

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biochimie
Option : Biochimie des produits naturels

Par:

MOKHTARI Soumia

THEME

**Etude du pouvoir antioxydant de l'extrait
méthanolique de *Bunium Incrassatum* de la
région de Tlemcen**

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

Mr. LEBOUKH Mourad	M.A	Président
Mr. SIFI Ibrahim	M.A	Examineur
Mr. GOUZI Hicham	M.C	Rapporteur
Mr. CHAIBI Rachid	M.A	Co-rapporteur

Année Universitaire 2012/20132011

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui ont toujours donnés les moyens d'aboutir à ce que j'avais décidé de réaliser dans ma vie. Je vous porte toujours dans mes pensées

Mon grand-père et ma grand-mère, Mes sœurs :Nassira, Faiza, et Ikhlass. Et mes frères : Mohammed, Said, et Ben Omar. Pour les oreilles attentives, les conseils et le soutien inestimable.

Toute ma famille. Mes amies d'enfance

Mes chères amis de promotion Biochimie, Ecologie animale, et Ecologie végétale. Vous connaître a été fort plaisant !!

Tous les enseignes qui Escortent mon trajet scolaire depuis le primaire jusqu'à l'université.

A tous ceux qui m'ont aidée à élaborer ce travail.

Remerciements

Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant

Je remercie vivement monsieur GOUZI H., mon encadreur, pour avoir accepté de diriger ce travail avec beaucoup de compétence, et pour m'avoir fait profiter de son expérience, toujours enrichissante, et ses discussions qui se sont toujours terminées sur une vision commune. Merci pour votre patience, et votre enthousiasme pour toute nouvelle idée.

Je remercie également mon co-directeur, Monsieur CHAIBI Rachid, qui a codirigé ce travail malgré ses multiples occupations.

J'exprime mon gratitude à tout le personnel du jury, qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Et bien sur sans l'oublie mon oncle MOKHTARI Ibrahim

Mon remerciements s'adresse aussi à mes enseignants et à tous les travailleurs de département de biologie ; sachez que je ne vous oublierai jamais.

Enfin, à tous ceux qui de près ou de loin, chacun à sa manière, ont contribué à la réalisation de ce modeste travail ; qu'ils trouvent ici le témoignage de notre grande estime et l'expression de notre profonde gratitude.

Résumé : L'objectif principal de ce travail est l'étude du pouvoir antioxydants des extraits méthanoliques de l'écorce, la chair et la racine entière de *Bunium incrassatum* d'Algérie et de déterminer leur teneur en caroténoïdes, en flavonoïdes et en phénols totaux. Le pouvoir antioxydant a été mesuré par spectrophotométrie à 517 nm en utilisant le 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl comme radical libre (DPPH^{*}). Les résultats de la méthode DPPH montrent que les différentes parties de la racine de *Bunium incrassatum* ont diverses capacités antioxydantes. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues varient entre 0.01 et 1.88 mg/ml. L'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* possède une activité antioxydante plus élevées par rapport aux BHA, Trolox et la vitamine C. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes est plus élevée au niveau de l'écorce de la racine. L'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* peut être considérée comme étant une excellente source d'antioxydants naturels puissants utiles comme conservateurs des produits alimentaires.

Mots clés : *Bunium incrassatum*, Racine, Extraits méthanoliques, Antioxydant, DPPH^{*}.

ملخص إن الهدف الأساسي من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية لقشرة الجذر, لب الجذر, والجذر بأكمله لنبتة الـ *Bunium incrassatum* في الجزائر, فقد تم تحديد مقدار كل من الكاروتينات والفلافونويات ومجمل المركبات الفينولية, كما تم قياس النشاط المضاد للأكسدة بواسطة جهاز الـ spectrophotométre على 517 nm وذلك باستعمال 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl كجذر حر (DPPH^{*}). النتائج المحصل عليها بواسطة طريقة DPPH أثبتت اختلاف القدرة المضادة للأكسدة باختلاف الأجزاء المستعملة لجذر نبتة الـ *Bunium incrassatum*. قيم الـ IC₅₀ المحصل عليها تفاوتت بين 0.01 و 1.88 mg / ml. قشرة جذر نبتة الـ *Bunium incrassatum* تملك قوة مضادة للأكسدة جد عالية بالمقارنة بـ BHA, Trolox و فيتامين C, كما أن مقدار المركبات الفينولية و الفلافونويات كانت أعلى على مستوى قشرة الجذر. لذلك يمكن اعتبار قشرة جذر الـ *Bunium incrassatum* كمصدر هائل لمضادات الأكسدة الطبيعية الجد فعالة مفيدة كحافظ للمواد الغذائية.

الكلمات المفتاح: *Bunium incrassatum*, جذر, المستخلصات الميثانولية, ضد الأكسدة, DPPH^{*}.

Abstract: The main objective of this work was to study the antioxidants activity of methanolics extracts of three parts (peel, flesh and the whole root) of root of Algerian *Bunium incrassatum* and to estimate the total content of carotenoids, flavonoids and phenolic compounds. Considerable extraction yields were obtained with methanol as solvent. The antioxidant power was measured spectrophotometrically at 517 nm with 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl as free radical (DPPH^{*}). The results of DPPH method show that the different parts of *Bunium incrassatum* root have different antioxidant capacities. The IC₅₀ values varied between 0.01 to 1.88 mg/ml. The peeling of the *Bunium incrassatum* root exhibits a highest antioxidant activity compared to BHA, Trolox and ascorbic acid. The total phenolic compounds and flavonoids were highest in peeling of root. The peel of *Bunium incrassatum* root was very useful as natural conservator for food industry.

Keywords: Bunium incrassatum, Root, methanolic extracts, Antioxidant, DPPH[•].

Sommaire

	Pages
Introduction	1
Chapitre 1. Synthèse bibliographique.....	2
2.1 Généralités sur <i>Bunium incrassatum</i>	2
2.1.1 Etudes botaniques.....	2
2.1.2 Taxonomie.....	2
2.1.3 Caractères botaniques.....	2
2.1.4 Habitat et répartition géographique.....	3
2.1.5 Etude Phytochimique.....	3
2.1.6 Activités pharmacologiques de <i>Bunium incrassatum</i>	3
2.2 Généralités sur les composés phénoliques.....	4
2.2.1 Définition.....	4
2.2.2 Structure générales.....	4
2.2.3 Classification.....	5
2.2.3.1 Les formes simples.....	5
2.2.3.2 Les formes condensées.....	8
2.2.4 Activité biologique des polyphénols.....	9
2.3 Généralités sur les caroténoïdes.....	11
2.3.1 Définition.....	11
2.3.2 Classification.....	11
2.3.3 Activité biologiques des caroténoïdes.....	12
2.4 Stress oxydatif et antioxydants.....	12
2.4.1 Stress oxydatif	12
2.4.2 Les antioxydants.....	14
2.4.2.1 Définition d'un antioxydant.....	14
2.4.2.2 Classification des antioxydants.....	14
2.4.2.3 Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	18
Chapitre 2. Matériels et méthodes.....	19
3.1 Matériels.....	19
3.1.1 Matériel végétal.....	19
3.1.2 Produits chimiques.....	20
3.2 Méthodes.....	20
3.2.1 Préparation des extraits méthanoliques bruts.....	20
3.2.2 Dosage des composés phénoliques totaux.....	21
3.2.2.1 Principe.....	21
3.2.2.2 Mode opératoire.....	21
3.2.3 Teneur des flavonoïdes totaux.....	22
3.2.3.1 Principe.....	22
3.2.3.1 Mode opératoire.....	23
3.2.4 Dosage des caroténoïdes totaux.....	24
3.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques par le test DPPH.....	25
3.2.5.1 Principe.....	25
3.2.5.2 Mode opératoire.....	26
3.2.6 Analyses statistiques.....	26
Chapitre 3. Résultats et discussion.....	27
4.1 Rendement d'extraction.....	27
4.2 Dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux et des caroténoïdes totaux.....	27
4.3 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la racine de <i>Bunium incrassatum</i> par la méthode DPPH.....	29
Conclusion	34
Références bibliographiques.....	35

Liste des Figures

	Pages
Figure 1: Présentation de <i>Bunium incrassatum</i> .	3
Figure 2: Structure des acides phénoliques.	5
Figure 3: Structures de base des principaux flavonoïdes	6
Figure 4: Structures de base de Stilbène	7
Figure 5: Structure de base des xanthones (Xanthéne-8-one).	7
Figure 6: Structure de base des coumarines benzo-2-pyrone	8
Figure 7: Exemple de carotènes parmi les plus connus.	11
Figure 8: Structure du glutathion	15
Figure 9: Structure d'acide ascorbique	16
Figure 10: Structure de tocophérol.	16
Figure 11: Racine de <i>Bunium incrassatum</i> d'Algerie.	19
Figure 12: Représentation les trois parties des racines de <i>Bunium incrassatum</i> utilisées.	19
Figure 13: Droite d'étalonnages d'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux.	22
Figure 14: Complication de chlorure D'aluminium avec les flavonoïdes	23
Figure 15: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	24
Figure 16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	25
Figure 17 : Présentations graphiques des pourcentages de DPPH résiduels en fonction de concentration des extraits méthanoliques des racines du <i>bunium incrassatum</i> .	31
Figure 18: Courbes représentant la variation des pourcentages des réductions de DPPH en fonction des concentrations des antioxydants standards (Trolox, Vit C, BHA) pour le test du DPPH.	32

Liste des Tableaux

	Pages
Tableau 1: Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques.	13
Tableaux 2: Structures de quelques antioxydants synthétiques	18
Tableau 4: Les rendements des extraits méthanoliques de trois parties de la racine de <i>Bunium incrassatum</i> d'Algérie.	27
Tableau 5 : Les teneurs des caroténoïdes, des flavonoïdes et des phénols totaux des extraits méthanoliques de Trois parties des racines de <i>Bunium incrassatum</i> d'Algérie.	28
Tableau 6: Les valeurs d'IC ₅₀ et de l'APR des extraits méthanoliques de chair, d'écorce et de la racine entière des <i>Bunium incrassatum</i> et des antioxydants standards (Vit C, Trolox et BHA) obtenues par le test de DPPH.	32
Tableau 7: IC ₅₀ des extraits méthanoliques des racines de quelques espèces (Apiaceae) par le teste DPPH, obtenue par la bibliographie.	33

Liste des abréviations

- ADN : Acide désoxyribonucléique.
- AG : Acide gallique.
- ARP : Puissance anti radicalaire.
- ATP : Adénosine TriPhosphate.
- BHA : Butylhydroxyanisole.
- BHT : Butylhydroxytoluène.
- DPPH : α,α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl.
- EAG : Equivalent d'acide gallique.
- EQ : Equivalent de Quercétine.
- FC : Folin-Ciocalteu.
- GPx : Glutathion peroxydase.
- GSH : Glutathion.
- IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50% de DPPH.
- Q : Quercétine.
- ROS : Reactive oxygen species.
- SOD : Superoxyde dismutase.
- t/mn : tour par minute.
- UV : Ultra Violet.
- Vita C : vitamine C.
- GSSG : Glutathion oxydé.
- GSH : Glutathion réduit.
- m/v : masse/ volume.

Introduction

Les plantes médicinales et aromatique sont été utilisés pendant de nombreux siècles, dans les thérapies traditionnelles. Ces plantes représentent une source inépuisable de la plupart des médicaments.

Bunium incrassatum (Boiss.) Batt. & Trab., est une plante médicinale d'une importance économique. Elle appartient à la famille des ombellifères largement distribuée dans les régions du nord d'Algérie et elle est communément appelée "Talghouda" (Quezelet Santa, 1963). Les racines de cette plante sont très nutritives et généralement consommées comme la pomme de terre pour leurs vertus thérapeutiques.

Dans l'organisme humain, les xénobiotiques et certains processus métaboliques peuvent engendrer des radicaux libres, particulièrement les espèces réactives de l'oxygène (ROS), capables d'oxyder les biomolécules provoquant ainsi la destruction des tissus et la mort cellulaire (Halliwell et Gutteridge, 2003). D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqués dans beaucoup de maladies telles que le cancer, l'arthrite rhumatoïde et l'athérosclérose mais aussi les processus dégénératifs liés au vieillissement (Halliwell et Gutteridge, 1984).

Les antioxydants naturels représentent des outils prometteurs pour se protéger contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Roy et al., 2011). Récemment, plusieurs travaux ont été menés sur les propriétés antioxydantes des extraits phénoliques des fruits et des légumes (John et Shahidi, 2010 ; Kaisoon et al., 2011 ; Baliga et al., 2011).

Récemment, Bousetla et al. (2011) ont montré que les constituants chimiques de *Bunium incrassatum* ont un pouvoir antimicrobien. Par contre, le pouvoir antioxydant de cette plante n'a pas été démontré. Le but principal de ce travail est d'abord de déterminer les teneurs des flavonoïdes, des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux des extraits méthanoliques des différentes parties de la racine de *Bunium incrassatum*. Ensuite, le pouvoir antioxydant de ses extraits a été évalué par la méthode du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•])

Ce mémoire présenté en cinq chapitres est séquencé comme suit. Le premier chapitre concerne une introduction générale. Le deuxième chapitre comprend un rappel bibliographique sur plante étudiée, les composés phénoliques et le stress oxydatif et les antioxydants. Dans le troisième chapitre, nous mettrons en évidences les procédures expérimentales. Le quatrième chapitre est consacré à une discussion des résultats obtenus. Une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures, sont regroupées dans le dernier chapitre.

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

2.1 Généralités sur *Bunium incrassatum*

2.1.1 Etudes botaniques

Bunium incrassatum est une plante appartenant à la famille des Apiaceae. Elle est prénommée par les habitants d'Algérie « Talghouda ». Le genre *Bunium* se compose de sept espèces dans la flore algérienne, dont quatre sont endémiques (Quezel et Santa, 1963).

Les plantes de la famille des Apiaceae sont environ 3000 espèces dans 400 genres (Jassbi et *al.*, 2012). Elles sont riches en composés avec beaucoup d'activités biologiques. Certaines de ses propriétés sont leur capacité d'induire l'apoptose, d'effet antibactérien, des activités hépatoprotectrices et vaso-décontractantes, et présentant un effet inhibiteur sur la cycloxygénase et une action antitumorale (Pae et *al.*, 2002).

2.1.2 Taxonomie

La classification taxonomique de *Bunium incrassatum* est indiquée dans la présentation suivante (Anonyme, 2013):

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta (Angiospermae)
Classe	Dicotyledones
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

2.1.3 Caractères botaniques

Bunium incrassatum est une plante à tubercule souvent plus grosse qu'une noix, à écorce noire, écailleuse. Les feuilles de la plante sont radicales assez grandes, à divisions linéaires; tiges robustes (1-5 décimètres), cannelées, dressées ou étalées, rameuses, feuillées, flexueuses ; ombelles à pédoncules longs et robustes, à 8-12 rayons étalés, un peu inégaux, robustes; pédicelles courts, à la fin épaissis, rigides, souvent inégaux; dents du calice bien marquées, rigides; méricarpes épaissis au sommet, séparés par le carpophore épais et bifide; albumen canaliculé (Figure 1) (Battanndier et Trabut, 1888).



Figure 1: Présentation du *Bunium incrassatum* (Anonyme, 2013).

2.1.4 Habitat et répartition géographique

Bunium incrassatum est indigène de Portugal, Espagne, Baléares, France, Algérie, Tunisie (Jahandiez, et *al.*, 1932).

2.1.5 Etude Phytochimique

Des études phytochimiques sur le genre *Bunium* ont montré la présence d'acides phénoliques, de flavonoïdes, de saponines, d'alcaloïdes et de tannins (Trease, 2002, Sharififar et al., 2010). D'autres études ont signalées la présence de coumarines (Appendino et al, 1994), de sesquiterpènes (Appendino et al, 1991) et particulièrement des huiles essentielles (monoterpenoids) en tant que métabolites fréquents (Jassbi et al., 2005, Salehi et al., 2008, Shahsavari et al., 2008, Oroojalian et al., 2010). La chimie de *Bunium incrassatum* est méconnue, dont la composition chimique de sa racine a été que récemment étudiée pour la première fois par Bousetla et al. (2011). Ces auteurs ont pu identifier cinq composés, tel que : le saccharose, l'acide oléique, la scopoletine, le scoparone et le b-sitosterol.

2.1.6 Activités pharmacologiques de *Bunium incrassatum*

En usage local, les racines de *Bunium incrassatum* sont traditionnellement utilisées dans le traitement des angines. Les tubercules secs et en poudre sont utilisés en médecine traditionnelle comme astringents et anti-diarrhéiques et sont utiles contre les hémorroïdes et les réactions inflammatoires. En outre, cette plante est employée pour le traitement des bronchites et de la toux (Bousetla et al., 2011). Les études de Bousetla et al. (2011) ont prouvé que les extraits de la racine de *Bunium incrassatum* ont activité antimicrobienne puissantes contre plusieurs espèces microbiennes.

2.2 Généralités sur les composés phénoliques

2.2.1 Définition

Les composés phénoliques constituent une grande famille de molécules très largement répandues dans le monde végétal, ce sont des métabolites secondaires synthétisés par la plante, au cours du développement normal ou en réponse à des conditions de stress tel que les infections, les blessures et les radiations UV.

2.2.2 Structure générales

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) (Bruneton, 1999).

2.2.3 Classification

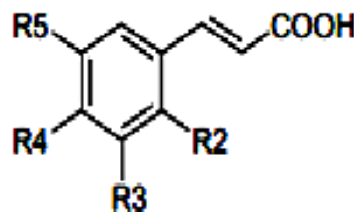
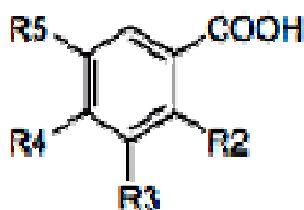
Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylées...)

On distingue les formes simples (les acides phénoliques, flavonoïdes, les stilbénoides, les coumarines et les xanthones), et les formes condensées, les lignines, et les tanins.

2.2.3.1 Les formes simples

Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acide phénolique; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Figure 2) (Barboni, 2006).



	R2	R3	R4	R5	
Acides benzoïques					Acides hydroxycinnamique
Acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H	Acide p-coumarique
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H	Acide caféique
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
Acide gallique	H	OH	OH	OH	
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique
Acide salicylique	OH	H	H	H	
Acide gentisique	OH	H	H	OH	

Figure 2: Structure des acides phénoliques (Chira *et al.*, 2008).

Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont constitués de pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits et les légumes. La famille des flavonoïdes peut se diviser en six principales classes selon l'état d'oxydation de cycle central de pyran: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure) (Medic Sanic *et al.*, 2004 ; D'Archivio, 2007). Les flavanones et les flavonols représentent environ 80% des flavonoïdes connus. Le Figure (3) ci-dessous regroupe les principales classes des flavonoïdes.

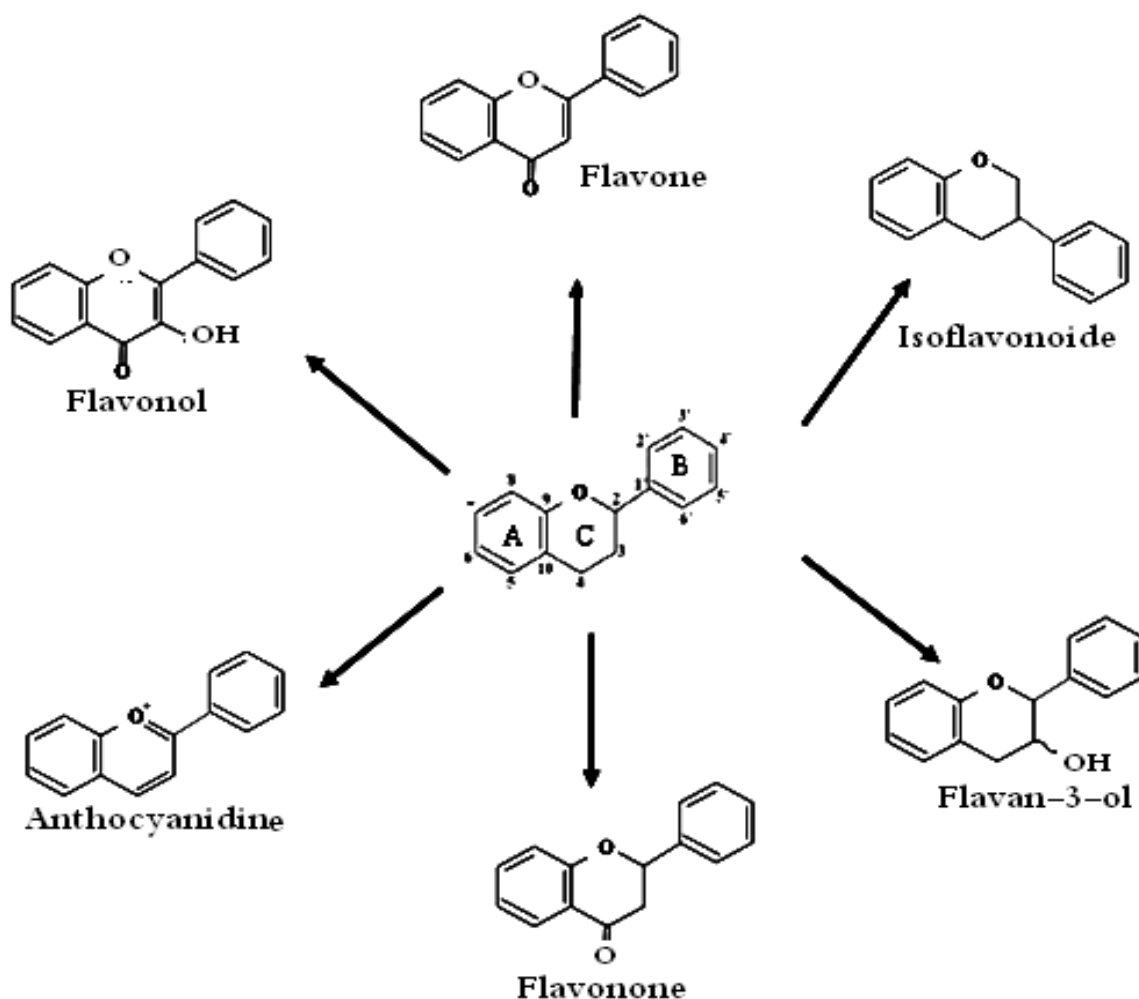


Figure 3: Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

Les stilbenoïdes

Les stilbenoïdes sont des composés phénoliques qui possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène (Figure 4) (Madhavi *et al*, 1996 : Traoré, 1999). Ils sont présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs (Bruneton, 1999).

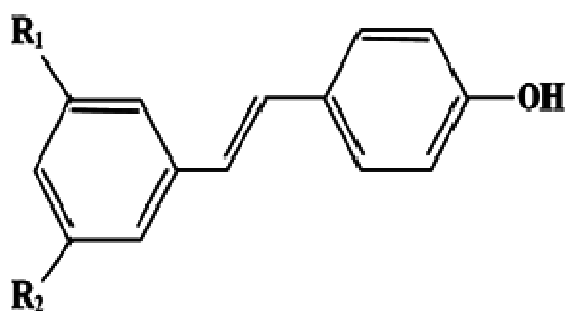


Figure 4: Structures de base de Stilbène (Perret, 2001)

Les xanthones

Généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes répondant à une structure de base (C6-C1- C6) (Figure 5) (Kone, 2009).

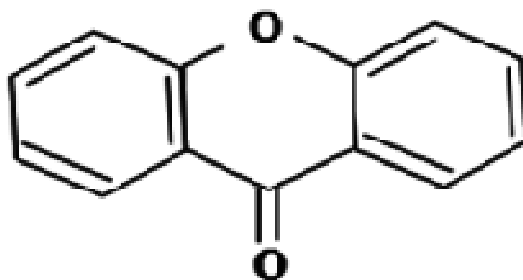


Figure 5: Structure de base des xanthones (Xanthéne-8-one) (Ampopo, 1977).

Les coumarines

Les coumarines, composés phénoliques non volatils, sont très répandues chez les végétaux, notamment dans les racines et les écorces ; d'odeurs agréables, certaines servent en parfumerie ; d'autres sont très toxiques telles que les aflatoxines des champignons inférieurs. Ce sont des dérivés du phénylpropane dont les précurseurs sont des acides hydroxycinnamiques (Garabeth et *al.*, 2007) Ceux sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Figure 6) (Iwueke, et al., 2008).

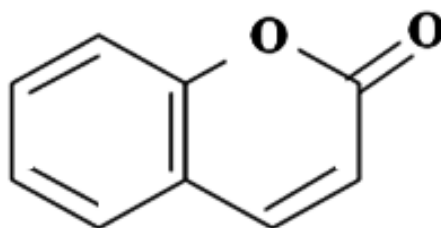


Figure 6: Structure de base des coumarines benzo-2-pyrone (Iwueke, et al., 2008).

2.2.3.2 Les formes condensées

Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques à haut poids moléculaire, que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992).

Les tanins sont divisés en deux grandes classes : tanins condensée et tanins hydrolysable (Ghestem, 2001).

Les tanins hydrosolubles : sont des esters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est soit l'acide gallique pour le groupe des gallotanins, soit l'acide ellagique pour le groupe des ellagitanins. (Ghestem, 2001).

Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (Guigniard, 1996).

Les tanins condensés ou proanthocyanidols : sont des polymères flavoniques rejoint avec les liaisons C-C ce qui rend ces molécules très difficilement hydrolysables. Ils ont été isolés ou identifiés de tous les groupes végétaux (Madhavi *et al.*, 1996 ; Traoré, 1999). Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, ...etc).

Les lignines

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005). Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique.

2.2.4 Activité biologique des composés phénoliques

Les composés phénoliques montrent différentes activités biologiques antibactériennes, anti-inflammatoires, anti-virales, anti-allergique, œstrogène et agents stimulants immunitaires (Larson, 1988 ; Tawaha, 2007). Ainsi, une activité antiprolifératif (Laroca *et al.*, 1990), anti-ulcéreuse et lipolytiques (Ahn *et al.*, 2008). les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (Paganga *et al.*, 1999).

L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés d'oxydo-réduction, qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs de l'hydrogène. En outre, ils ont le potentiel de chélation des métaux (Rice-Evans *et al.*, 1995).

Les acides phénoliques présentent des propriétés biologiques intéressantes: anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Bruneton, 1999).

Les propriétés les flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses. (Middleton et Kardasnam, 1993, Jannie *et al.*, 2006). Ils sont utilisés en bactériologie, en pharmacologie et en médecine en raison de leur propriété bactéricide (Iinuma *et al.*, 1994).

La principale activité attribuée aux flavonones et les flavonols, est une propriété vitaminique P veinoactive. Ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et

renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, diurétiques, antibactériens, antiviraux (Bruneton, 1999).

Les isoflavones sont des flavonoïdes dont leur distribution est restreinte, ce sont des phytoalexines (substances produites par la plante en réponse à une infection par un agent pathogène ; champignon par exemple). Ce sont donc des produits de défense naturelle, de puissants oestrogènes, insecticides, antitumoraux, réducteurs des manifestations de la ménopause (Kansole, 2009).

Les anthocyanes ont des activités antioxydants. Les anthocyanes inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), ce qui explique leurs propriétés vasculoprotectrices et anti-oedémateuse. Il s'agit, en outre, de composés veino-actifs doués d'une propriété vitaminique P (Bruneton, 1999).

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont essentiellement : leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase (Panglossi, 2006).

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, antimicrobienne, immunostimulantes, tranquillisantes, vasculodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Yoshikawa et *al.*, 1994, Gonzalez et Estevez-Braun, 1997 ; Kayser et Kolodziej, 1997). Applications potentielles dans la chimiothérapie de cancer (Saleem, 2005).

Les tannins ont la propriété de précipiter les protéines et les métaux lourds (Bate-Smith et Swain, 1962. Macheixet et *al.*, 2005, Kansole, 2009). Elles forment des complexes avec les protéines, hydrates de carbone, alcaloïdes, vitamines et les minéraux (Makkar, 1989 ; Muchuweti et *al.*, 2006). Elles peuvent chimiquement contribuer à la défense ainsi que de minimiser les dommages aux plantes causés par les insectes et les mammifères herbivores (Bi et *al.*, 1997), ainsi que ils ont propriété astringente (Mitjavila, 1971). Et antimicrobienne (Scalbert, 1991).

2.3 Généralités sur les caroténoïdes

2.3.1 Définition

Les caroténoïdes sont une grande famille qui regroupe plus de 600 molécules, elles sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes (Pastre, 2005).

Elles présents dans de nombreux végétaux (les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates), bactéries ou espèces animales (Marc et *al.*, 2004, Wang, 2003).

2.3.2 Classification

Les caroténoïdes sont subdivisés dans deux groupes : carotènes et xanthophylles (ou oxycarotenoids) (Olivier, et Palou. 2000, Wanasundara, et Shahidi, 2005).

Les carotènes sont des hydrocarbures de Polyène et varie par leur degré de l'insaturation, par exemple, β et α - carotène, lycopène (Figure 7),

Les xanthophylles sont dérivées des carotènes par hydroxylation et époxydation, de ce fait contenant l'oxygène, par exemple, astaxanthene, canthaxanthine.

Les principaux caroténoïdes incluent l'alpha carotène, bêta carotène, lycopène, phytofluène, lutéine, viloxanthine, anthéroxanthine, alpha cryptoxanthine et bêta cryptoxanthine (Hale, 2003).

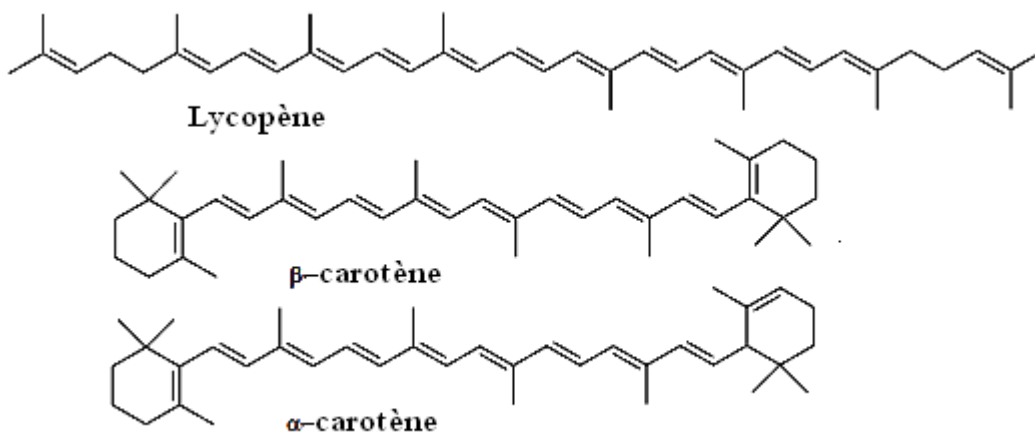


Figure 7: Exemple de carotènes parmi les plus connus (Hale, 2003).

2.3.3 Activité biologiques des caroténoïdes

Les caroténoïdes des fruits et végétaux ont des propriétés bénéfiques avec un intérêt suscité pour la prévention des maladies cardiovasculaire, le cancer et les pathologies chroniques (Rao et Rao, 2007). Les caroténoïdes ont également montré des activités antioxydantes (Krinsky, 2001).

2.4 Stress oxydatif et antioxydants

2.4.1 Stress oxydatif

2.4.1.1 Définitions

Un radical libre : Un radical libre est n'importe quelle molécule ou atome indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Christopher et *al.*, 1995). Il est très instable et réagisse rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Soit en cédant son électron, soit en s'associant à une autre molécule (Mayara, 2002). Il est important de signaler que tout les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants (Anderson et *al.*, 1996).

Espèces réactives de l'oxygène (ROS) : L'oxygène moléculaire présente dans l'atmosphère est indispensable à la vie des êtres vivants, elle constitue une source d'énergie, L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est pas total car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces derniers sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (les macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus (Müller, 1992; Harman, 1992).

Le Tableau (1) présente les principaux espèces oxygénées réactives radicalaires : la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (Halliwell, 1999), et non-radicalaires : caractérisées par un oxygène ne possédant pas d'électron célibataire, dont la toxicité est importante (Favier, 2003).

Tableau 1: Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Novelli et *al.*, 1997 ; Bartosikova et *al.*, 2003 ; Pham-Huy, 2008).

Symbole	Nom
Radicalaire	
OH [•]	radical hydroxyle
RO [•]	radical alkoxy
ROO [•]	radical peroxy
O ₂ ^{•-}	anion superoxyde
NO [•]	radical oxynitrique
NO ₂ [•]	bioxyde d'azote
HO ₂ [•]	radical hydroperoxyl
Non-radicalaire	
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
HClO	acide hypochloreux
ONOO ⁻	peroxynitrite
O ₂ ²⁻	anion peroxyde
HNO ₂	acide nitreux
O ₃	ozone
¹ O ₂	oxygène singlet
N ₂ O ₃	trioxyde de dinitrogen

• : Indique un électron non apparié dans couche externe de l'atome.

Stress oxydant : Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la signalisation cellulaire (Favier, 2003). Les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. S'il ya un le déséquilibre entre la génération des ROS et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, On parle alors de "Stress oxydant" (Aravodis, 2005). Le stress oxydant peut exister à cause soit d'une surproduction radicalaire par : tabac, alcool, pollution, ..., ou soit d'une diminution des capacités antioxydants par : insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques.

Le stress oxydant a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Aravodis, 2005). Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont : l'acide désoxyribonucléique (ADN) (modification des bases, cassure des brins) (Rehman et *al.*, 1999), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides (peroxydation lipidique) (Hu et *al.*, 2005).

Et qu' il est impliqué dans de très nombreux désordres et maladies : athérosclérose (Ko et al., 1998 ; Harrisson et al., 2003), la cancérogenèse (Hussain et al. 2003 ; Klaunig et Kamendulis, 2004), l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le mongolisme (Cavin, 1999), les maladies cardiovasculaires, arthrose, cataracte, le diabète, chute de cheveux et le vieillissement (Tohda et al., 2004; Pastre et priymenko, 2007 ; Surveswaran et al., 2007 ; Bekro et al., 2008).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

2.4.2 Les antioxydants

2.4.2.1 Définition d'un antioxydant

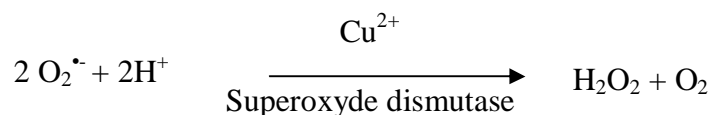
Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable (les molécules oxydées *in vivo* par les espèces oxygénées réactives), qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat (Halliwell., 1999). À la fois une molécule antioxydante peut réagir avec les radicaux libres simples et est capable pour neutraliser les radicaux libres par le don de leurs propres électrons (Jacob, 1995).

2.4.2.2 Classification des antioxydants

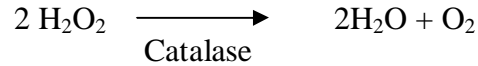
Les antioxydants sont fréquemment classés de diverses façons dans la littérature. Nous avons choisi de Classées comme suit :

- Les défenses antioxydantes enzymatiques.
- Les défenses antioxydantes non-enzymatiques : pourront être soit endogènes, soit exogènes (les antioxydants naturels et synthétiques).
 - **Antioxydants enzymatiques**

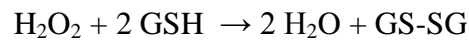
Superoxyde dismutase (SOD) : Le superoxyde dismutase (EC : 1.15.1.1) est une métalloprotéine (Théron et Bonnefont-Rousselot, 2005), cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres. Dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H₂O₂ et O₂. (Comhair, et, Erzurum, 2002) selon la réaction suivante :



Les catalases : La catalase est une enzyme (EC 1.11.1.6) L'activité principale de la catalase est la dismutation de deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 , (Chelikani, 2004). selon la réaction suivante:



La glutathion peroxydase : La glutathion peroxydase est une enzyme (EC 1.11.1.9), présente dans le cytoplasme des cellules, assure la transformation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en présence d' H_2O et le monomère GSH en dimère de glutathion liés par un pont de disulfure (liaison entre deux bases de cystéines.) (Boutabet 2007).



L'hème oxygénase : L'hème oxygénase dégrade l'hème (prooxydant) en bilirubine qui est un antioxydant capable de prévenir l'oxydation des Lipoprotéines de faible densité. Il existe l'hème oxygénase constitutive et inductible (Ryter, et Tyrrell, 2000).

▪ Antioxydant non-enzymatiques

Il existe deux types :

Antioxydants endogènes : Qui sont fabriqués par les cellules de notre corps.

Le glutathion : Le glutathion est un élément important dans les réactions antioxydantes (Figure 8). Il est synthétisé *in vivo* par la γ -glutamylcystéine synthétase et la glutathion synthétase en présence d'ATP. il est un très bon capteur des espèces oxygénées réactives (Peskin *et al.*, 2001).

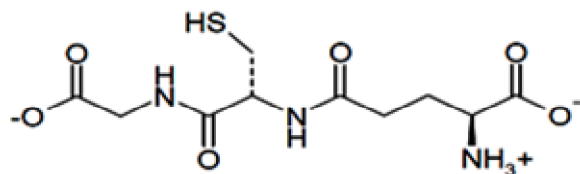


Figure 8: Structure du glutathion (Peskin *et al.*, 2001).

L'acide urique : L'acide urique est un piègeur de $^1\text{O}_2$, des radicaux peroxy et hydroxyles (RO_2^\bullet et HO^\bullet), de l'ozone et de HClO . La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO^\bullet .

Les protéines non enzymatiques (albumine, haptoglobine et transferrine) : Ces composés jouent un rôle antioxydant par chélation des ions, ils maintiennent les métaux dans un état inactif pour éviter la formation d'Espèces Réactives de l'Oxygène (Muanda, 2010).

Les oligo-éléments : Ces oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres., Parmi ces oligo-éléments, le cuivre, le zinc, le sélénium et le manganèse (Cu, Zn-SOD, Mn SOD, Se GPx) (Pastre, 2005) .

Antioxydants exogènes : Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

L'acide ascorbique (Vitamine C) : L'acide ascorbique (Figure 9) est un puissant réducteur. Il agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l'O_2^\bullet et le ONOO^-).

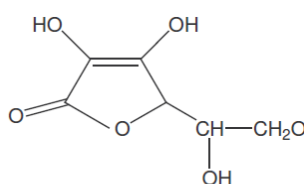


Figure 9: Structure d'acide ascorbique (Amadou, 2004).

Le tocophérol (Vitamine E) : La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble, Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, Elle est retrouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Aouissa, 2002).

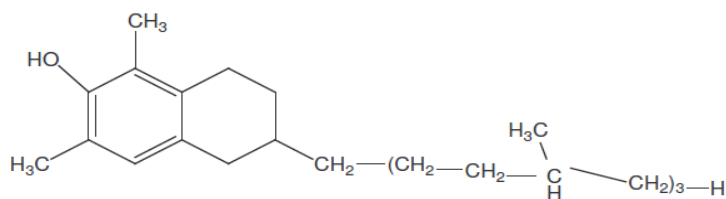


Figure 10: structure de tocophérol (Amadou, 2004).

Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont pour la plupart des composés polyphénoliques.

Les flavonoïdes : Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Pastre, 2005).

Les coumarines : Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxy. Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Anderson et *al.*, 1996).

Les stilbénoides : Les stilbènes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines. Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires.

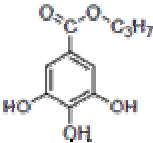
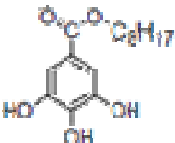
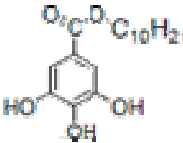
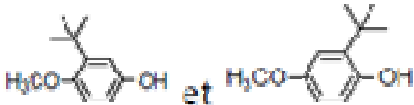
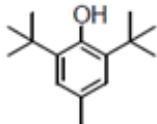
Les xanthonnes : Les xanthonnes possèdent des propriétés d'inhibition envers les anions superoxydes (Panglossi, 2006).

Les caroténoïdes : Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxy et alkoyles, en capturant les radicaux libres (Krinsky, 1989).

Les antioxydants synthétiques

Il existe aussi de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels. Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments.

Tableaux 2: Structures de quelques antioxydants synthétiques (Portes, 2008).

Noms	Structures
Gallate de propyle (E310)	
Gallate d'octyle (E311)	
Gallate de dodécyle (E312)	
Butylhydroxyanisole ou BHA (E320) 2 isomères	
Butylhydroxytoluène ou BHT (E321)	

2.4.2.3 Mécanisme d'action d'un antioxydant

Les mécanismes d'action d'un antioxydant d'après (Halliwell, 1996) peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ROS ;
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

3.1 Matériels

3.1.1 Matériel végétal

Les racines de *Bunium incrassatum* (Figure 11) ont été achetées du marché local de la Wilaya de Tlemcen pendant le mois de Mars 2013. Elles sont fraîches et ne présentant aucun signe de dommage physique ou d'attaque microbienne.

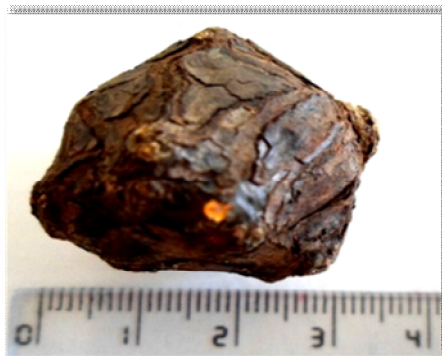


Figure 11: Racine de *Bunium incrassatum* d'Algerie.

La taille moyenne des racines est 2.74 ± 0.5 mm et d'un poids moyen de 11.61 ± 3.34 g.

Les racines ont été nettoyées, lavées avec de l'eau distillé. Des échantillons ont été scindées en trois parties : Partie A ; les racines entières (chair+écorce), Partie B ; la chair des racines, Partie C ; l'écorces des racines. Ces parties ont été découpées et séchées à l'ombre (Figure 12).



(A)



(B)



(C)

Figure 12: Représentation les trois parties des racines de *Bunium incrassatum* utilisées.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Les différentes parties ont été broyées finement à l'aide d'un mixeur commercial et les poudres obtenues sont stockées à l'abri de la lumière dans des flacons en plastiques, hermétiquement fermés.

3.1.2 Produits chimiques

Le 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), le Folin-Ciocalteu (FC), le 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) et le carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont fournis par Sigma-Aldrich-Aldrich Inc. (St Louis, Missouri, Etats-Unis). L'hydroxyanisole butylé (BHA), l'acide L-ascorbique (Vita C), l'acide gallique (AG), la quercétine (Q) et le méthanol ont été fournis par Fluka (Deisenhofen, Suisse). Tous les autres produits chimiques sont d'un grade analytique.

3.2 Méthodes

3.2.1 Préparation des extraits méthanoliques bruts

2.5 g de poudre de racine entière, de chair, et d'écorce de racines, ont été macérés dans 25 ml de méthanol absolu sous agitation magnétique 150 t/mn à 25 °C pendant 24 heures dans des flacons en verre. Les macéras obtenus sont ensuite filtrés sur papier filtre. Les filtrats récupérés sont évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse) à 45°C. Les extraits secs sont dissous dans un faible volume de méthanol à des concentrations appropriées et stockés au réfrigérateur à + 4 °C pour une utilisation ultérieure. Le rendement d'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Le rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait après évaporation du solvant}}{\text{masse de matière végétale utilisée pour l'extraction}} \times 100$$

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 100 grammes de la matière sèche.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

3.2.2 Dosage des composés phénoliques totaux

La quantité de composés phénoliques totaux a été déterminée en employant la méthode de Foline-Ciocalteu comme décrit par Al-Laith (2010).

3.2.2.1 Principe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en un Mélange de complexes des hétéropolyacides ; des acides phosphotungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdène ($H_3PMO_{12}O_{40}$), de couleur jaune. En milieu alcalin, ce réactif «Folin-Ciocalteu», oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. (Daels-Rakotoarison, 1999). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 765 nm. L'absorbance, par référence à une gamme étalon obtenue avec un acide phénolique (acide gallique), permet de déterminer la quantité de polyphénols totaux présente dans un extrait (Chaabi, 2008).

3.2.2.2 Mode opératoire

Dans un tube à essai, 40 μ l d'extrait méthanolique convenablement dilué (méthanol pour le blanc) est ajoutés à 3.16 ml d'eau distillé, puis 0.2 ml réactif de Folin-Ciocalteu concentré est ajouté.

Après 3 minutes d'incubation à température ambiante, 0.6 ml de carbonate de sodium à 20% (m /v) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé dans un bain marie à 40°C pendant 30 minutes. L'absorbance du milieu est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6405 UV/Vis). Une courbe d'étalonnage d'acide gallique a été réalisée dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du résidu sec de la plante (mg EAG/g de résidu sec).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

La courbe d'étalonnage est établie en utilisation d'acide gallique, Cette courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9943$ (Figure 13).

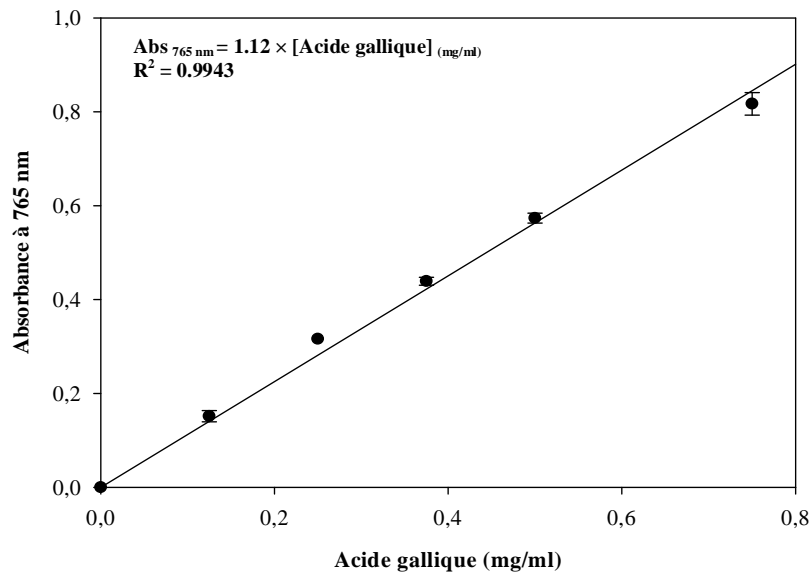


Figure 13: Droite d'étalonnages d'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux.

3.2.3 Teneur des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes des extraits bruts méthanolique a été déterminée spectrophotométriquement selon la méthode décrite par Kim *et al.* (2003).

3.2.3.1 Principe

Le principe de la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) est que le chlorure d'aluminium forme les complexes stables avec le groupe du cétonique C-4 et C-3 ou le groupe de l'hydroxyle C-5 de flavones et de flavonols (Figure 14). En outre, le chlorure d'aluminium forme les complexes avec groupes ortho-dihydroxyl dans cycle A ou B du

Chapitre 2. Matériels et méthodes

flavonoïde (Mabry *et al.*, 1970). Qui absorbent environ de 420 nm, Ce dosage est effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon de quercétine de concentration connue.

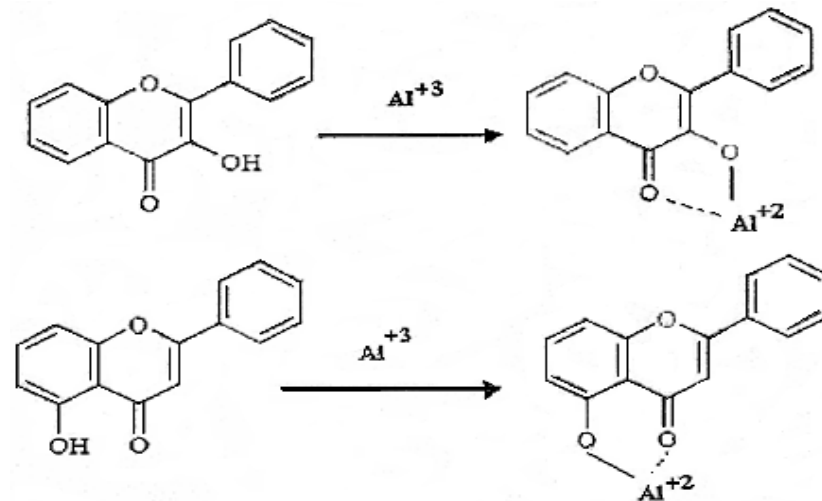


Figure 14: complication de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Mabry *et al.*, 1970).

3.2.3.1 Mode opératoire

Une quantité de 490 μ l de méthanol a été mélangée avec 10 μ l de l'extrait concentré de chaque partie (méthanol pour le blanc) et par la suite avec 0,03ml d'une solution de nitrite de sodium $NaNO_2$ à 5%. 0,02ml d'une solution d' $AlCl_3$ à 10% a été ajouté. Après 5 minutes on additionne au mélange 1 ml de solution de $NaOH$ (1M). L'ensemble est bien agité et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (Figure 15).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

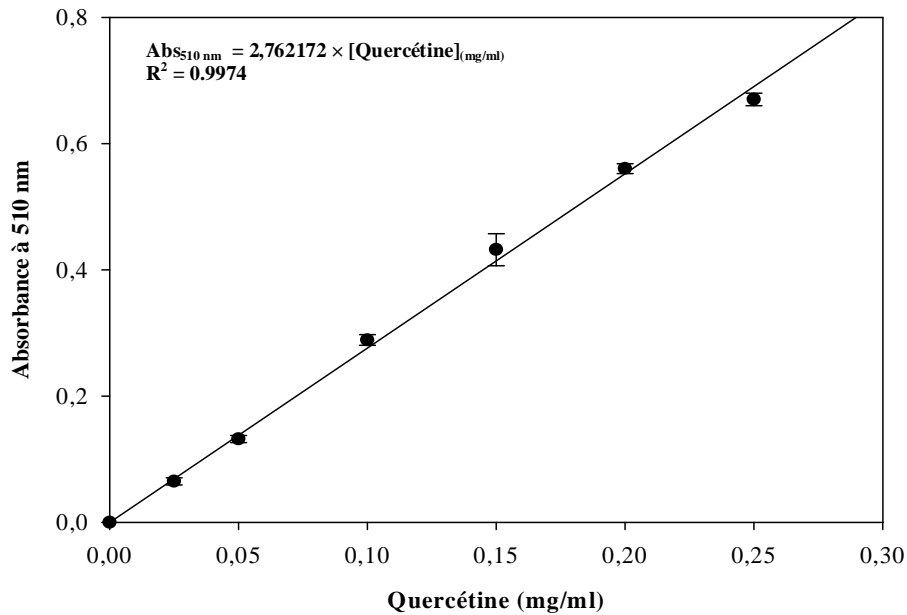


Figure 15: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine par gramme du résidu sec de la plante (mg EQ/g du résidu sec).

3.2.4 Dosage des caroténoïdes totaux

Les solutions des extraits méthanoliques de *Bunium incrassatum* à des concentrations appropriées ont été analysées dans un spectrophotomètre d'UV/VIS à 470, à 653 et à 666 nm. Les concentrations des caroténoïdes et des chlorophylls a et b ont été déterminées selon les équations rapportées par Lichtenthaler *et* Wellburn (1985), comme suit :

$$\text{Caroténoïdes totaux (mg/ml)} = 1000 \times Abs_{470} - 2.86 \times C_a - ((129.2 \times C_b) / 245)$$

$$\text{La chlorophylle a (mg/ml)} = 15.65 \times Abs_{666} - 7.34 \times Abs_{653}$$

$$\text{La chlorophylle b (mg/ml)} = 27.05 \times Abs_{653} - 11.21 \times Abs_{666}$$

Les caroténoïdes totaux ont été exprimés en milligrammes de caroténoïdes par millilitre d'extrait.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

3.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques par le test DPPH

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire, des différents extraits des racines de *Bunium incrassatum*, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Blois (1958). Avec quelques modifications.

3.2.5.1 Principe

La méthode de test DPPH est basée sur la réduction de DPPH (un radical libre stable). Le radical libre DPPH avec un électron impair donne une absorption maximum de 517 nm (couleur pourpre). En présence d'un donneur d'hydrogène (antioxydant), le DPPH est réduit à la forme non radicalaire DPPH-H de couleur jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième (Figure 16), résulte d'une diminution de l'absorbance de DPPH (Mohammad *et al.*, 2009). Plus la décoloration est importants, plus les capacités réductrices est élevée (Sanchez-Moreno, 2002, Ganie, 2012).

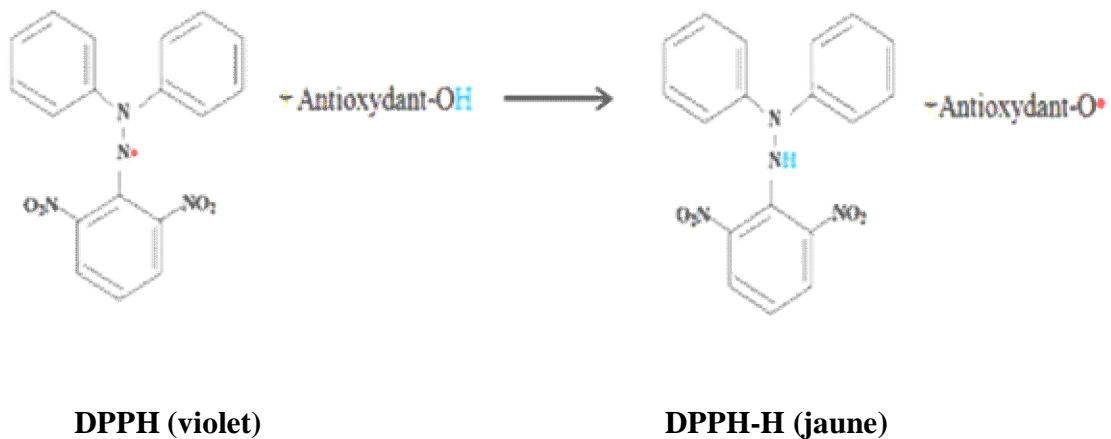


Figure 16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Kouamé., *et al.* 2009).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

3.2.5.2 Mode opératoire

De diverses concentrations de l'extrait méthanolique des trois parties (0.1 ml) ont été ajoutées à 2.9 ml de solution méthanolique contenant le radical de DPPH (0.1 millilitre), respectivement.

L'absorbance a été mesurée à 517 nm après que le mélange ait été secoué et incubé à la température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. Le méthanol a été employé en tant que blanc. Le Vita C, le Trolox, et le BHA, ont été employés comme des standards. Ils ont été mesurés dans les mêmes conditions que les échantillons. Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de deux mesures obtenues.

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC_{50} qui est la concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits (Bidie, *et al*, 2011). Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Laib *et Barkat*, 2011).

Le pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé comme suit (Molan *et al.*2012):

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{(contrôle)}} - A_{\text{(extrait)}}}{A_{\text{(contrôle)}}} \times 100$$

Où, $A_{\text{(contrôle)}}$: absorbance en absence de l'inhibiteur

$A_{\text{(extrait)}}$: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance antiradicalaire (Brandwilliams *et al.*, 1995).

$$\text{ARP} = 1/IC_{50}$$

ARP : Puissance anti radicalaire

IC_{50} : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

3.2.6 Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=2 à 3). Les courbes d'étalonnages et de l'activité antiradicalaire des différents extraits sont effectuées par le logiciel SigmaPlot.

Chapitre 3. Résultats et discussion

4.1 Rendement d'extraction

Nous avons réalisé des extractions par le méthanol, qui est un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques relativement polaires des plantes (Zeng et *al.*, 2012). Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en g/100 g de la matière sèche (Tableau 4).

Tableau 4: Les rendements des extraits méthanoliques de trois parties de la racine de *Bunium incrassatum* d'Algérie.

Partie de la racine	Aspect Couleur	Concentration (mg/ml)	Rendement d'extraction (g/100 g de la matière sèche)
Racines entières	Marron-Orange	171.66±6.13	10.30±0.37
Chair	Marron-Orange	184.00±7.54	11.04±0.45
Ecorces	Marron-Orange foncé	046.25±6.01	02.07±0.21

Une étude faite par Amadou (2004) montre que le rendement d'extraction à partir de l'écorce de la racine de *Combretum glutinosum* par le méthanol comme solvant est de 8.70%. Ce rendement est supérieure par rapport à celui obtenu avec l'écorce de racine la plante *Bunium incrassatum* (2.07-11.04%).

La différence entre les rendements d'extraction peut être expliquée par l'effet du type de solvant utilisé, la méthode d'extraction, la nature chimique des constituants à extraire.

4.2 Dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux et des caroténoïdes totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique comme standard (Al-Laith, 2010).

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé à l'aide de la méthode du trichlorure d'aluminium (Kim, 2003) avec la quercétine comme standard.

Les caroténoïdes totaux ont été analysés à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis à différentes longueurs d'ondes 470, à 653 et à 666 nm selon la méthode de Lichtenthaler et al. (1985). Les résultats des dosages sont représentés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Les teneurs des caroténoïdes, des flavonoïdes et des phénols totaux des extraits méthanoliques de Trois parties des racines de *Bunium incrassatum* d'Algérie.

Partie de la racine	Caroténoïdes (mg/ml)	Flavonoïdes (mg/g)	Phénols totaux (mg/g)
Racines entières	405.57±19.80	0.62±0.06	1.77±0.02
Chair	263.30±12.04	0.61±0.00	2.14±0.18
Ecorces	371.5±0.1	11.35±0.70	74.88±0.91

Les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que l'écorce de la racine est la plus riche en composés phénoliques (74.88±0.91 mg EAG/g de résidu sec), suivi par la chair de racines (2.14±0.18 mg EAG/g résidu sec) et la racine entière (1.77±0.02mg EAG/g de résidu sec).

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium montre que l'écorce (11.35±0.70 mg EQ/g de résidu sec) est la plus riche en flavonoïdes. La racine entières et la chair ont une teneur faible en flavonoïdes et sont relativement similaires.

Le dosage des caroténoïdes montre que la teneur la plus élevée est celle de la racine entière (405.57±19.80 mg/g ml d'extrait), suivie par l'écorce de racines (371,49±0,09 mg/ml d'extrait), et la chair (263.30±12.04 mg/ml d'extrait).

D'après ces résultats, nous avons remarqué l'existence d'une corrélation entre la teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques.

En comparant nos résultats avec ceux cités dans la littérature sur des espèces végétales de la même famille (Apiaceae), la teneur de *Bunium incrassatum* en polyphénols est similaire par rapport à *Heraclum goeganicum* (1.31±0.12 mg EAG/g ; Mazandarani et al., 2011) mais elle est plus faible par rapport à celle de *Selinum vaginatum* (22.74±1.23mg EAG/g) (Panday et al., 2013).

Les travaux d'Ahmed et al. (2011), la teneur en composé phénolique des extraits méthanoliques des racines de quatre espèces du genre *Prangos* (*P. ferulacea*, *P. heyniae*, *P. meliocarpoides* var. *meliocarpoides*, et *P. uechtritzi*) est respectivement 96.76, 95.99, 77.94, et 120.73mg/ml.

Chapitre 3. Résultats et discussion

Il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres travaux car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, et de différentes parties de la plante utilisables, réduit la fiabilité d'une comparaison.

4.3 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la racine de *Bunium incrassatum* par la méthode DPPH

Le test de DPPH a été réalisée afin d'évaluer les propriétés antioxydantes et antiradicalaires des extraits méthanoliques des différentes parties de la racine de la plante *Bunium incrassatum* par la mesure de la diminution de l'absorbance du radical DPPH après exposition aux piègeurs des radicaux. L'étude de la capacité de piégeage de DPPH[•] est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante dans un temps court.

Le DPPH[•] est un radical libre stable capable d'accepter des électrons ou d'atome d'hydrogène radicalaire pour se transformer en molécule stable (Yim et *al.*, 2010, Yermilov et *al.*, 1995).

L'activité antiradicalaire des extraits de *Bunium incrassatum* vis-à-vis le radical DPPH a été évalué par spectrophotométrie à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les substances qui provoquent cette réaction sont considérées comme des antioxydants et par conséquent des piègeurs de radicaux libres.

Nous avons constaté que l'ajout d'un extrait méthanolique des différentes parties de la racine à une solution de DPPH provoque une diminution significative de son absorbance. Ce résultat confirme que la racine de *Bunium incrassatum* contient des donneurs d'hydrogène ou d'électrons capables de piéger le radical DPPH. Le piégeage ce radical libre dépend aussi de la concentration de l'extrait méthanolique.

Les Figures 17 et 18 montrent respectivement les profils de l'activité antiradicalaire obtenue pour les différentes parties de la racine de *Bunium incrassatum* et celui des standards. Les IC₅₀ et APR de chacun des extraits ont été déterminés (Tableau 6).

L'extrait méthanolique de l'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* inhibe le radical DPPH de façon plus importante par rapport aux autres extraits ceci est démontré par l'allure exponentielle du graphe avec l'apparition d'une phase stationnaire qui indique une réduction totale du radical DPPH (Kanoun, 2011). L'activité antioxydante de l'écorce de la

Chapitre 3. Résultats et discussion

racine de *Bunium incrassatum* est peut être due à sa richesse en composés antioxydants puissants.

Dans le but d'une comparaison entre le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de différentes parties de la racine les valeurs IC_{50} et ARP ont été calculées où IC_{50} est la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH à 50% dans les conditions expérimentales et ARP représente l'inverse de cette valeur. L'activité de piégeage du radical DPPH est plus élevée pour une valeur IC_{50} plus faible (Nandhakumar, 2012).

La Vit C, le Trolox et le BHA ont été utilisés comme antioxydants standards et leur valeur d' IC_{50} ainsi calculées sont respectivement : 0.12, 0.17 et 0.12 mg/ml. Ils ont montrés une activité antiradicalaire très puissante par rapport aux extraits méthanoliques de la racine entière et de la chair tandis qu'elle est très faible par rapport à celle de l'extrait méthanolique de l'écorce de *Bunium incrassatum*.

D'après les valeurs d' IC_{50} (Tableau 6), on remarque clairement que les extraits méthanoliques de la racine et la chair de *Bunium incrassatum* ont des activités antiradicalaires nettement inférieures par rapport à celle déterminée avec l'extrait méthanolique d'écorce de la racine qui donne une activité de piégeage de DPPH la plus élevée ($IC_{50} = 0.01$ mg/ml). Ces résultats confirment que l'extrait méthanolique riche en composés phénoliques ont le pouvoir antioxydant le plus élevé (Bulda et al., 2008).

Selon la valeur d' IC_{50} les capacités de piégeage du radical DPPH des différentes parties de la racine de *Bunium incrassatum* sont classées dans l'ordre : écorce de la racine > racine entière > chair.

Il ya des études ont montré que les substances phénoliques, comme les flavonoïdes et les acides phénoliques, sont considérablement plus anti-oxydants que la vitamine C et la vitamine E (Cao et al., 1997 ; Vinson et al., 1995).

La capacité de piégeage du radical DPPH par l'extrait méthanolique de la racine de *Bunium incrassatum* peut être expliqué par la présence des composés plus donneur d'hydrogène ou aux composés phénoliques non polaires comme les caroténoïdes et les tocophérols (Barros et al., 2008 ; Mui et al., 1998 ; Bondet et al., 1997).

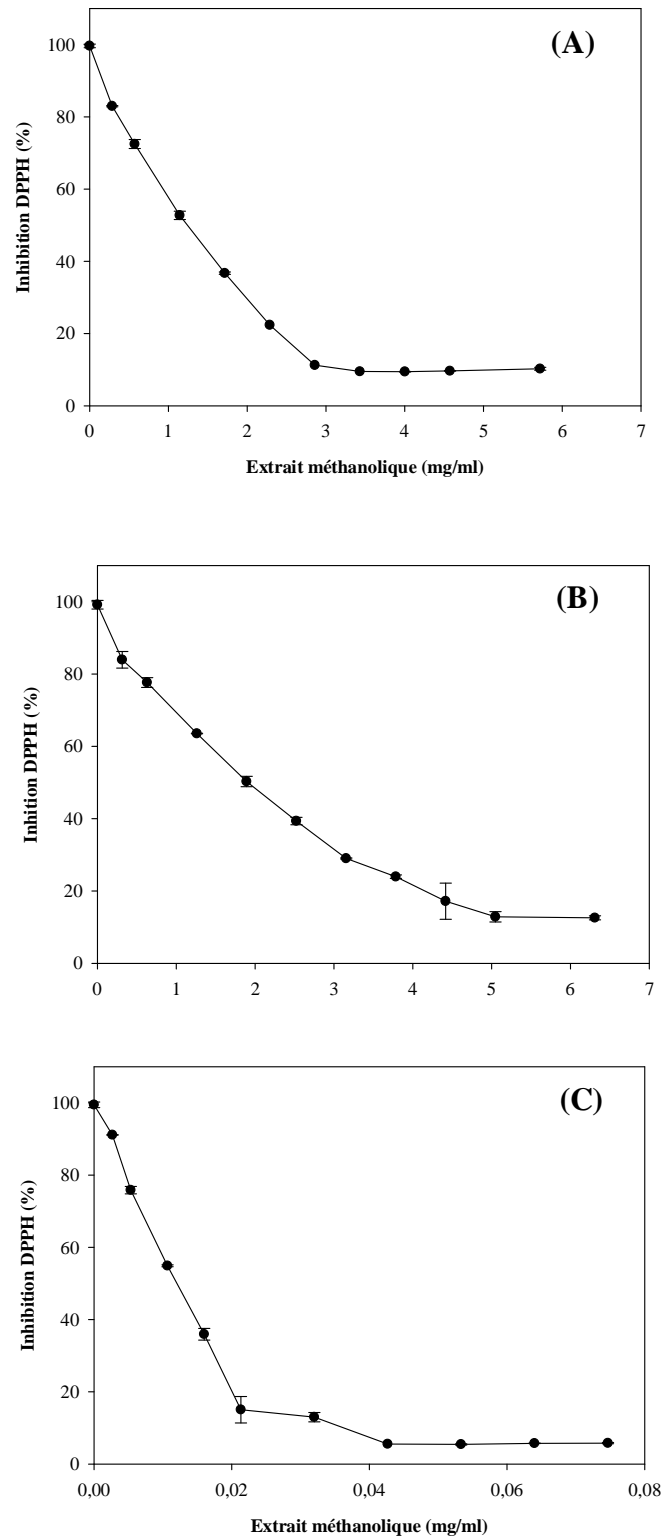


Figure 17 : Présentations graphiques des pourcentages de DPPH résiduels en fonction de concentration des extraits méthanoliques des racines du *bunium incrassatum*.

A: Extrait méthanolique des racines entières. B: Extrait méthanolique de la chair des racines. C: Extrait méthanolique de l'écorce des racines.

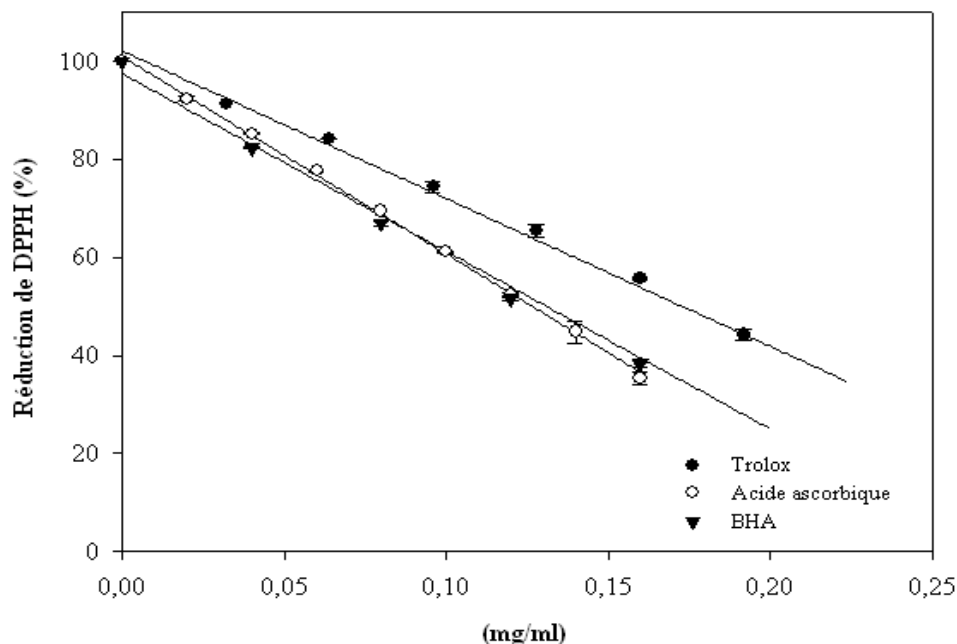


Figure 18: Courbes représentant la variation des pourcentages des de DPPH résiduels en fonction des concentrations des antioxydants standards (Trolox, VC, BHA) pour le test du DPPH.

Les valeurs d'IC₅₀ des extraits méthanoliques de la racine de *Bunium incrassatum* d'Algérie sont dans la gamme des valeurs trouvées pour des extraits méthanoliques de différentes plantes de la même famille botanique (Tableau 7).

Tableau 6: Les valeurs d'IC₅₀ et de l'APR des extraits méthanoliques de chair, d'écorce et de la racine entière des *Bunium incrassatum* et des antioxydants standards (Vit C, Trolox et BHA) obtenues par le test de DPPH.

Partie de la plante	IC ₅₀ (mg/ml)	APR (mg/ml) ⁻¹
Racines entières	1.23±0.00	0.81±0.00
Chair	1.88±0.02	0.53±0.00
Ecorce	0.01±0.00	88.34±2.41
<i>Antioxydants standards</i>		
Vit C	0.12±0.00	7.90±0.13
Trolox	0.17±0.00	5.62±0.00
BHA	0.12±0.00	7.92±0.03

Tableau 7: IC₅₀ des extraits méthanoliques des racines de quelques espèces (Apiaceae) par le teste DPPH, obtenue par la bibliographie.

Espèces	IC ₅₀ mg/ml	Références
<i>Alangium salvifolium</i>	0.120	Vineet et al. (2010)
<i>Angelica sinensis</i>	0.375	Guo et al. (2008)
<i>Daucus carota</i>	0.624	Patel Mital et al. (2011)
<i>Heracleum garganicum</i>	0.230	Mazandarani et al. (2012)
<i>Heracleum persicum</i>	0.438	Coruh et al. (2007)
<i>Selinum vaginatum</i>	0.165	Pandey et al. (2013)
<i>Eryngium maritimum</i>	0.235	Kholkhal et al. (2012)

Toutefois il est important de noter que l'utilisation de différents protocoles de mesure et d'extraction, de différents indices d'évaluation de l'activité antioxydante réduisent la fiabilité d'une éventuelle comparaison entre les valeurs obtenues (Popovici et al., 2009).

Conclusion

Les substances naturelles d'origine végétale occupent une place non négligeable en thérapie traditionnelle.

Le présent travail a porté sur l'étude du pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de trois compartiments de la racine de *Bunium incrassatum* (racine entière, la chair et l'écorce de la racine) par la méthode DPPH.

Les différents compartiments de la racine de cette plante sont riches en polyphénols, en flavonoïdes et en caroténoïdes. L'écorce de la racine renferme les teneurs les plus élevées en ces métabolites.

L'extrait méthanolique de l'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* est capable de piéger plus efficacement le radical libre DPPH par rapport aux autres extraits et aux antioxydants synthétiques. Cet extrait constitue une source prometteuse d'un antioxydant naturel à valoriser pour envisager des applications agro-alimentaires et pharmaceutiques.

Ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de compléter cette étude en réalisant par exemples un fractionnement de l'extrait méthanolique de l'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* pour pouvoir isoler et identifier les molécules responsables de son pouvoir antioxydant puissant par le biais d'une chromatographie en phase liquide à haute performance. D'autres tests de détermination du pouvoir antioxydant et anti-radicalaire seront également souhaitables.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ahmed, J., Guvenc A., Kucukboyaci, N., Baldemir, A., Coşkun, M. 2011. Total phenolic contents and antioxidant activities of Prangos Lindl. (Umbelliferae) species growing in Konya province (Turkey). *Turk J Biol.* 35: 353-360.
- Ahn, K. C., Zhao, B., Chen, J., Cherednichenko, G., Sanmarti, E., Denison, M. S., Lasley, B., Pessah I, N., Kultz, D., Chang, D, P. 2008. In vitro biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-based bioassay screens. *Environ Health Perspect* 116:1203–1210.
- Al-Laith, A, A, A. 2010. Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23:15–22.
- Amadou, B, S 2004. Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae). *These de doctorat*. universite de Bamako, pp :84.
- Ampopo, O., 1977. Plants that heal. *World Health.* 26 - 30.
- Anderson, C, M., Hallberg, A., Hogberg, T. 1996. Advances in the developpement of pharmaceutical antioxidant drug. *Food Chem*, 28: 65-180.
- Anonyme 2013. <http://www.Conservation-nature.fr>
- Aouissa, I, W, R. 2002. Etude des activites biologiques et de la toxicite aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *mangifera indica* l. (anacardiaceae). *Thèse de doctorat* .Université de Bamako. p 127.
- Appendino, G., Özen HC., Jakupovic., J. 1994. Prenylated Isocoumarins from *bunlua4 Pauczfolzum*. *Phyrochemurry. M (2): pp 531-532*. Pergamon 1594. Printed in Great Britain.
- Appendino, G., Özen, H, C., Lusso, P., Cisero, M. 1991. A sesquiterpene ketal from *Bunium paucffolium*. *Php&emistry*, Vol. 30, No. 10, pp. 3467-3468.19 91. Printed in Great Britain
- Aravodis, E. 2005. Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4 (2):128-133.
- Baliga, M, S. 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L). *Food Research International.* 44. 1812–1822.
- Barboni, T. 2006. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. *Thèse de doctorat* ,Université de Corse, p26.
- Bartosikova, L., necas, J., Suchy V., Kubinova R., 2003. Antioxydative effects of morine inischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. *Drug and Chemical Toxicology*, 72:87-94.
- Battanndier., T. 1888. Flore de l'Algérie : ancienne flore d'Alger transformée. *Algerie* p : 346.
- Bekro, J, A, M., Konan, K, M., Békro, Y, A., Djíé, Bi, M, G., Zomi, Bi T.J., Mambo, V., Boua, B, B . 2008. Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Cote D'ivoire and assensment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *Euro Journal Publishing*, 24(2) : 219-228.
- Bidie, A, D, P., N'guessan, B, B., Yapo, A, F., N'guessan, J, D., Djaman, A, J. 2011. Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature.* 8 (1) : 1 – 11.
- Blois, M, S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.*181:1199–1200.
- Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., Rhouati, S., 2011. Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity, *Arabian Journal of Chemistry*, University Mentouri-Constantine Algeria, Faculty of Science, Laboratory of Natural Products and Organic Synthesis, Department of Chemistry, Oum El Bouaghi, Algeria.
- Boutabet, K., 2007. Etude pharmacochimique de l'extrait de propolis au cours d'un stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. *Thèse de Magistère de l'université de Jijel*.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M, E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*, 28: 25-30.
- Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. *3ème Ed Tec&Doc. Paris.*

- Cao, G, Sofic, E., Prior, R, L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids : structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med* ; 22 (7): 749-60
- Cavin, A. 1999. Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires, *Tinospora crispera* (Menispermaceae) ; *Merremia emarginata*(convolvulaceae) et *Orphea enneandra* (Annonaceae). *Thèse de doctorat*. Lausanne, p 243.
- Chaabi, M. 2008. Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). These de doctorat. P :35.
- Chelikani, P., Fita, I. 2004. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 2004, 61, 192-208.
- Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., Teissedre, P, L. 2008. Grape Variety Effect on Proanthocyanidin Composition and Sensory Perception of Skin and Seed Tannin Extracts from Bordeaux Wine Grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two Consecutive Vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 545-553.
- Christopher, T, A., Lopez, B, L., Yue, T, L., Feuerstein, G, Z., Ruffolo, R, R., Ma, X, L. 1995. Carvedilol, a new beta-adrenoreceptor blocker, vasodilator and free-radical scavenger, exerts an anti-shock and endothelial protective effect in rat splanchnic ischemia and reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther*, 273: 64-71.
- Comhair , S, A, A., Erzurum, S, C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283: 246 - 255.
- Coruh, N., A. G. Sagdicoglu, C ., Ozgokce, F. 2007. 'Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase'. *Food Chemistry* 100: 1237-1242.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*. Vol. 43, No. 4: 348-361. Italy.
- Daels-rakotoarison, D. 1999. Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier. *Thèse de doctorat*. Université de Lille II. France. 172 (64).
- De Barros, M, P., Lemos, M., Maistro, E, L., Leite, M, F., Sousa, J, P, B., Bastos, J, K., de Andraded, S, F. 2008. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 120, 372–377.
- Favier, A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- Ganie, S, A., Jan, A., Muzaffar, S., Zargar, B, A., Hamid, R., Zargar, M, A. 2012. Radical scavenging and antibacterial activity of *Arnebia benthamii* methanol extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* .766-772.
- Garabeth et al., 2007
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A, M. 2001. Le préparateur en pharmacie. Ed. Médicales Internationales. *Botanique-Pharmacognosie-Phytotherapie-homeopathie. Tec et Doc* , Paris . p 108-272.
- Guo, D., Cheng, H., Chan, S., Yu, P, H. 2008. Antioxidative activities and the total phenolic contents of tonic Chinese medicinal herbs. *Inflammopharmacology* , China. 16: 201–207.
- Hale, A., 2003. Screening potato genotypes for antioxidant activity, identification of the responsible compounds and differentiating Russet Norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Texas A&M University. *These Doctorat* .
- Halliwell, B. 1999. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 9: 1-32.
- Halliwell, B., 1996. Antioxydants in human health and disease. *Annu. Res. Nutr.*, 16 : 33-50.
- Halliwell, B., Gutteridge, J, M, C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemistry Journal*, 219, 1–14.
- Halliwell, B., Gutteridge, J, M, C. 2003. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Harrisson, D., Griendling, K, K., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H., 2003. Role of oxidative stress in artherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91:7-11.

- Hu, S, G., Li, L., He, X, W. 2005. Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 1062:31-37.
- Hussain, S, P., Hofseth, L, J., Harris, C, C. 2003. Radical causes of cancer. *Nature*. 3(2) :76-285.
- Iinuma, M., Tsuchiya, H., Sato, M., Yokoyama, J., Ohyama, M., Ohkawa, Y., Tanaka, T., Fujiwara, S., Fujii, T. 1994. Flavanones with potent antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol*. 46(11): 892-895.
- Iwueke, A,V., Nwodo, O, F,C. 2008. Antihyperglycaemic effect of aqueous extract of *Daniella oliveri* and *Sarcocephalus latifolius* roots on key carbohydrate metabolic enzymes and glycogen in experimental diabetes. *Biokemistri* 20: 63 - 70.
- Jacob, R, A. 1995. The integrated antioxidant system, *Nutrition Research*, 15: 755-766.
- Jahandiez, E., Maire, R., 1932. Catalogue des Plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridophytes), ALGER P : 539.
- Jannie, O., Lars K., Jacob W. 2006: Influence of sowing density and spatial pattern of spring wheat (*Triticum aestivum*) on the suppression of different weed species. *Weed Biology and Management*, 6: 165–173
- Jassbi, A, R., Mehrdad, M., Soleimani, M., Mirzaeian, M., Sonboli, A. 2005. Chemical composition of the essential oils of *Bunium elegans* and *Bunium caroides*. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 41, No. 4, 415-417. Pringer.
- Jassbi, A., Masroor, M., Miri, R., Firuzi, O., Javanmardi, N. 2012. Composition and biological activities of the essential oil and extracts of *Anisosciadium orientale*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, Iran, 7(5).
- John, J. A., & Shahidi, F. 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *Journal of Functional Foods*, 2, 196–209.
- Jutiviboonsuk, A., Zhang, H., Tan, T.G., Ma, C., Van Hung, N., Cuong, N,M., Bunyapraphatsara, N., Soejarto, D, D., Fong, H, H, S. 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 - 2751.
- Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., Meeso, N. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, 3, 88–99.
- Kanoun, K. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p 26-29-48-49.
- Kansole, M, M, R. 2009. Etude ethnobotanique, phytocimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- Kholkhal, W., Ilias, F., Bekhechi, C, A., Bekkara, F. 2012. *Eryngium maritimum*: A Rich Medicinal Plant of Polyphenols and Flavonoids Compounds with Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities. *Current Research Journal of Biological Sciences* 4(4): 437-443. ISSN: 2041-0778. Algérie.
- Kim, D, O., Jeong, S,W., Lee, C, Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phyto-chemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321–326.
- Klaunig, J, E., Kamendulis, L, M. 2004. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 44: 239-267.
- Ko, F, N., Cheng, Z, J., Lin, C, N., Teng, C, M. 1998. Scavenger and antioxydant properties pf prenylflavones isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Free Radical Biology and Medecine*. 25:160-168.
- Kohen, R., Nyska, A. 2002. Oxidation of biological systems, oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantificatim. *Toxicologic Pathology*, 30:620-650.
- Kone, D., 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : etude de leur activité antioxydante. These de doctorat. Universite de bamako.p 48-49.

- Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I. P., Simporé, J., Nikiéma, J. B. 2009. Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique*, Sciences de la santé. 32(1- 2) : 9-23.
- Krinsky, N, I. 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*. 17 :815–817.
- La rocca, R, V., Stein, C, A., Danesi, R, J., Dow, C.A., Weiss, G, H., Myers, C.,E. 1990. Suramin in adrenal cancer: modulation of steroid hormone production, cytotoxicity in vitro and clinical antitumor effect. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 71, 497-504.
- Laïb, I., Barkat, M. 2011. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs seches de *Lavandula Officinalis*. *Agriculture 2* :89-101.
- Larson, R, A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27(4): 969–978.
- Lichtenthaler, H., Wellburn, A. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.*;11:591–592.
- Mabry, T, J., Markham, K, R., Thomas, M, B. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. New York, U.S.A: Springer- Verlag.
- Macheix, J, J., Fleuriot, A., Jay-Allemand, C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .Presses Polytechnique et universitaires Romandes .p : 1,84,85,161. ISBN2 -88074-625-6.
- Makkar, H, P, S. 1989. Protein precipitation methods for quantitation of tannins. *Revue. Agric. Food Chem.* 37:1197-1202.
- Marc, F., Davin, A., Delgène-Brenbrahim, L., Ferrand, C, Baccaunaud, M., Fritsch, P. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel d'antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*. 20. 458-463.
- Mazandarani, M., Makari, S., Bajian, G, R., Moghaddam, P, Z., Abrodi, M. 2012. Evaluation of phytochimie and antioxidant activity in different parts of *Heracleum garganicum* Fech F, in golestan province of iran. *Iranian journal of plant physiology* 2(2), 381-386
- Meddleton, E., Kardasnam, J, C. 1993. The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, *Chapman and Hall*, London, 617-652.
- Medic-Sanic, M., Jasprica, I., Smolcic Bubalo, A., Mornar, A. 2004. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatia Chemica Acta*, p 361-366 .
- Molan, A, L., Faraj, A, M, Mahdy., A, S . 2012. Antioxidant activity and phenolic content of some medicinal plants traditionally used in Northern Iraq. *Phytopharmacology*. 2(2): 224-233.
- Muanda, F, N. 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *These de doctorat*. Sciences fondamentales et appliquées. France. pp : 85.
- Muchuweti, M., Nyamukonda, L., Chagonda, L., Ndhala, A., Mupure, C., Benhura, M. 2006. Total phenolic content and antioxidant activity in selected medicinal plants of Zimbabwe. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41:33-38.
- Mui, D., Feibelman, T., Bennett, W., 1998. A preliminary study of the carotenoids of some North American species of *Cantharellus*. *International Journal Plant Science*, 159: 244–248.
- Muller, K., 1992. Freie Radikale Bedeutung in pathophysiologie und therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 132 : 1473-1482
- Nandhakumar, A., McCluskey, S, A., Srinivas, Chandy, T, T. 2012. Live transplantation: Advances and perioperative care. *Indian Journal of Anaesthesia*. 56(4):326-335.
- Novelli, G, P. 1997. Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiol Pharmacol.* 48:517-527.
- Olivier, J., Palou, A. 2000. Chromatographic determination of carotenoids in foods. *J.Chromatogr. A* 881, 543-555.
- Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., Bassami, M, R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry* 120 (2010) 765–770. Iran.
- Pae, H, O., Oh, H., Yun, Y, G., Oh, G, S., Jang, S, I., Hwang, K, M. 2002. Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (Umbelliferae), induces cytochrome c-dependent

- apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells. *Pharmacology and Toxicology*, 91, 40–48.
- Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C.A. 1999. The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res.* 30 : 62-153.
- Pandey, M., M., Katara, A., Pandey, G., Rastogi, S., Rawat, A, K, S. 2013. An Important Indian Traditional Drug of Ayurveda Jatamansi and Its Substitute Bhootkeshi: Chemical Profiling and Antioxidant Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 142517, pp1-5.
- Pastre, J., O., C. 2005. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse, *Thèse de doctorat*. PP : 13, 28, 31.
- Patel-Mital R., Patel-Laxman, J., Patel-Rameshvar, K.2011. Protective effect of *Daucus Carota* root extract Against Renal Ischemia reperfusion injury in rats. *Pharmacologyonline* 1: 432-439.
- Perret, C., 2001. Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de doctorat .Université de Neuchâtel, 184 p.
- Pham-Huy, L, A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, 4: 89-96.
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génieindustriel*,4, 25-39 .ISSN 1313-8871
- Portes, E. 2008. Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle.
- Quezel, P., Santa, S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales II, éditions du centre national de la recherche scientifique, Paris.
- Rao, A, V., Rao, L, G. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55 : 207–216.
- Rehman, A., Nouroozj Moller W., 1999. Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *EEBS*, 488:120-122.
- Rice-Evans, C, A., Miller, N, J., Bolwer, P, G., Bramley, P, M., Ridham, J, B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.*, 22: 375-383.
- Roy, N., Laskar, R, A, Sk, I., Kumari, D., Ghosh, T., Begum, N, A. 2011. A detailed study on the antioxidant activity of the stem bark of *Dalbergia sissoo* Roxb., an Indian medicinal plant. *Food Chem.*126: 1115-1121.
- Ryter, S, F., Tyrrell, R, M. 2000. *Free. Radic. Biol. Med.*, , 28, 289-309.
- Saleem M, Kim, H.J, Ali, M.S., Lee, Y.S. 2005. An update on bioactive plant lignans. *Nat Prod Rep.*22:696-716.
- Salehi, P., Mohammadi, F., Asghari, B. 2008. Seed essential oil analysis of *Bunium persicum* by hydrodistillation-headspace solvent microextraction. *Chemistry of Natural Compounds*. 44, 111–113.
- Sanchez-Moreno, C. 2002. Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci. Tech. Int.*, 8(3), 121-137.
- Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 30(12): 3875–3883.
- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M, A., Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant Activity and Chemical Characterization of Essential Oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum Nutr*, 63:183–188.
- Sharififar, F., Yassa, N., Mozaffarian, V., 2010. Bioactivity of major components from the seeds of *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtch. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* .23: 300–304.
- Surveswaran, S., Cai, Z,Y., Cark, H., Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 indian medicinal plants. *Food chemistry*, 102: 938-953.
- Tawaha, K, H, F, Q., Alali, M., Gharaibeh, M., M., Elimat, T, E, 2007.'Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species'.*Food Chemistry*. 104: 1372–1378.

- Tohda, M., Marikami, Y., Mastsumoto, K., Watanabe, H. 2004. Antioxydant and free radicalscavenging activity of choto-san and its related constituents. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 27:38-46.
- Traoré, C, M, L. 1999. Contribution à l'étude des *Combretaceae* médicinales du Mali. *Thèse de pharmacie*, Bamako,
- Trease, G, E ,2002. Pharmacognosy. Bailliere Tindall Press, London.
- Vineet, C., Jain, N,M. Patel Dhiren, P., Shah Paras, K., Patel Bhavesh, H, J. 2010. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Alangium salvifolium (L.F) Wang Root. *Global Journal of Pharmacology* 4 (1): 13-18, IDOSI ISSN 1992-0075, India.
- Vinson, J, A., Dabbagh, Y, A., Serry, M, M, Jang, J. 1995. Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, Are Powerful Antioxidants Using an *in vitro* Oxidation Model for Heart Disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43:2800–2802.
- Wanasundara, P, K, J, P, D., Shahidi, F. 2005. Antioxidants: Science, Technology and Applications. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set*. Edited by Fereidoon Shahidi.. John Wiley & Sons, Inc. (11): 431- 489
- Wang, S, Y. 2003. Antioxidant Capacity of Berry Crops, Culinary Herbs and Medicinal Herbs. *Proc. XXVI IHC . Asian Plants Eds. Jung-Myung Lee and Donglin Zhang Acta Hort.* 620. Int. Dev. Agency (CIDA). 461-473.
- Yermilov, V., Rubio, J., Becchi, M., Friesen, M, D., Pignatelli, B., Ohshima, H. 1995. Formation of 8-nitroguanine by the reaction of guanine with peroxyxynitrite in vitro. *Carcinogenesis*, 16 (9) : pp. 0143-3334.
- Yim, H,S., Chye, F, Y., Tan, C, T., Ng, Y,C., Ho, C, W. 2010. Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Aqueous Extract of *Pleurotus ostreatus* (Cultivated Oyster Mushroom). *Mal J Nutr* 16 (2): 281 – 291.
- Yoshikawa, M., Harada, E., Naitoh, Y., Inoue, K., Matsouda, H., Shimoda, H.,Yamahara, J., Murakami, N. 1994. Developpement of bioactive Function in *Hydrangeae dulcis folium*. III. On the antiallergic and antimicrobial Principles of *Hydrangeae dulcis folium*, *Chem. Pharm. Bull*, 42: 2225-2230.
- Zeng, X., Suwandi, J., Fuller, J., Doronila, A., Ng, K. 2012. Antioxidant capacity and mineral contents of edible wild Australian mushrooms. *Food Science and Technology International*, 1-13.

Résumé : L'objectif principal de ce travail est l'étude du pouvoir antioxydants des extraits méthanoliques de l'écorce, la chair et la racine entière de *Bunium incrassatum* d'Algérie et de déterminer leur teneur en caroténoïdes, en flavonoïdes et en phénols totaux. Le pouvoir antioxydant a été mesuré par spectrophotométrie à 517 nm en utilisant le 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl comme radical libre (DPPH^{*}). Les résultats de la méthode DPPH montrent que les différentes parties de la racine de *Bunium incrassatum* ont diverses capacités antioxydantes. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues varient entre 0.01 et 1.88 mg/ml. L'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* possède une activité antioxydante plus élevées par rapport aux BHA, Trolox et la vitamine C. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes est plus élevée au niveau de l'écorce de la racine. L'écorce de la racine de *Bunium incrassatum* peut être considérée comme étant une excellente source d'antioxydants naturels puissants utiles comme conservateurs des produits alimentaires.

Mots clés : *Bunium incrassatum*, Racine, Extraits méthanoliques, Antioxydant, DPPH^{*}.

المخلص إن الهدف الأساسي من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية لقشرة الجذر , لب الجذر, والجذر بأكمله لنبتة الـ *Bunium incrassatum* في الجزائر, فقد تم تحديد مقدار كل من الكاروتينات والفلافونويات ومجمل المركبات الفينولية, كما تم قياس النشاط المضاد للأكسدة بواسطة جهاز الـ spectrophotomètre على 517 nm وذلك باستعمال 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl كجذر حر (DPPH^{*}). النتائج المحصل عليها بواسطة طريقة DPPH أثبتت اختلاف القدرة المضادة للأكسدة باختلاف الأجزاء المستعملة لجذر نبتة الـ *Bunium incrassatum*. قيم الـ IC₅₀ المحصل عليها تفاوتت بين 0.01 و 1.88 mg / ml. قشرة جذر نبتة الـ *Bunium incrassatum* تملك قوة مضادة للأكسدة جد عالية بالمقارنة بـ BHA, Trolox و فيتامين C, كما أن مقدار المركبات الفينولية و الفلافونويات كانت أعلى على مستوى قشرة الجذر. لذلك يمكن اعتبار قشرة جذر الـ *Bunium incrassatum* كمصدر هائل لمضادات الأكسدة الطبيعية الجد فعالة مفيدة كحافظ للمواد الغذائية.

الكلمات المفتاحية : *Bunium incrassatum*, جذر, المستخلصات الميثانولية, ضد الأكسدة, DPPH^{*}.

Abstract: The main objective of this work was to study the antioxidants activity of methanolics extracts of three parts (peel, flesh and the whole root) of root of Algerian *Bunium incrassatum* and to estimate the total content of carotenoids, flavonoids and phenolic compounds. Considerable extraction yields were obtained with methanol as solvent. The antioxidant power was measured spectrophotometrically at 517 nm with 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl as free radical (DPPH^{*}). The results of DPPH method show that the different parts of *Bunium incrassatum* root have different antioxidant capacities. The IC₅₀ values varied between 0.01 to 1.88 mg/ml. The peeling of the *Bunium incrassatum* root exhibits a highest antioxidant activity compared to BHA, Trolox and ascorbic acid. The total phenolic compounds and flavonoids were highest in peeling of root. The peel of *Bunium incrassatum* root was very useful as natural conservator for food industry.

Keywords: *Bunium incrassatum*, Root, methanolic extracts, Antioxydant, DPPH^{*}.
