Iwatsuki, M., & Niki, E. (1995).** Action of β -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 323(1), 137-147.

X

46. **Xu, Z., Deng, M. (2017).** Geraniaceae. *Identification and Control of Common Weeds*, 2, 629–637.

Z

47. **Zhang, N., He, Y., Tang, Q., Wang, Y., Zheng, Q., & Hu, P. (2019).** A mitochondrial targeting two-channel responsive fluorescence probe for imaging the superoxide radical anion in vitro and in vivo. *Talanta*, 194, 79-85.