



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Référence / 2023

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :

SAADAOUI Nada Hanine et SAADI Oumaima

Le : 18/06/2023

*Composition chimique et activité antioxydante des graines de **Bunium incrassatum***

Jury :

M.	MERABTI Brahim	Pr	Université de Biskra	Président
M.	Benamor Bilal	MCB	Université de Biskra	Examineur
M.	Amirouche Deghima	MCA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2022 – 2023

Remerciement

Tout d'abord nous tenons à remercier dieu de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et pouvoir réaliser ce travail.

A Monsieur DEGHIMA AMIROUCHE,

Merci pour votre implication dans ce travail qui ne serait pas ce qu'il est sans votre précieuse collaboration. Vous avez su orienter ce travail avec beaucoup de pédagogie mais aussi beaucoup de sérieux et de rigueur. Merci pour ta patience, ta disponibilité et surtout tes judicieux conseils qui ont contribué à enrichir ce travail. Veuillez trouver dans ce travail toute l'estime, la gratitude et la sympathie que nous vous portons.

Nous remercions vivement les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre étude et pour le temps consacré afin de l'évaluer.

Nos remerciements s'adressent aussi aux personnels du laboratoire de biochimie de à l'Université MOHAMED KHIDER BISKRA, d'avoir mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profonde gratitude.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire ;

A mes chers parents

SAADAOUI Ibrahim et HAZMANI Saliha

*Qui sont toujours été là pour moi, merci pour tous vos sacrifices pour me voir
réussir.*

*Vous êtes les plus précieux au monde et je vous jure qu'aucun mot, ni
expression ne saurait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude. Que dieu
vous gardes pour moi, toujours en bonne santé.*

*A mes frères Messaoud, Nadjib et Salah, ma sœur Labiba et ma belle-sœur Afef,
Pour l'encouragement et le soutien ; je vous souhaite que du bonheur et que de
la réussite dans tout ce que vous entreprendrez.*

*A mes adorables Nacif, Anis, Ines et Djoumana Que dieu vous protège et vous
procure santé et joie.*

A mes amis :

Je suis tellement content de vous avoir rencontré...

Merci d'être toujours là pour moi...Merci d'être ce que vous êtes...

Je vous aime fort.

*A mon binôme : Oumaima, je vous remercie pour votre coopération durant la
période de réalisation de ce mémoire.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui m'ont accompagné
durant mon chemin d'étude, mes aimables, collègues d'étude, et frères de cœur.*

Nada Hanine

Dédicaces

Avant tout, nous remercions « ALLAH » le tout puissant, de nous avoir ouvert les portes du savoir et qui sans lui ce travail ne serait jamais réalisé.

A mes chers parents

Rabei, NaimaRahal, KhadijaAchour, les symboles d'amour et de tendresse. Je ne vous remercierai jamais assez pour ce que vous avez sacrifié pour moi. Vous n'avez jamais cessé de me soutenir, de m'encourager et de prier pour moi. Merci pour tous les sacrifices, et merci pour toute patience, surtout votre patience avec moi pour terminer mes études. Ce travail est le fruit de vos existences.

Mes frères et sœurs

*Fatma, Hadjer, Malak, Mohamed, Joud, vous avez toujours été là pour moi pour me défendre et me renforcer. Merci de m'avoir inspiré, merci de me motiver, merci de me rendre toujours fier d'être que j'ai des sœurs et des frères comme vous
A mon binôme(Nada), elle m'a supporté tout le long de ce travail et à qui je Souhaite tout le bonheur du monde et de la réussite.*

Un grand merci à

*La source d'amour, à celle qui attend chaleureusement ce jour
Amira, Salema, Chaima qui m'a supporté, aidé, encouragé.*

Mes chers amis

Je vous souhaite tout le meilleur pour l'avenir

A tous les enseignants

Merci pour vos efforts tout au long des années d'études

*Ma chère famille paternelle et maternelle
A tous personne qui sont trop cher pour moi*

Oumaima

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

Première partie :Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :Présentation de la plante *Bunium incrassatum*

1 Description botanique	3
2 Classification.....	4
3 Composition chimique	4
4 Usages Traditionnels.....	5
4.1 Usage alimentaire	5
4.2 Usage Médicinale	5
4.3 Activités biologiques	5

Chapitre 2 :Notions sur le stress oxydant

1 Radicaux libres.....	7
1.1 Type des Radicaux libres.....	7
1.1.1 Radicaux primaires.....	7
1.1.2 Radicaux secondaires	7
1.2 Sources des radicaux libres.....	8
1.2.1 Sources exogènes	8
1.2.2 Sources endogènes	9
2 Les antioxydants	9
2.1 Type des systèmes antioxydants :.....	9
3 Stress oxydant	10
4 Les maladies liées au stress oxydant.....	11

Deuxième partie :Partie expérimentale

Chapitre 3 :Matériel et Méthodes

1 Matériel	12
1.1 Matériel végétale	12

2	Méthodes.....	13
2.1	Préparation des extraits des graines de <i>Bunium incrassatum</i>	13
2.1.1	Extrait hydro-méthanolique.....	13
2.1.2	Extrait aqueux	13
2.2	Extraction d'huile essentielle.....	14
2.2.1	Rendement d'extraction	15
2.2.2	Rendement de l'huile essentielle.....	15
3	Composition chimique	15
3.1	Dosage des polyphénols totaux	15
3.2	Dosage des flavonoïdes totaux	16
3.3	Dosage des flavonols	16
3.4	Dosage des triterpènes	16
4	Evaluation de l'activité antioxydante.....	17
4.1	Piégeage du radical DPPH.....	17
4.2	Piégeage du radical ABTS•+.....	18
4.3	Capacité antioxydante totale.....	18
4.4	Test de Pouvoir réducteur.....	18

Chapitre 4 :Résultats et Discussion

1	Rendements des extraits et huile essentielle de <i>Bunium incrassatum</i>	20
2	Dosage des polyphénols totaux.....	21
3	Dosage des flavonoïdes totaux.....	23
4	Dosage des flavonols	26
5	Dosage des triterpènes	27
6	Activité antioxydante	29
6.1	Activité antiradicalaire contre le DPPH	29
6.2	Inhibition du Radical cation ABTS+	32
6.3	Test du pouvoir réducteur.....	34
6.4	Activité antioxydante total (TAC).....	36
	Conclusion	39
	Références bibliographiques	41
	Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification de la plante <i>Bunium incrassatum</i>	4
Tableau 2: Classification des espèces réactives et non-réactives.....	8
Tableau 3: Différents types d'antioxydants	9

Liste des Figures

Figure 1: Les fleurs et les tubercules de <i>Bunium incrassatum</i> (Talghoude)	3
Figure 2: Balance antioxydant/oxydant.....	11
Figure 3: Carte géographique montrant le site d'échantillonnage (Borj Ghedir, Borj Bou Arreridj).....	12
Figure 4: Matériel végétal utilisé dans l'extraction (les graines et la poudre).....	13
Figure 5: Appareil de type Clevenger utilisé pour extraire les huiles essentielles des graines de <i>B. incrassatum</i>	14
Figure 6: Structure du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH) sous forme oxydées et réduites	17
Figure 7: Rendement des extraits et d'huile essentielle de <i>Bunium incrassatum</i>	20
Figure 8: Droit d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	22
Figure 9: Teneur des extraits en polyphénols totaux.....	22
Figure 10: Droit d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoides	24
Figure 11: Teneur des extraits en flavonoides.....	25
Figure 12: Droit d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonols	26
Figure 13: Teneur des extraits en flavobols	27
Figure 14: Droit d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpènes	28
Figure 15: Droit d'étalonnage du Trolox le test DPPH	30
Figure 16: Résultats de comparaison du test DPPH des graines de <i>Bunium incrassatum</i> et des standards.....	30
Figure 17: Droit d'étalonnage du Trolox vis-à-vis le radical ABTS	32
Figure 18: Résultats de comparaison du test ABTS des graines de <i>Bunium incrassatum</i> et des standards.....	33
Figure 19: Droit d'étalonnage d'acide ascorbique de test pouvoir réducteur.....	34
Figure 20: Résultats de comparaison du pouvoir réducteur des graines de <i>Bunium incrassatum</i>	35
Figure 21: Droit d'étalonnage d'acide ascorbique de la capacité antioxydant totale	36
Figure 22: L'activité antioxydant total des extraits des graines de <i>Bunium incrassatum</i> et les standards utilisés.	37

Liste des abréviations

SO : Stress oxydant

ROS : Espèces réactives d'oxygène.

ET : Equivalent Trolox.

EQ : Equivalent Quercetine.

EAA : Equivalent de l'acide ascorbique.

EAG : Equivalant d'acide gallique.

EQ : Equivalent quercetine.

ER : Equivalent rutine.

EAU : Equivalent de l'acide ursolique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

TAC : Capacité antioxydants totale.

ABTS : Acide 2,2'azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

Introduction

Introduction

La phytothérapie est l'une des médecines les plus anciennes au monde. La médecine alternative prend de plus en plus d'importance dans la prise en charge des maladies à moindre coût et pratiquement sans créer d'effets secondaires (Hammoudi et *al.*, 2020). Malgré le formidable développement de l'industrie pharmaceutique, l'intérêt chimique pour la phytothérapie n'a jamais cessé de se développer et s'est maintenu au fil des siècles partout dans le monde (Landoulsi et *al.*, 2018a).

L'Algérie est un pays riche en plantes médicinales qui sont d'une grande importance pour leurs utilisations dans plusieurs domaines comme le traitement à travers les recommandations des thérapeutes et des organisations internationales de santé OMS (Chentouh et *al.*, 2017). Ces plantes ont la capacité de fabriquer de nombreux composés appelés composés secondaires, qui ont un large éventail d'activités biologiques. De ce fait, l'évaluation de ces activités reste une tâche d'intérêt très intéressante (Jacototet Campillo, 2003). Récemment, la recherche scientifique n'a servi qu'à établir la validité des bienfaits thérapeutiques de la majorité de ces plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des milliers d'années (Lazli et *al.*, 2019).

En revanche, un nouveau concept connu sous le nom de stress oxydant a envahi la communauté scientifique. Ce concept est défini comme un déséquilibre des radicaux libres et des antioxydants dans un organisme qui est responsable de plusieurs pathologies. Bien que les radicaux libres puissent être éliminés par des composés antioxydants produits *in vivo*, les antioxydants endogènes ne suffisent pas à les éliminer complètement, ce qui indique l'importance des antioxydants alimentaires (Khadidja et *al.*, 2020). Au cours de la dernière décennie, la recherche est intéressée de plus en plus à ces antioxydants naturels (ex. antioxydants phénoliques, vitamines) en raison de leur innocuité globale et de leurs propriétés bénéfiques (Llauradó Maury et *al.*, 2020).

La plante Talghouda fait partie de ses plantes dont leurs graines sont utilisées traditionnellement pour leurs propriétés thérapeutiques. Les tubercules sont utilisés pour le traitement des problèmes de thyroïde, soit pris seules ou en mélange (avec du miel, huile d'olive, lait de chèvre). Dans la société Algérienne, elle est considérée comme un symbole de misère qui rappelle à la famine des années de pauvreté en particulier pendant la seconde

guerre mondiale et la période de révolution nationale entre 1954-1962, quand elle a été consommée comme pain (sa poudre a été mélangé avec la farine de blé). De plus elle est utilisée comme astringents, antidiarrhéiques et se révèle utile pour le traitement de bronchite et remèdes contre la toux et les hémorroïdes (Toul et *al.*, 2022). Cette plante cache une qualité nutritive et thérapeutique exceptionnelle, donc elle ne peut pas être négligé ou sous-estimé car elle s'agit d'une grande perte de cette richesse, mais elle doit être préservée, investie et valorisée.

L'objectif de notre travail, est l'estimation de contenu des graines *Bunium incrassatum* en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, triterpènes et flavonols, et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces graines.

Le travail présent est divisé en deux parties :

- Une recherche bibliographique contenant deux chapitres :
 - Chapitre 1 : consacré à l'étude bibliographique concernant des informations sur la plante *Bunium incrassatum*.
 - Chapitre 2 : consacré aux notions sur le stress oxydant.
- Une partie expérimentale dans laquelle le matériel et les méthodes utilisés sont présentées et les résultats sont présentés et discutés.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Présentation de la plante

Bunium incrassatum

1 Description botanique

Bunium est un genre qui appartient à la famille des Apiaceae, composé de 45 à 50 espèces, il est systématiquement proche du genre *Carum*. Les espèces de ces deux genres sont d'importantes plantes médicinales et aromatiques utilisés en Algérie. En Algérie, ce genre comprend sept espèces, dont quatre sont endémiques. *Bunium incrassatum* est largement distribue dans la coté méditerranée de l'Afrique. Elle peut se trouver en Algérie (Lefahal et *al.*, 2017), et plus spécialement dans la région d'Oum el Bouaghi (CHENTOUH S, 2018), et aussi dans toutes les régions de tell (Benkhalifa et Toumi, 2019). Cette plante est appelé localement « Talghouda » (Chentouh et *al.*, 2017).

C'est une Plante vivace de 40-60 cm, glabre, à racine grosse, d'abord globuleuse, puis irrégulières. Les feuilles sont bi-tripennatiséquées, à lanièreslinéaires, et les caulinaires sessiles situées sur une graine allongée. La tige est dressée, robustes, et les fruits rétrécis au sommet, rayons des ombelles et des ombellules restant grêles (Quezel et santa, 1963).



Figure 1. Les fleurs et les tubercules de *Bunium incrassatum* « Talghouda » (Chentouh, et *al.*, 2018).

2 Classification

Le tableau suivant présente la classification botanique de l'espèce *Bunium incrassatum*, selon (Cronquist, 1981).

- Nom scientifique : *Bunium incrassatum*.
- Nom commun : Talghouda (Toul et *al.*, 2022).

Tableau 1. Classification de la plante *Bunium incrassatum*.

Règne	Plante
Sous- classe	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

3 Composition chimique

Des études phytochimiques de la plante médicinale *Bunium incrassatum* ont indiqué que les racines contiennent des composés comme le saccharose, l'acide oléique, les coumarines (scopolitine et scoparone) et le bêta-sitostérol (Bousetla et *al.*, 2015). Alors que l'étude de Hayet et *al.*, (2017), pour les parties aériennes de *Bunium incrassatum* a identifié 31 composés d'huiles essentielles. Ses constituants les plus abondants sont les terpènes, leurs dérivés et les acides gras : acide palmitique (18.3%), suivi de l'oxyde de caryophyllène (17,36 %), du β -eudesmol (13,95 %), n-pentacosane (5,13 %), 10-épi- α -muurolool (4,36 %), hédycaryol (4,14 %) et spatuléneol (4,04 %).

La poudre de *Bunium incrassatum* contient des éléments nutritionnels comme des lipides, des protéines, de l'amidon et ses dérivés, des minéraux dont le plus connu est le calcium, et des

polyphénols, notamment de flavonoïdes (quercétine), des alcaloïdes et un taux élevé de coumarines (Aiouaz&Bitam, 2022).

4 Usages Traditionnels

4.1 Usage alimentaire

Bunium incrassatum était une source importante de nourriture pour les Algériens pendant la période coloniale et les famines. Le tubercule est moulu puis utilisé comme farine dans la préparation du pain et du couscous, ou comme légume dans d'autres plats. Cette plante est associée au maintien d'un état de santé équilibré pendant la guerre (Aiouaz&Bitam, 2022). Les racines de cette plante sont consommées comme des pommes de terre car elles sont très nutritives (Hammoudi *et al.*, 2020). *Bunium incrassatum* se prend seul ou dans un mélange de deux ou plusieurs ingrédients d'origines différentes comme l'huile d'olive, le miel et le lait de chèvre (Taïbi *et al.*, 2021).

4.2 Usage Médicinale

La médecine traditionnelle prend une importance croissante dans la gestion des maladies (Taïbi *et al.*, 2021). *Bunium incrassatum* a été traditionnellement utilisé comme galactagogue pour améliorer la production de lait maternel chez les animaux de ferme (Hammoudi *et al.*, 2020), et à des fins de gain de poids. En médecine traditionnelle, les tubercules réduits en poudre et séchés sont utilisés pour traiter la bronchite et la toux. Elle est utilisée comme astringent pour la diarrhée ou contre les hémorroïdes (Chentouh *et al.*, 2017).

Bunium incrassatum stimule le système immunitaire et joue le rôle de relaxant nerveux, pour traiter certaines maladies comme la cystite, la pyélonéphrite, les vers intestinaux et les plaies. Cette plante aromatique est utilisée pour le traitement des troubles thyroïdiens et du cancer différencié de la thyroïde, se manifestant le plus souvent par un goitre (Taïbi *et al.*, 2021).

4.3 Activités biologiques

L'huile essentielle des espèces de *Bunium* possède des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydantes. Cette plante (ses parties aériennes) et ses composés principaux ont été utilisés comme source d'antioxydants naturels pour la prévention de la dégradation des principes actifs en cosmétique et comme agent de protection solaire dans les

cosmétiques (Lefahal et *al.*, 2022). Cette plante est utilisée pour soigner les plaies (Aiouaz&Bitam, 2022), elle semble être un bon candidat pour être développée et utilisée en tant que pommade cicatrisante.

Chapitre 2
Notions sur le stress
oxydant

1 Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou groupes d'atomes extrêmement réactifs qui ont un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs orbitales. Ce radical libre cherchera des électrons chez les molécules avoisinantes pour se stabiliser et remplir son orbite provoquant des réactions d'oxydation en chaîne (Martemucci et *al.*, 2022 ; Wu et *al.*, 2013). Les radicaux libres sont généralement détruits par le système antioxydant naturel de notre corps. Ces radicaux sont susceptibles d'entraîner des dommages oxydatifs aux cibles moléculaires (lipides, protéines, acides nucléiques) (Engwa, 2018).

1.1 Type des Radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être divisés en fonction de l'ordre dans lequel ils se forment en tant que radicaux primaires et secondaires (Kruk et *al.*, 2019), Plusieurs espèces réactives non radicales peuvent être produites à partir de radicaux libres d'oxygène et d'azote (Fang et *al.*, 2002). Le tableau 2 présente les différents types d'espèces réactives.

1.1.1 Radicaux primaires

Les radicaux primaires sont générés naturellement à partir un certain nombre de processus physiologiques notamment la respiration. La mitochondrie d'une cellule c'est la principale source des radicaux libres. L'oxyde nitrique ($\text{NO}\bullet$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical anion superoxyde ($\text{O}_2\bullet^-$) appartiennent à cette catégorie (Kruk et *al.*, 2019).

1.1.2 Radicaux secondaires

Ces radicaux sont générés dans la cellule par plusieurs réactions, parmi lesquelles : la réaction de Fenton en impliquant les radicaux primaires. Cette catégorie inclue le radical peroxynitrite (ONOO^-), le radical hydroxyle ($\text{HO}\bullet$), le radical Hypochlorite (HOCl) (Kruk et *al.*, 2019).

Tableau 2. Classification des espèces réactives et non-réactives (Tvrdá&Benko, 2020).

Espèces réactives oxygénées				
Espèces radicalaires	Symbole	Espèces non radicalaires	non	Symbole
Superoxyde	$O_2\bullet^-$	Peroxyde d'hydrogène		H_2O_2
Hydroxyle	$HO\bullet$	Ozone		O_3
Pyroxyde	$ROO\bullet$	Acide hypochloreux		$HOCl$
hydroperoxyde	$HO_2\bullet$	Oxygène singulet		1O_2
Espèces réactives azotés				
Espèces radicalaires	Symbole	Espèces non radicalaires	non	Symbole
Dioxyde d'azote	$NO_2\bullet$	Acide peroxy-nitrique		$ONOOH$
Oxyde nitrique	$NO\bullet$	Peroxy-nitrite		$ONOO^-$

1.2 Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont générés à la fois à partir des sources endogènes et sources exogènes.

1.2.1 Sources exogènes

La production exogène des radicaux libres peut être provoquée par l'exposition à des polluants environnementaux, à des métaux lourds (Cd, Hg, Pb, Fe et As), à des médicaments spécifiques (cyclosporine, tacrolimus, gentamycine et bléomycine), à des solvants chimiques, à la cuisson (viande fumée, huile usagée et matières grasses), Le tabagisme, la prise d'alcool et les radiations UV. Les radicaux libres sont générés comme sous-produits lorsque ces

substances exogènes pénètrent dans l'organisme et sont dégradées ou métabolisées (Pizzino et *al.*, 2017).

1.2.2 Sources endogènes

Les espèces réactives d'oxygènes sont produites dans la chaîne respiratoire mitochondriale pendant la respiration cellulaire (comme principal source), les réactions oxydatives catalysées par NADPH Oxydase, xanthine oxydase (Żukowski et *al.*, 2018). Sont générées aussi pendant le métabolisme normal, comprennent différents organites cellulaires, tels que les peroxyosomes, le réticulum endoplasmique, le système cytochrome P450, le métabolisme des acides gras et les cellules phagocytaires (Martemucci et *al.*, 2022). Activation des cellules immunitaires, inflammation, ischémie, infection, cancer, exercice excessif, stress mental et le vieillissement sont tous des facteurs responsables de la production des radicaux libres endogènes (Pizzino et *al.*, 2017).

2 Les antioxydants

Tout agent qui ralentit considérablement ou empêche l'oxydation du substrat lorsqu'il est présent en faibles quantités par rapport au substrat oxydable est connu comme antioxydant (Brainina et *al.*, 2019).

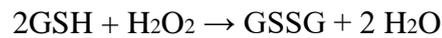
2.1 Type des systèmes antioxydants :

Les systèmes antioxydants sont classés en deux types : antioxydants enzymatiques, antioxydants non-enzymatiques.

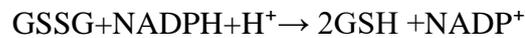
Tableau 3. Différents types d'antioxydants.

Antioxydant	Mécanisme d'action	Références
Antioxydants enzymatiques		
Super oxide dismutase	$2\text{O}_2\bullet^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	(Hameister et <i>al.</i> , 2020)
Catalase	$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	

Glutathion peroxydase



Glutathion réductase



Antioxydants non enzymatiques

Glutathion, bilirubine, Réducteurs (Neha et al.2019)

acide urique

Mélatonine

Piégeage des radicaux libres

Antioxydants exogènes

Vitamine C

Piégeage des radicaux libres, stimulation de
régénération de la vitamine E

Vitamine E (Hameister et al.,2020)

Polyphénols y compris les flavonoïdes Piégeage des radicaux libres

Caroténoïdes

3 Stress oxydant

Il est bien connu que les ROS sont produites en concentrations physiologiques dans notre corps. Cependant, la concentration des ROS peut augmenter considérablement, ce qui peut mener à une situation décrite comme étant un stress oxydant (SO). Ce phénomène se produit

Lorsque l'équilibre endogène entre les radicaux libres et les antioxydants est perturbé (Żukowski et *al.*, 2018). Donc le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les radicaux oxydants (libres) et les systèmes antioxydants dégradant ces radicaux comme mécanisme de défense interne (Daenen et *al.*, 2019).

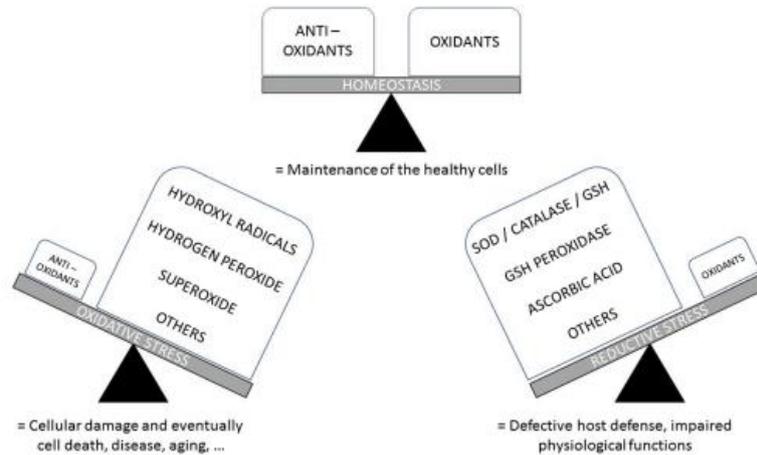


Figure 2. Balance antioxydant/oxydant(Daenen et *al.*, 2019).

4 Les maladies liées au stress oxydant

Les radicaux libres endommagent les macromolécules, comme les acides nucléiques, les protéines et les lipides, provoquant une expression anormale des gènes, une perturbation de l'activité des récepteurs, une perturbation immunitaire, une mutagénèse, des lésions tissulaires qui déclenche diverses maladies (Martemucci et *al.*, 2022). Exemple : les patients diabétiques présentent des niveaux élevés des ROS en raison de taux élevés de glucose, d'acides gras et d'insuline dans le sang. Le stress oxydant est un contributeur majeur à la physiopathologie de diverses maladies neurodégénératives, y compris Alzheimer, Parkinson, Huntington (Araújo et *al.*, 2016). Il est impliqué aussi dans de très nombreuses troubles et maladies tels que diabète, le cancer et le vieillissement (Mishra et *al.*, 2022), l'athérosclérose, le syndrome de fatigue chronique et l'arthrite rhumatoïde (Rahman et *al.*, 2012).

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Chapitre 3 :

Matériel et Méthodes

1 Matériel

1.1 Matériel végétale

Les graines de la plante *Bunium incrassatum* ont été récoltées au mois de juin 2020 dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, Daira de Bordj Ghedir. Les graines ont été séchées à l'ombre et à température ambiante pendant quelques jours avant d'être trier pour obtenir des graines de *Bunium* purifiés de toutes autres impuretés. Ces dernières ont été réduites en poudre en utilisant un broyeur électrique propre puis soumises à l'extraction.



Figure 3. Carte géographique montrant le site d'échantillonnage (Bordj Ghedir, Bordj Bou Arreridj).



Figure 4. Matériel végétal utilisé dans l'extraction (les graines et la poudre).

2 Méthodes

2.1 Préparation des extraits des graines de *Bunium incrassatum*

2.1.1 Extrait hydro-méthanolique

L'extraction a été réalisée selon la méthode de Markham (2006). Une procédure d'extraction en deux étapes a été utilisée pour récupérer les composés phénoliques des graines en poudre de la plante *Bunium incrassatum*. 10 g de matériel végétal ont été macérés dans 100 ml de solvant hydro-méthanolique à 85 % (v/v), tout en étant agités en continu à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après 24 heures, la suspension a été filtrée, et le résidu solide obtenu a été soumis à une deuxième extraction à l'aide de mélange méthanol/eau (50:50 v/v) pendant 24 heures (Deghima et al., 2022). Après la deuxième filtration, les filtrats des deux procédés ont été combinés et séchés dans des boîtes pétries dans l'étuve à 40°C. L'extrait brut séché a été stocké dans des flacons sombres à 4 °C et à l'obscurité jusqu'à son utilisation.

2.1.2 Extrait aqueux

Afin d'exploiter et valoriser la solution résiduelle de l'hydrodistillation de la plante et ne pas la jeter nous avons l'utilisée pour préparer l'extrait aqueux. La suspension a été filtrée et le filtrat

a été séché dans des boîtes pétries dans l'étuve à 40°C. L'extrait brut séché a été stocké dans des flacons sombres à 4 °C à l'obscurité jusqu'à son utilisation.

2.2 Extraction d'huile essentielle :

Les graines de la plante *Bunium incrassatum* ont été soumises à l'hydrodistillation en se servant d'un dispositif d'extraction type Clevenger. L'opération consiste à immerger une quantité d'environ 100 g de poudre des graines dans un ballon en verre contenant 1000 ml d'eau distillée. L'hydrodistillation est réalisée pendant 3 heures, l'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon sombre et stockée à 4°C à l'obscurité.



Figure 5. Appareil de type Clevenger utilisé pour extraire les huiles essentielles des graines de *B. incrassatum*.

2.2.1 Rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétale traité. Ce rendement est calculé via la formule suivante :

$$R (\%) = (M2 - M1) / M0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M0 : Masse de matériel végétale.

M1 : Masse de boîte vide.

M2 : Masse de boîte plein par extrait.

2.2.2 Rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (P_B / P_A) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

P_B : La masse d'HE obtenue.

P_A : La masse de la matière végétale sèche.

3 Composition chimique

3.1 Dosage des polyphénols totaux

Pour déterminer la teneur totale en polyphénols, 100 µL de l'extrait dilué a été mélangé avec 500 µL de réactif Folin-Ciocalteu (10 %, v/ v). Quatre minutes après, 400 µL de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5 %, p/v) est ajoutée et incubé 2 heures à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un contrôle contenant du 100 µL méthanol au lieu de l'extrait, 500

μL réactif Folin-Ciocalteu et 400 μL de carbonate de sodium (Singleton et Rossi, 1965). Une courbe d'étalonnage a également été construite en utilisant l'acide gallique comme étalon à différentes concentrations (5 à 150 $\mu\text{g/ml}$), et les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par 1 milligramme d'extrait (μg d'EAG/mg extrait).

3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur des flavonoïdes totaux a été effectuée par une méthode du trichlorure d'aluminium adaptée à partir de Djeridane et *al.*, (2006). Un volume de 600 μL d' AlCl_3 à 2% est ajouté à 600 μL d'extrait et incubé pendant 15 minutes à l'abri de la lumière, avant de mesurer l'absorbance à 430 nm contre un blanc qui contient 600 μL d'extrait et 600 μL de méthanol. Dans les mêmes conditions, la quercétine (5 à 50 $\mu\text{g/ml}$) a été utilisée pour produire une courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en microgramme équivalent Quercétine par milligramme d'extrait (μg EQ / mg d'extrait).

3.3 Dosage des flavonols

La méthode décrite par Kumaran&Karunakaran, (2007) a été utilisée pour la quantification des flavonols dans les extraits. 300 μL d'extrait ont été mélangés avec le même volume en trichlorure d'aluminium (2 %) et 450 μL d'acétate de sodium (5 %) puis incubés pendant 2,5 h à 25°C à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 440 nm contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par du méthanol. Les résultats ont été rapportés en termes d'équivalents de rutine (μg RE/mg extrait) à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue avec une solution standard de rutine (10 à 200 $\mu\text{g/mL}$).

3.4 Dosage des triterpènes

Une méthode adaptée par Chang et *al.*, (2012) et décrite dans Deghima et *al.*, (2020) a été utilisée pour estimer la teneur en triterpénoïde. Un volume de 40 μL d'extrait est mélangé avec 60 μL de vanilline (5 %) préparée dans de l'acide acétique et 200 μL d'acide perchlorique. Le mélange est mis en incubation pendant 45 minutes à 60°C à l'obscurité. Après refroidissement, 900 μl d'acide acétique sont ajoutés. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 548 nm contre un blanc qui comprend tous les réactifs mentionnés précédemment, à l'exception de l'extrait, qui est remplacé par du méthanol. Les résultats sont obtenus en μg EAU/ mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ursolique (Absorbances en fonction de la concentration).

4 Evaluation de l'activité antioxydante

4.1 Piégeage du radical DPPH

Ce test est basé sur la réduction du radical DPPH violet par l'antioxydant via un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène provoquant un changement de couleur à des molécules jaune pâle stables (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). La méthode de Garcia-Herreros *et al.* (2010), décrite par Deghima *et al.*, (2021) a été utilisée pour calculer la capacité d'inhiber le DPPH. Une solution méthanolique de DPPH (0,04 mg/ml) a été préparée et son absorbance a été ajustée à 0.80 ± 0.02 à 516 nm. 400 μ L de Cette solution ont été mélangé avec le même volume de différentes concentrations de l'extrait et l'huile essentielle et incubé pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 516 nm, L'acide ascorbique, trolox et la quercétine ont été utilisés comme composés standards et le pourcentage d'inhibition est calculé suivant l'équation (1) :

$$\text{Inhibition (\%)} = ((\text{Ac}-\text{At}) / \text{Ac}) \times 100 \dots \dots \dots \text{équation (1)}$$

Ac : l'absorbance du contrôle

At : l'absorbance du test

Les résultats sont aussi exprimés en TEAC (la capacité antioxydante équivalente au Trolox μ g ET /mg d'extrait), par la projection (extrapolation) sur la courbe d'étalonnage du standard Trolox. L'augmentation de TEAC correspond à une augmentation de l'activité inhibitrice de radical DPPH des extraits testés.

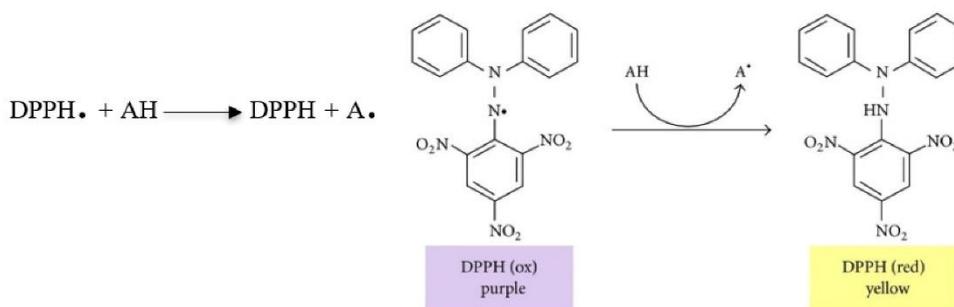


Figure 6. Structure du 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) sous formes oxydées et réduites (Nagarajan *et al.*, 2020).

4.2 Piégeage du radical ABTS•+

C'est l'un des tests les plus utilisés pour tester l'activité anti-radicalaire, Dans cet essai le radical est réduit en présence d'antioxydants provoquant une décoloration de l'ABTS (Zheng et *al.*, 2016). L'activité antiradicalaire a également été déterminée à l'aide de radical ABTS, comme décrit par Deghima et *al.*, (2022). Ce radical est généré après avoir mélangé une solution ABTS (7 mM) avec 13,24 mg de persulfate de potassium pendant 16 h. La solution résultante a été réfrigérée avant d'être diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. Un volume de 50 μ L d'extraits ou d'huile essentielle est mélangé avec 950 μ L de solution ABTS•+ diluée et incubés. 7 minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à 734 nm contre un contrôle contenant du méthanol et de l'ABTS. L'acide ascorbique, trolox et la quercétine ont été utilisés comme composés standards. Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant l'équation (1).

Les résultats sont aussi exprimés en TAEC (la capacité antioxydant équivalente au Trolox μ g ET /mg d'extrait) par la projection (extrapolation) sur la courbe d'étalonnage du standard Trolox.

L'augmentation de TEAC correspond à une augmentation de l'activité inhibitrice de radical ABTS+ des extraits testés.

4.3 Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (TAC) a été évaluée par la méthode du phosphomolybdène. L'essai est basé sur la formation du complexe de phosphomolybdène Mo (V) réduit de couleur verdâtre. Un volume de 0,1 ml d'échantillon a été mélangé avec 1 ml de la solution de travail (0,6 M d'acide sulfurique, 28 M de phosphate de sodium et 4 M de molybdate d'ammonium), suivie par une incubation à 95 °C pendant 90 min. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un contrôle contenant du méthanol à la place de l'extrait. Des composés standards tels que trolox et la quercétine ont été utilisés à des fins de comparaison. L'activité antioxydante a été exprimée en μ g équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait (μ g EAA/mg) (Baali et *al.*, 2019).

4.4 Test de Pouvoir réducteur

Le test est réalisé Selon le protocole de oyaizu, (1986) ou 375 μ L de chaque extrait est mélangé avec 375 μ L de tampon phosphate (0.2 M à pH 6.6) et 375 μ L de K₃Fe (CN) 6 à 1 %, suivie par une agitation et incubation à 50°C pendant 20 min dans un bain marie. Après l'incubation 375 μ L de TCA sont ajoutés, les tubes sont centrifugés 10 min à 700 TPM, 375

μL du surnageant sont additionnés à 375 μL d'eau distillée et 150 μl de chlorure de fer (FeCl_3) à 0.1%. L'absorbance des solutions est mesurée à 700 nm contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par le méthanol (Bougandoura&Bendimerad, 2013). Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant de l'acide ascorbique dans les mêmes conditions et les résultats ont été exprimés en équivalents d'acide ascorbique / mg d'extrait (μg EAA / mg d'extrait).

Chapitre 4 :

Résultats et Discussion

1 Rendements des extraits et huile essentielle de *Bunium incrassatum*

Nous avons successivement utilisé deux solvants de polarité différente pour la préparation des extraits bruts à partir des graines de la plante *Bunium incrassatum* : Solution hydro-méthanolique 85 % puis 50 %. L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation et la solution résiduelle a été récupérée pour former l'extrait aqueux.

On a eu des rendements d'extraction qui sont exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse initiale du matériel végétal. Les rendements obtenus sont représentés dans la figure suivante :

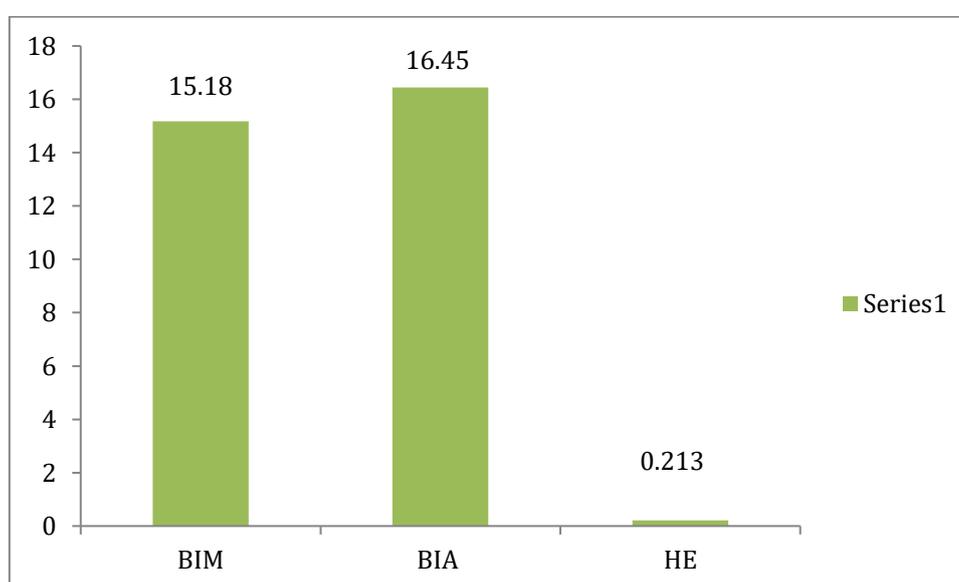


Figure 7. Rendement des extraits et d'huile essentielle de *Bunium incrassatum*.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux " ; HE, "Huile essentielle ".

Les rendements calculés pour les extraits étaient 15,18% pour l'extrait hydro-méthanolique et 16,45% pour l'extrait aqueux correspondant au meilleur rendement obtenu. Le rendement de l'huile essentielle était 0,213%.

Le rendement de l'extrait méthanolique obtenu dans notre travail est supérieur à celui obtenu par Soury et *al.*, (2008) (6.24%) et Giancarlo et *al.*, (2006) (11.9%) qui ont travaillé sur la plante *Bunium persicum* et qui ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction. Ce qui peut indiquer qu'un mélange de solvants et d'eau est plus efficace que le système mono-solvant dans l'extraction des composés phénoliques (Alberti et *al.*, 2014), puisqu'il permet d'extraire un large éventail de métabolites (Sauerschnig et *al.*, 2017).

Dans une étude réalisée par Deghima et *al.*, (2022) qui ont travaillé sur la plante *Bunium ferulaceum*, le rendement de l'extrait méthanolique est de 16 %, ce qu'est très proche de notre résultat. Cela pourrait s'expliquer par l'utilisation du même procédé extractif ce qui renforce l'hypothèse que la méthode d'extraction et le mélange du solvant que nous avons utilisée a permis l'obtention de rendements très élevés.

Le rendement d'extrait aqueux de notre plante (16.45%) reste supérieur à celui de Sharififar et *al.*, (2010) estimé à 1,3%, pour l'espèce *Bunium persicum*.

Concernant les huiles essentielles, Hayet et *al.*, (2017) ont estimé le rendement en huiles essentielles des espèces *B. incrassatum* et *B. alpinum* à 0,09% et 0,1%, respectivement, Ce qui reste inférieur par rapport à celui obtenu dans notre travail. L'hydrodistillation du fruit *Bunium persicum* a donné une huile avec un rendement largement supérieur à notre résultat (2,2%) (Nickavar et *al.*, 2014).

Les différences significatives entre les résultats étaient probablement dues aux différences environnementales (à savoir, le climat, température, maladies et exposition aux ravageurs) (Wojdylo et *al.*, 2007). Cela aussi peut s'expliquer par des variations dans un certain nombre de facteurs, y compris des facteurs géographiques, physicochimiques ou biologiques, tels que les différences du site de récolte, la saison, le type de sol, la période de récolte, méthode d'extraction et la partie de la plante étudiée (EL-Haoud et *al.*, 2018). Les conditions d'extraction peuvent ne pas être les mêmes pour les différents matériaux végétaux car elles sont influencées par plusieurs paramètres, tels que la nature chimique de l'échantillon, le solvant utilisé, l'agitation, le temps d'extraction et la température (Alberti et *al.*, 2014). Nous devons également prendre en considération d'autres paramètres tels que la taille des particules de l'échantillon et le rapport solide-liquide (Sang-aroon et *al.*, 2019).

2 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols dans nos extraits (aqueux et hydro-méthanolique) a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage élaborée avec différentes concentrations (50 à 150 µg /ml) d'une solution d'acide gallique (Figure 8).

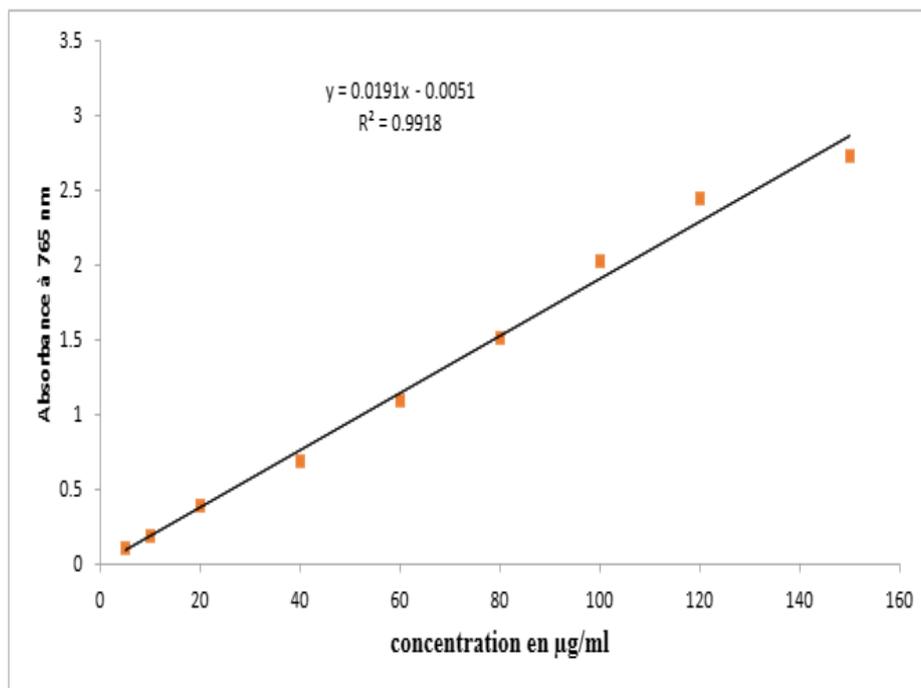


Figure 8. Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

La quantité des polyphénols totaux dans les extraits est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extraits). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante

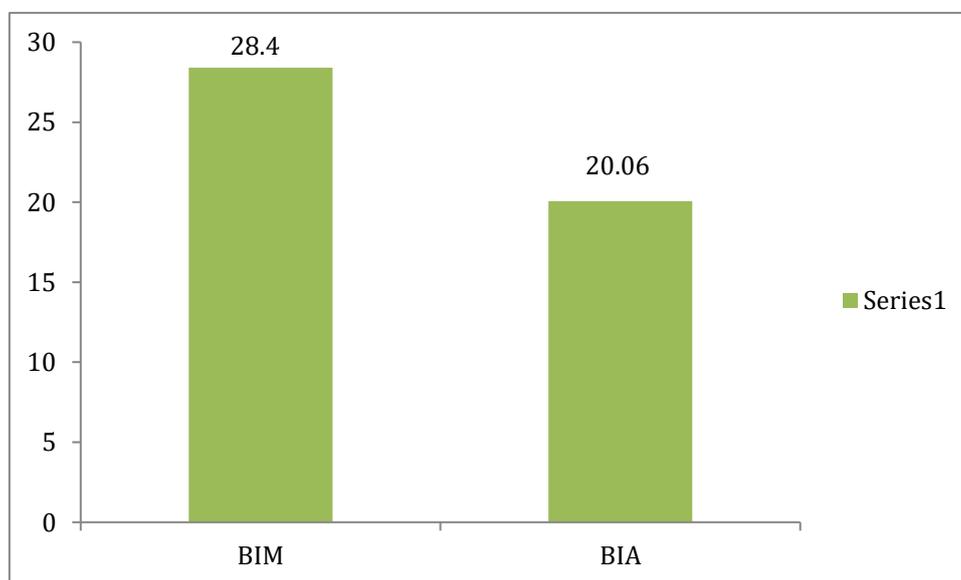


Figure 9. Teneur des extraits en polyphénol totaux en $\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux ".

D'après la figure 9 on remarque que les résultats sont proches mais l'extrait hydro-méthanolique est le plus riche en polyphénols totaux par sa teneur de 28.40 μg EAG /mg d'extrait, tandis que l'extrait aqueux contient une teneur de 20.06 μg EAG /mg d'extrait ce qui est un bon résultat malgré qu'il s'agit juste d'un résidu d'hydrodistillation.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la même espèce déterminée par Hayet et *al.*, (2017) était de 236,6 μg EAG/mg, ce qui est supérieure par rapport à celui obtenue dans notre travail. Cette différence peut s'expliquer par la différence dans la partie utilisée de la plante car nous on a utilisé les graines alors qu'eux ils ont utilisés les parties aériennes. Cependant, en comparant nos résultats à une autre espèce du genre *Bunium*, utilisant le méthanol et le mélange méthanol-eau comme solvant d'extraction tels que *Bunium crassifolium* étudié par Souilah et *al.*, (2021) qui ont enregistré des taux de l'ordre de 130.21 ± 6.36 mg EAG /g extrait et 174.07 ± 3.00 mg EAG /g extrait, respectivement, nous observons qu'ils sont largement supérieurs à nos résultats. Les résultats obtenus durant une étude réalisé par Karouche et *al.*, (2020) sur des tubercules (tige sous terrain), de l'espèce *Bunium mauritanicum* indiquent que la teneur en polyphénols totaux est de $22,365 \pm 8,547$ μg EAG/mg d'extrait aqueux, Nos résultats concordent avec leurs résultats parce qu'ils sont proches les uns des autres, pourtant on a pas utilisé ni même espèce ni la même partie de la plante.

3 Dosage des flavonoïdes totaux

Une courbe d'étalonnage de quercétine (5 à 50 μg /ml) est utilisée pour la quantification des flavonoïdes totaux dans les différentes extraits (Figure 10).

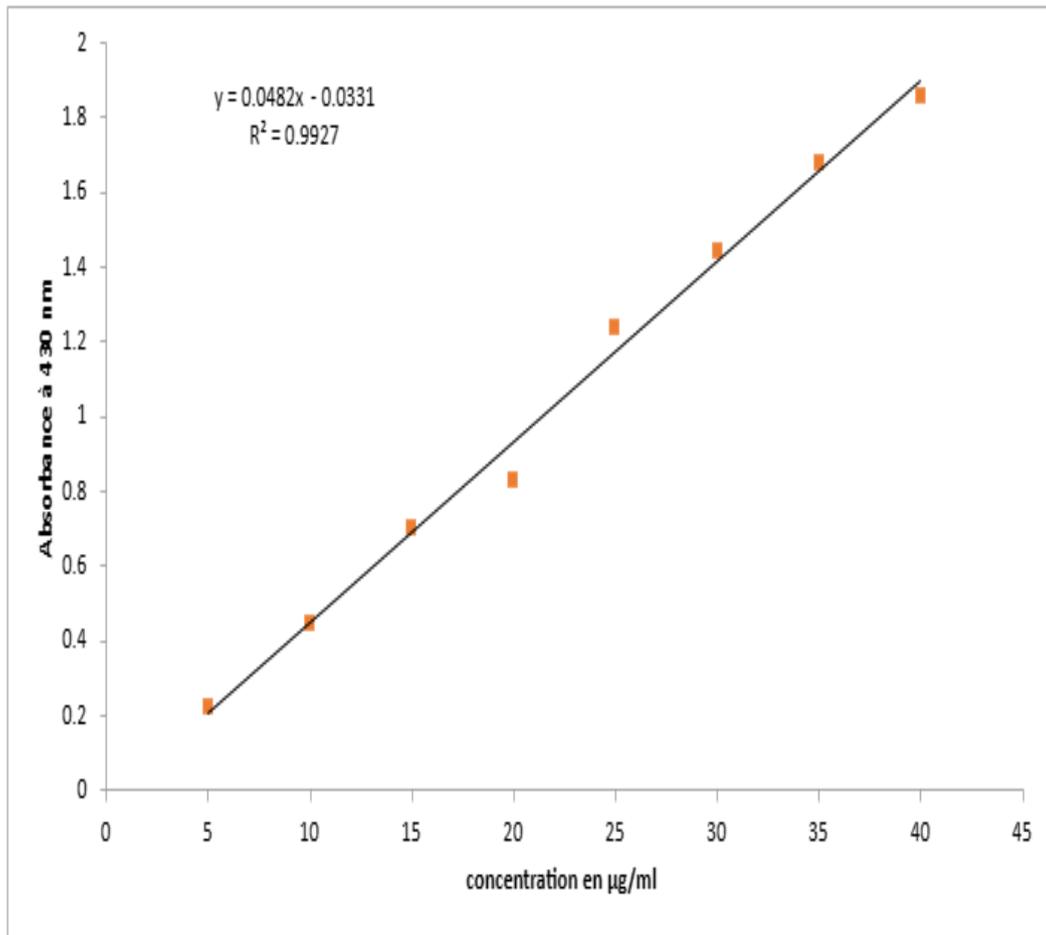


Figure 10. Droite d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent quercétine par un milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$). Les résultats obtenus durant notre étude ont révélé la présence des flavonoïdes dans les deux extraits testés mais avec des concentrations faibles (figure11).

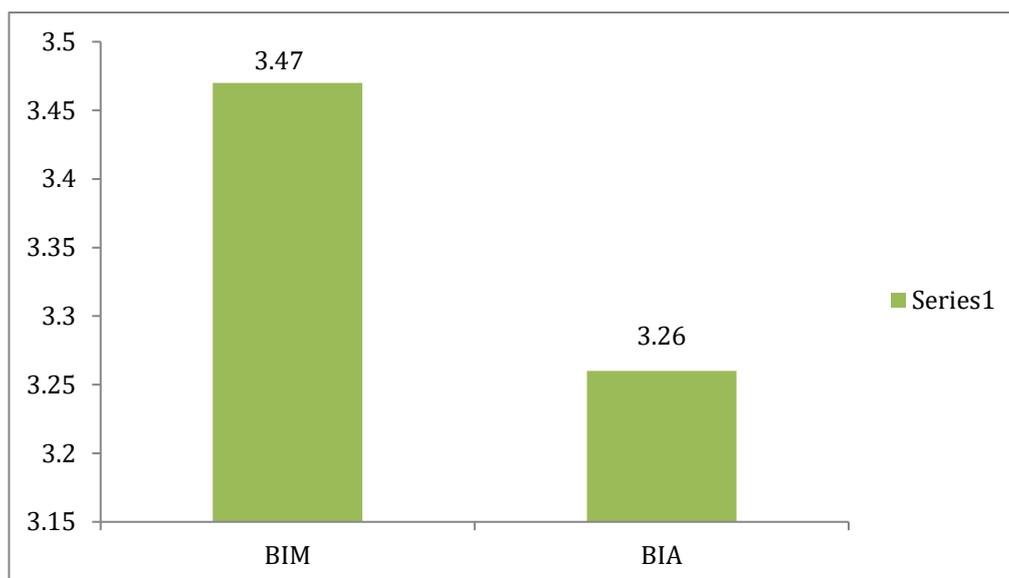


Figure 11. Teneur des extraits en flavonoïdes totaux en $\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux "

Les résultats présentés dans la figure 11 montrent que l'extrait hydro-méthanolique présente une teneur en flavonoïdes totaux avec un taux de l'ordre de $3.47 \mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$, suivi par l'extrait aqueux avec presque la même quantité $3.26 \mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$. Les résultats semblent très proches les uns aux autres, bien que l'extrait aqueux ne soit qu'un extrait préparé à partir la solution résiduelle de l'hydrodistillation.

Nous n'avons pas trouvé des travaux concernant l'évaluation des teneurs en flavonoïdes pour les graines de l'espèce *Bunium incrassatum*. Cependant, nous avons comparé nos résultats par rapport à d'autres études qui ont utilisé d'autres espèces telles que *Bunium mauritanicum*. En effet, l'étude de Karouche et *al.*, (2020) montre des teneurs en flavonoïdes de $4,031 \pm 0,141 \mu\text{g EQ}/\text{mg d'extrait}$ méthanolique, ce résultat est similaire aux résultats que nous avons obtenus pour le même extrait et $0,832 \pm 0,158 \mu\text{g EQ}/\text{mg d'extrait}$ aqueux, une teneur en flavonoïdes très faible par rapport à celle de notre extrait aqueux. De même l'étude de Ražná et *al.*, (2018) ont enregistré des taux élevés en flavonoïdes pour l'extrait éthanolique (80%) estimés à $10,9 \text{ mg EQ}/\text{g}$, un résultat supérieur à ceux rapporté pour notre extrait méthanolique.

4 Dosage des flavonols

L'estimation des teneurs en flavonols dans les deux extraits des graines de *Bunium incrassatum* a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage élaborée avec différentes concentrations de la rutine (10 à 200 µg /ml).

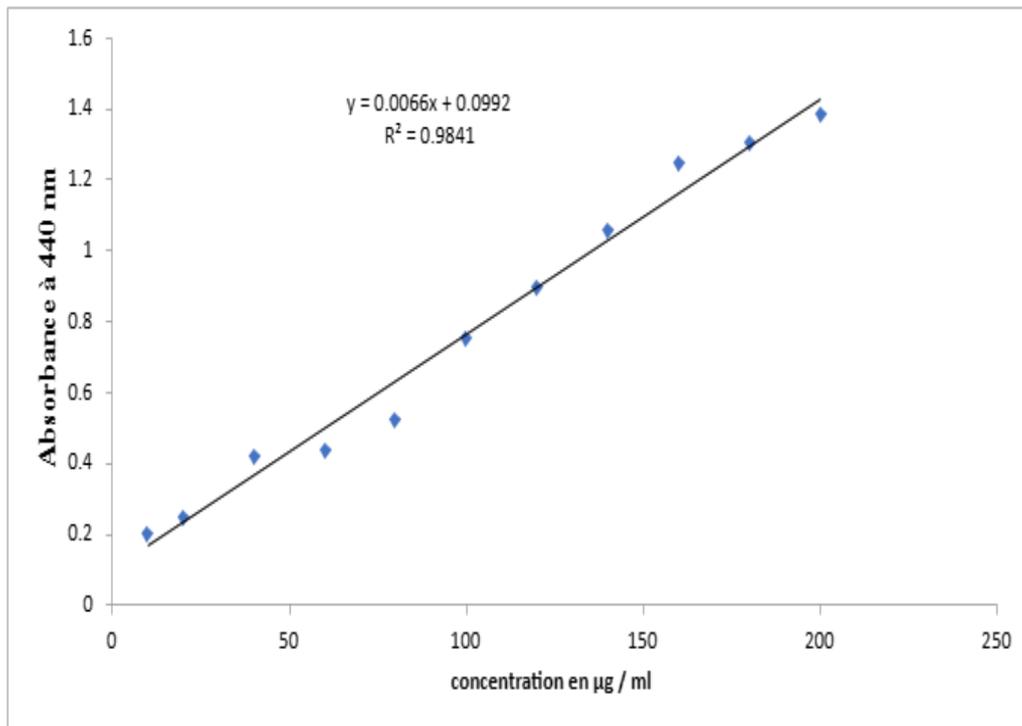


Figure 12. Droite d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonols.

La quantité des flavonols a été rapportée en microgramme d'équivalent rutine par un milligramme d'extrait (µg ER /mg d'extrait). Les résultats obtenus ont été montrés dans la figure 13.

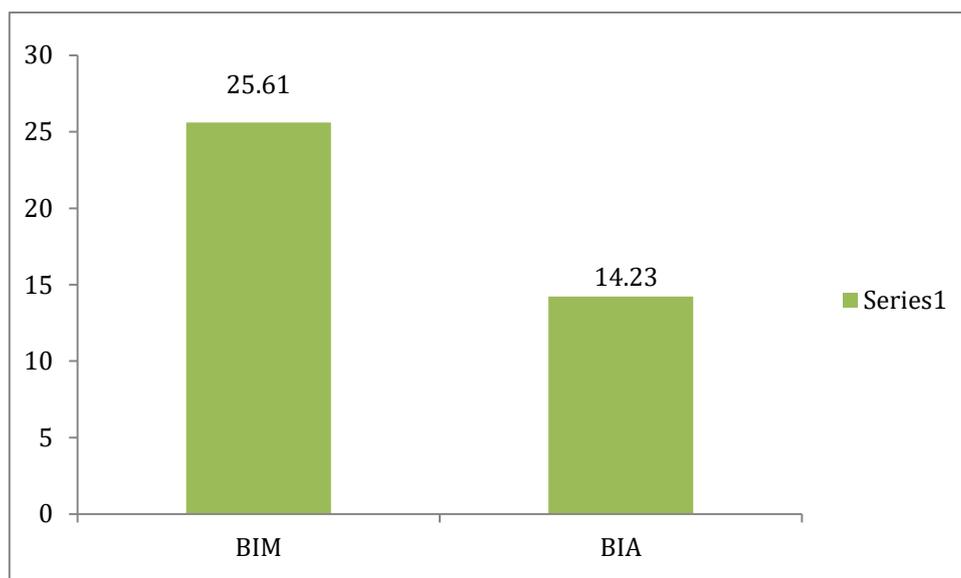


Figure 13. Teneur des extraits en flavonols totaux en µg EQ / mg d'extrait.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux ".

Tous comme les autres dosages, les résultats de la figure13 montre que l'extrait hydro-méthanolique contient une quantité en flavonols plus que l'extrait aqueux avec des teneurs 25,61 µg ER / mg d'extrait et 14,23 µg ER / mg d'extrait respectivement. En comparant avec l'extrait méthanolique, cette valeur reste un très bon résultat dans la teneur en flavonols pour l'extrait aqueux puisque ce n'est qu'un extrait secondaire préparé à partir d'un résidu d'extraction.

Selon les résultats de Deghima et *al.*, (2022), qui ont travaillé sur les parties aériennes de l'espèce *Bunium ferulaceum*, l'extrait hydro-méthanolique contient une teneur 87 ± 3 µg ER / mg d'extrait en flavonols, ce résultat est largement supérieur à notre résultat pour le même extrait (25,611 µg ER / mg d'extrait) et aussi pour l'extrait aqueux. Les flavonols ont une solubilité aqueuse très faible (Kwon, Yong-Eun et *al.*, 2010) et les flavonols extraits sont modérément polaires et sont donc mieux dissous dans des solvants contenant un pourcentage plus élevé de méthanol que d'eau (González-de-Peredo et *al.*, 2021).

5 Dosage des triterpènes

La quantification des teneurs en triterpènes dans les extraits des graines de *Bunium incrassatum* a été déterminé en utilisant l'acide ursolique comme standard avec différents concentration (1 à 300 µg /ml).

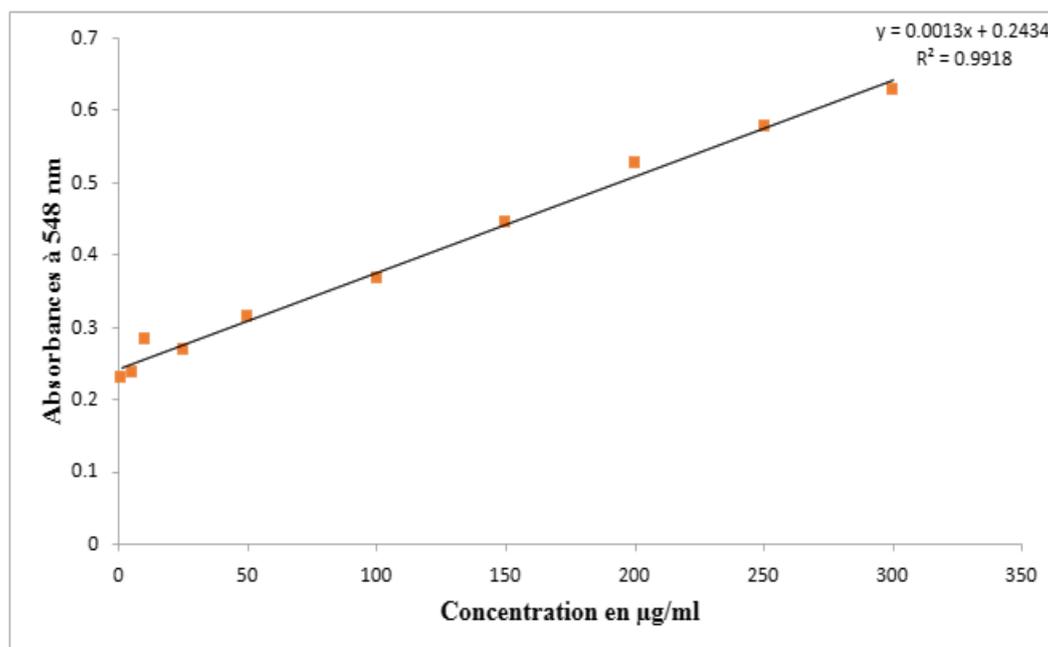


Figure 14. Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpènes

La quantité des triterpènes dans l'extrait méthanolique est exprimée en microgramme équivalant de l'acide ursolique par mg d'extrait.

Les résultats ont montré que notre extrait méthanolique contient une teneur en triterpènes, estimé à 7,764 µg EAU/mg d'extrait et l'extrait aqueux ne contient pas de triterpènes puisque son résultat est négatif.

A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur le dosage des triterpènes sur la plante *Bunium incrassatum*. Pour cela il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres travaux. Dans une étude de Khanal et al., (2021) réalisée sur l'extrait méthanolique de graines de *Bunium bulbocastanum*, les triterpènes n'ont pas été détectés.

Le méthanol est un solvant approprié permettant l'extraction de différents groupes de terpénoïdes (Oreopoulou et al., 2019), où les triterpènes ont une liposolubilité élevée et une faible solubilité dans l'eau. Ces propriétés expliquent la teneur des triterpènes présents dans l'extrait méthanolique et son absence dans l'extrait aqueux (Furtado et al., 2017).

Cette différence dans les résultats des dosages peut être expliquée par la différence de l'espèce, du protocole réalisé, du solvant utilisé ainsi que la région de la récolte et le climat. Ces résultats ont montré que le mélange hydro-méthanolique est le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, Les mélanges aqueux-alcooliques extraient une teneur en phénols plus élevée que d'autres solvants parce que l'eau peut gonfler la matière végétale et

accroître l'extractibilité, en permettant au solvant de pénétrer plus facilement la matrice solide (Bhebhe et *al.*, 2016).

Donc, Le choix d'un solvant idéal pour l'extraction est essentiel, il détermine la quantité et le type de composés phénoliques à extraire parce que dans chaque plante il existe différents composés phénoliques de propriétés chimiques et de polarités variées qui peuvent ou non être solubles dans un solvant particulier (Metrouh-Amir et *al.*, 2015). Cependant, il n'existe pas de méthode à une étape connue qui peut être utilisée pour extraire tous les composés phénoliques. Il s'ensuit que les molécules polaires se dissoudront dans des solvants polaires tandis que les composés moins polaires seront plus susceptibles d'être extraits avec un solvant non polaire.

6 Activité antioxydante

6.1 Activité antiradicalaire contre le DPPH

Les résultats d'activité antioxydante sont exprimés en microgramme équivalent de Trolox (antioxydant référence) par milligramme d'extrait pour une meilleure comparaison de DPPH entre les extraits et les standards, les résultats sont présentés dans la figure suivante

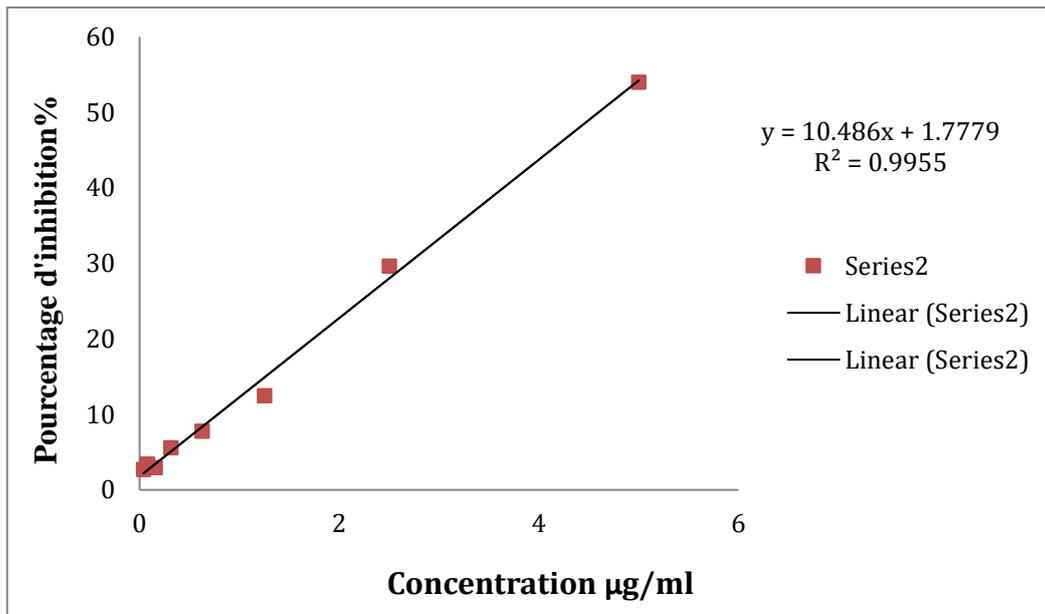


Figure 15. Droite d'étalonnage du Trolox pour le test DPPH.

Les résultats sont exprimés en µg ET /mg d'extrait et des standards, la comparaison se fait pour les concentrations 0.015625mg/ml et 0.00125mg/ml (figure 16).

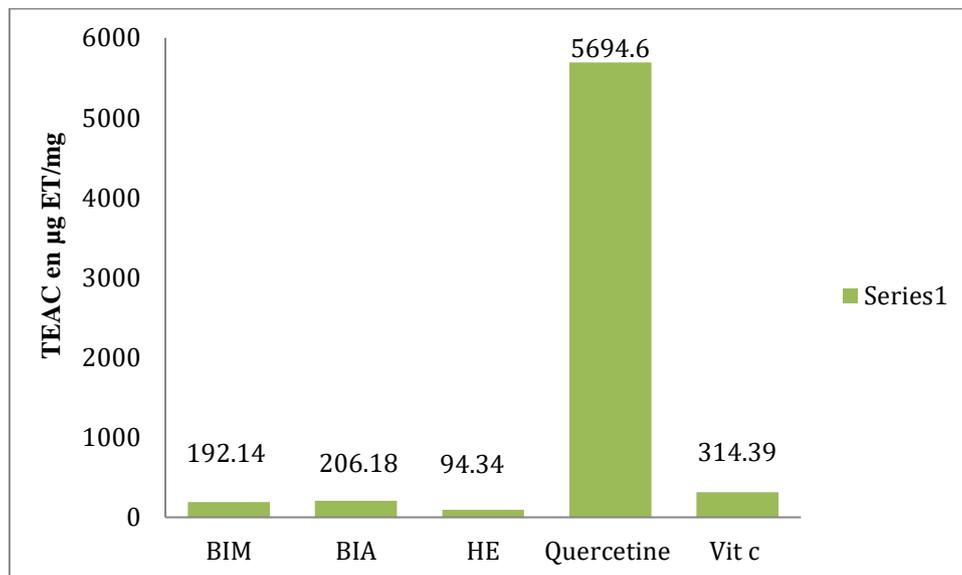


Figure 16. Résultats de comparaison du test DPPH des graines de *Bunium incrassatum* et des standards.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux " ; HE, "Huile essentielle ".

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait aqueux contient la valeur la plus élevée 206.18µg ET/mg par rapport l'extrait méthanolique avec une activité antiadiclairecontre le radical DPPH estimé 192.14µg ET/mg d'extrait. L'activité antiradicalaire la plus faible est

celle d'huile essentielle (94.34 μ g ET/mg HE). Cette différence d'activité anti-radicalaire entre les extraits peut être dû à la différence de polarité des solvants (méthanol et eau) ou à la nature des composés phénoliques extraits (S. Karouche et *al.*, 2020). Alors que le standard quercétine présente la plus haute capacité à piéger le radical DPPH de 5694.64 μ g ET/mg, il est supérieur à celle de la vitamine C qui est à 314.391 μ g ET/mg. L'activité antioxydante de nos extraits est inférieure par rapport aux standards utilisés.

Les résultats de l'extrait méthanolique obtenus dans notre travail sont supérieurs à ceux obtenus par Gokhan Zengin et *al.*, (2019) qui ont étudié l'activité antioxydante de plusieurs espèces de *Bunium* sur la partie aérienne (fleur) et qui ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction, la plus efficace est celui de *Bunium microcapum* 69.66mg ET/g d'extrait, suivie par *B. pinnatifolium* (51.89 mg ET/g) tandis que le moins efficace était *B. sayai* (41.15 mg ET/g) d'extrait similaire à *B. brachyactis* (49.79 mg ET/g) d'extrait. Ces résultats peuvent être expliqués par la teneur élevée des extraits de la plante en composés phénoliques et en flavonoïdes qui présentent des effets antioxydants élevés.

Dans une étude réalisée par S. Karouche et *al.*, (2020) qui a travaillé sur des tubercules de l'espèce *Bunium mauritanicum*, l'extrait méthanolique a présenté une forte activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 75.407 %, par rapport à l'extrait aqueux avec un pourcentage d'inhibition de 18.885 %, ceci est dû à la faible teneur des tubercules étudiés en flavonoïdes, ce composé bioactif est signalé dans plusieurs recherches comme les meilleurs antioxydants. Contrairement à ce que nous avons trouvé dans notre travail, l'activité de notre extrait aqueux est plus élevée à celle de l'extrait méthanolique.

Des études antérieures ont également révélé que l'activité antioxydante des extraits aqueux de la plante *Ferula communis* déterminée à 52.29 % est supérieure à celle de l'extrait méthanolique qui est de 14.39%, ces résultats sont cohérents avec les nôtres parce que l'activité de l'extrait aqueux contre DPPH reste supérieure à celle de l'extrait méthanolique (Esin Dadasoglu et *al.*, 2018).

Concernant l'huile essentielle, Aljabeili et *al.*, (2018) ont étudié l'activité antioxydante de la plante *Thymus vulgaris* de la famille Lamiaceae est caractérisée par une l'activité contre DPPH estimée par 3.7 μ g ET/mg HE qui est largement inférieure à notre résultat 94.34 μ g ET/mg HE.

6.2 Inhibition du Radical cation ABTS+

On a calculé TEAC (capacité antioxydante équivalente au Trolox) à partir de la courbe d'étalonnage du Trolox pour une meilleure comparaison entre les extraits et les standards utilisés. TEAC donne une mesure de la force antioxydante d'une substance d'une unité équivalente, plus la valeur de TEAC est élevée, plus la molécule est active. Les résultats sont présentés dans la figure 18.

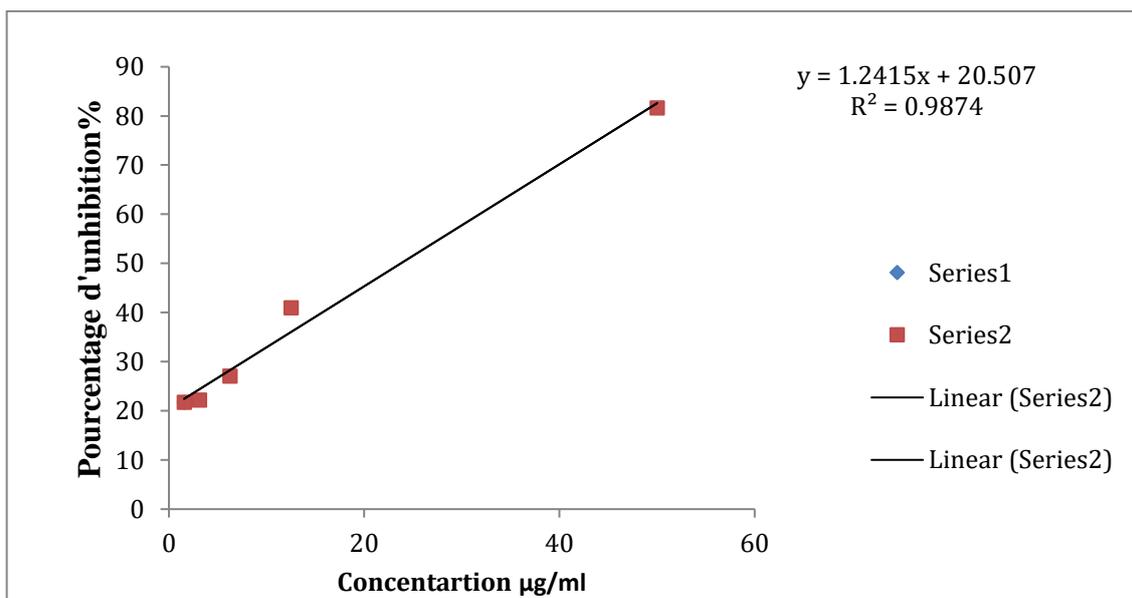


Figure 17. Droite d'étalonnage du Trolox vis-à-vis le radical ABTS+.

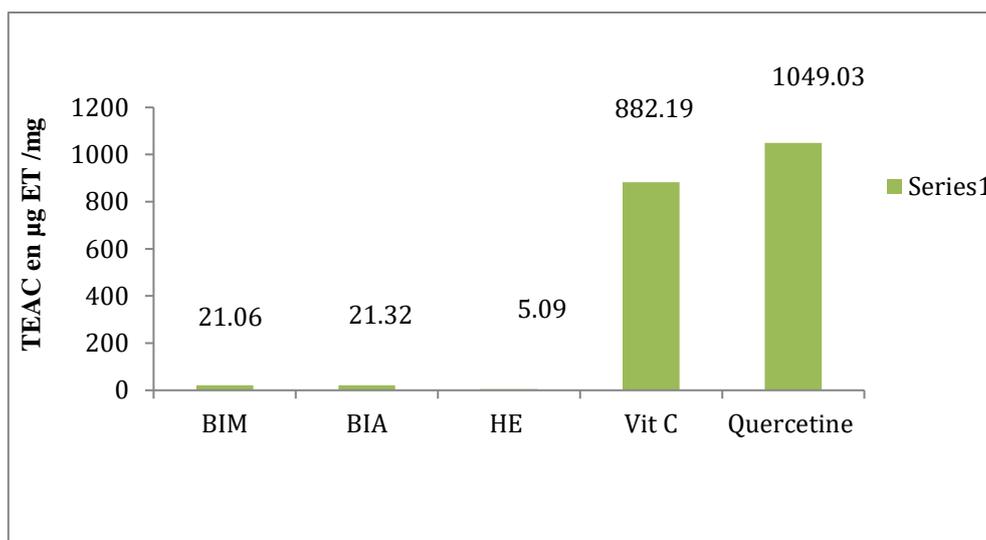


Figure 18. Résultats de comparaison du test ABTS des graines de *Bunium incrassatum* et des standards.

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux " ; HE, "Huile essentielle ".

D'après les résultats obtenus dans la figure 18 l'extrait méthanolique et aqueux présentent des activités antiradicalaires estimés de l'ordre de 21.06 µg ET /mg d'extrait et 21.32 µg ET /mg d'extrait, respectivement. Ce qui correspond à une activité plutôt similaire pour la même concentration 2mg/ml utilisés dans les calculs des TEAC. La valeur la plus faible est celle des huiles essentielles (5.09 µg ET/mg HE).

Pour le standard quercetine, il présente une activité antiradicalaire importante avec 1049.03 µg ET /mg de quercetine par rapport à la vitamine C 882.19 µg ET /mg de vitamine C vis-à-vis le radical ABTS⁺.

Dans une autre étude sur la plante *Altractylis gummifera* selon Khadija Bouabid et al., (2020) montre que l'extrait méthanolique présente une activité antioxydante contre ABTS estimée 122.6 mg ET/g d'extrait et pour l'extrait aqueux estimée 110 mg ET/g d'extrait, ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Selon Bahadori et al., (2017) qui ont travaillé sur la plante *Prangos gaubae* de la famille Apiaceae a trouvé l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle contre ABTS est 500 mg ET/g HE, Ce résultat est largement supérieur à notre résultat.

Il existe une corrélation significative entre la force réductrice des extraits des graines de *Bunium bulbocastanum* et sa teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, flavonols (S.

Karouche, 2020). Les extraits aqueux et méthanolique des graines de *Bunium incrassatum* ont des faibles activités antiradicalaires par rapport les autres tests. Cependant, la variabilité structurale des composés phénoliques qui se traduit par des différences dans leurs propriétés antioxydantes.

6.3 Test du pouvoir réducteur

L'activité antioxydante des graines de *Bunium incrassatum* est évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). La réaction est révélée par le changement de la couleur jaune du (Fe^{3+}) vers la couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}) (Bougandoura&Bendimerad, 2013). Au vu de la courbe illustrée dans la figure 19, on utilise l'acide ascorbique comme référence pour une comparaison de pouvoir réducteur entre nos extraits et les standards.

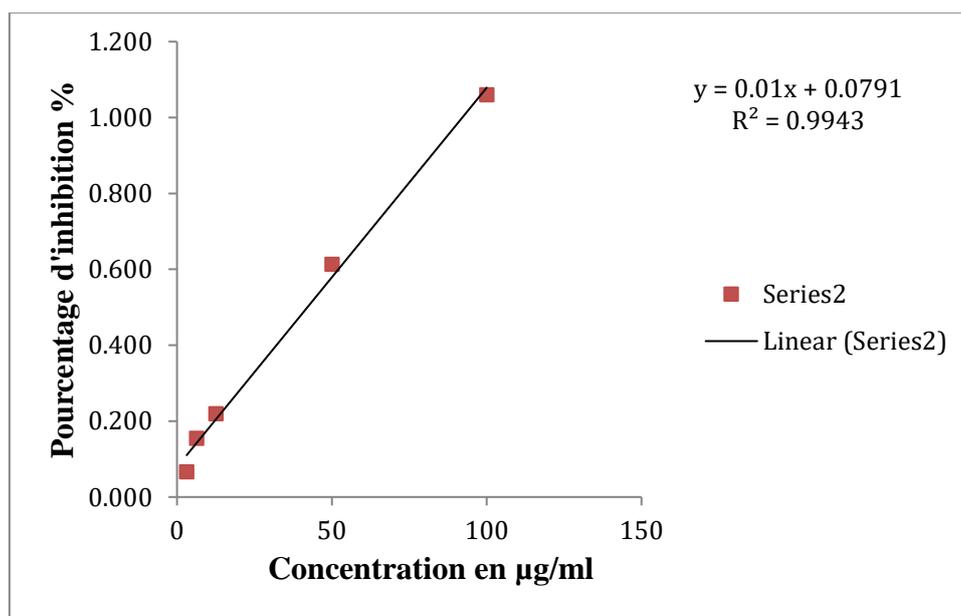


Figure 19. Droite d'étalonnage d'acide ascorbique de test pouvoir réducteur

Les résultats sont exprimés en μg EAA/mg d'extrait, la comparaison se fait pour la concentration 0.05mg/ml (les standards) et 1mg/ml pour les extraits (Figure 20).

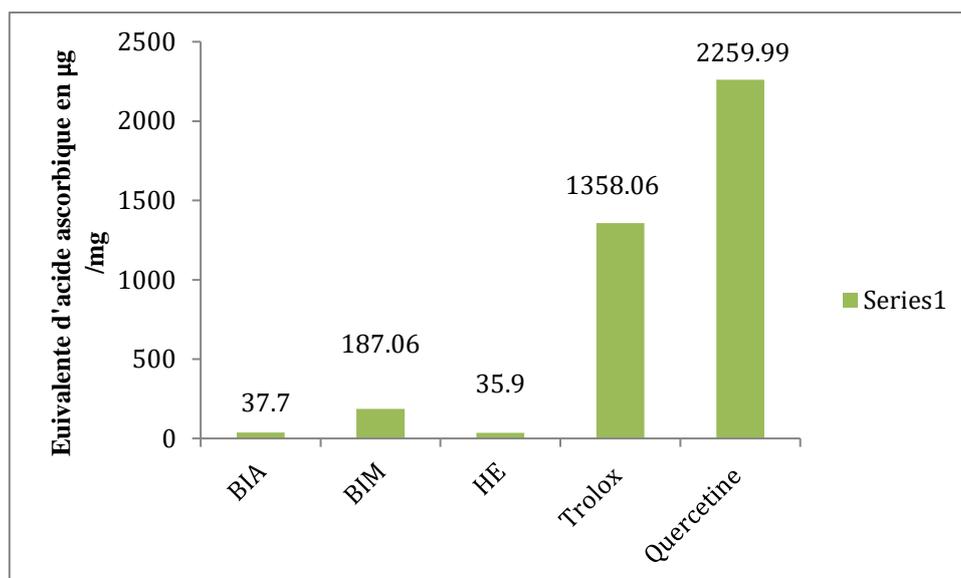


Figure 20. Résultats de comparaison du pouvoir réducteur des graines de *Bunium incrassatum* et des standards

BIM, "*Bunium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Bunium incrassatum* aqueux " ; HE, "Huile essentielle ".

Les valeurs de test pouvoir réducteur sont entre 2259.99 à 35.9 µg EAA/mg d'extrait (Figure20). Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Bunium incrassatum* est largement supérieur (187.06 µg EAA/mg d'extrait) par rapport à l'extrait aqueux (37.7 µg EAA/mg d'extrait) qui est presque similaire à celui de l'huile essentielle 35.9 µg EAA/mg HE.

Selon l'étude réalisée par S. Karouche et *al.*, (2020) sur la plante *Bunium mauritanicum*, l'extrait méthanolique a donné un pouvoir réducteur inférieur au pouvoir réducteur d'extrait aqueux. Comparons avec nos résultats nous pouvons dire que les extraits méthanolique de *Bunium incrassatum* présentent une forte activité antioxydante vis-à-vis le pouvoir réducteur .Cela pourrait expliquer par la présence des molécules responsables au pouvoir réducteur.

Khadija Bouabid et *al.*, (2020) qui ont travaillé sur la plante *Atractylis gummifera* de la famille Apiaceae indiquent que l'activité de réduction de fer de l'extrait aqueux est forte estimé à 0.096 µg EAA/mg d'extrait par rapport l'extrait méthanolique avec 0.06 µg EAA/mg d'extrait ,Mais les résultats des extraits obtenu dans notre travail est supérieur à leur résultats.

La majorité des travaux publiés portant sur *Bunium incrassatum* se limitent à l'évaluation de la capacité antioxydante des huiles essentielles (S. Karouche et al., 2020). D'après l'étude de Saeid Goodarzi et al., (2016) qui ont travaillé sur les fleurs, fruit, feuille et tige de la plante *Astrodaucus persicus* de la famille Apiaceae indiquent que les huiles essentielles des fruits/fleurs ont montré une puissante capacité réductrice estimé 0.12 μg EAA/mg ,on remarque que cette résultat est largement inférieur à notre résultat estimé par 35.9 μg EAA/mg ,cette différence est dû à la différence la plante et la partie utilisé .

De manière générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence des molécules capables de donner des électrons qui peuvent interagir avec les radicaux libres et les transformer en produits stables, parmi les quelles les polyphénols.

6.4 Activité antioxydante total (TAC)

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait (μg EAA/ mg d'extrait). La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (figure21).

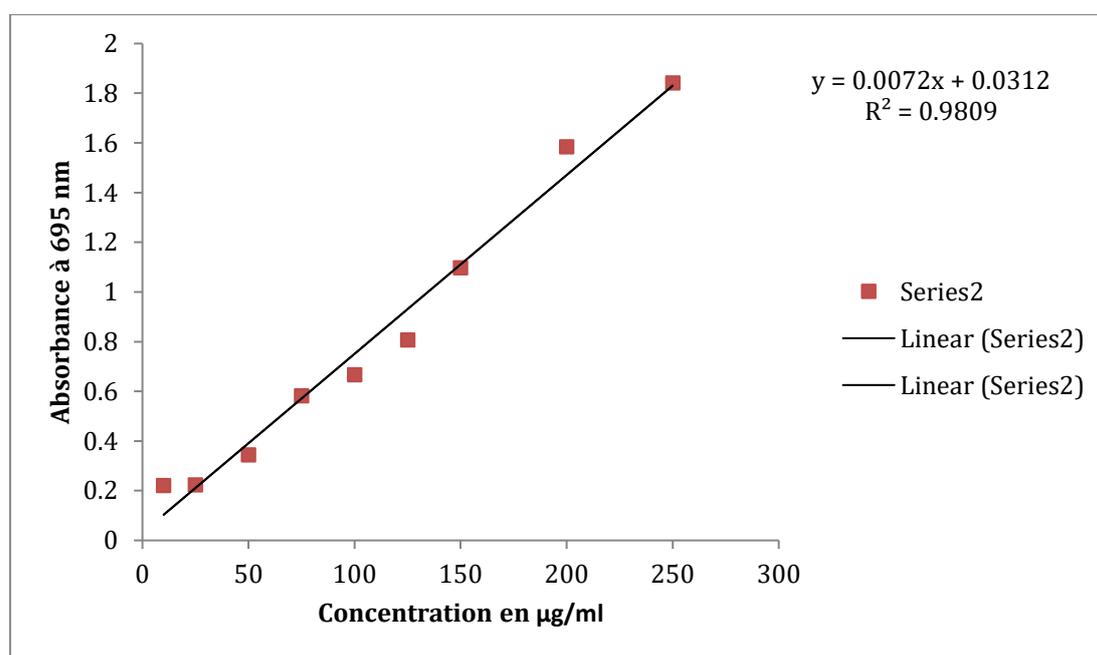


Figure 21. Droit d'étalonnage d'acide ascorbique de la capacité antioxydante totale.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante totale des différents extraits des graines de *Bunium incrassatum* sont présentés dans la figure 22.

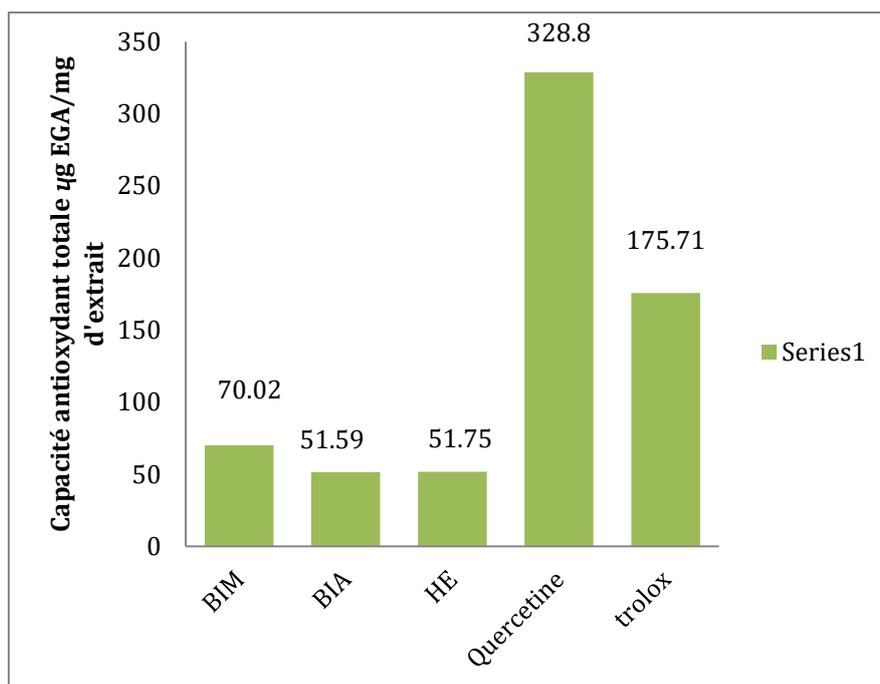


Figure 22. L'activité antioxydante total des extraits des graines de *Buniium incrassatum* et les standards utilisés.

BIM, "*Buniium incrassatum* méthanolique " ; BIA, "*Buniium incrassatum* aqueux " ; HE, "Huile essentielle ".

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique possède l'activité antioxydante total (TAC) la plus importante avec 70.02 µg EAA /mg d'extrait, puis l'extrait aqueux et l'huile essentielle avec une TAC presque la même 51.59 µg EAA /mg d'extrait et 51.75 µg EAA /mg HE, respectivement .Le standard quercetine possède une meilleur TAC 328.80 µg EAA /mg que le Trolox avec 175.71 µg EAA /mg.

En comparant les résultats de TAC de nos extraits et celle des standards, Les extraits (méthanolique, aqueux, huile essentielle) possèdent une faible TAC par rapport les standards (Quercetine, Trolox).

La capacité antioxydante totale (TAC) de l'extrait méthanolique de la plante *Prangos gaubae* de la même famille (Apiaceae) déterminé par Bahadori et *al.*, (2017) était de 0.36 µg EAA/mg d'extrait ce qui est inférieur par rapport à celui obtenu dans notre travail 70.02 µg EAA/mg d'extrait .L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation des parties aériennes séchées de la plante *P.gaubae* avec une activité antioxydante totale estimé 2.29µg EAA/mg HE qui est largement inférieur à notre résultats estimé 51.75µg EAA/mg HE, ces observations peuvent être interprétées par les capacités antioxydantes des sesquiterpénoïde trouvés dans l'huile essentielle de *P.gaubae*.

Le résultat de TAC le plus fort peut être attribué à la présence de composé phytochimique, en effet des études récentes ont montré que plusieurs polyphénols contribuent significativement à l'activité antioxydante totale de plusieurs plantes médicinales. Par conséquent, la différence d'activité antioxydante totale est probablement liée à la différence de leur composition phénolique (Habellah, 2016).

Hayet et *al.*, (2017) a réalisé une étude sur les molécules telles que ; Le géraniol, le bisabolol et le thymol chez une espèce du genre *Bunium* qui s'est avérés possédant une propriété antioxydante. Il a été prouvé que l'effet antioxydant est dû à la présence de groupes hydroxyle dans la structure chimique, tels que la quercétine et le carnosol, bien connus pour être de bons piègeurs de radicaux libres.

Conclusion

Conclusion

Bunium incrassatum est une source thérapeutique, qui peut contenir plusieurs propriétés médicales grâce à ses composants bioactifs qui résident dans ses graines.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude qui vise la détermination de la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanolique, aqueux et d'huile essentielle des graines de *Bunium incrassatum*.

Dans un premier temps, l'extraction à partir des graines de *Bunium* a permis d'obtenir des rendements proches dont le plus élevé est celui de l'extrait aqueux 16,45%. Le rendement de l'huile essentielle obtenu avec un pourcentage de 0,213%.

Dans le premier volet, Les résultats du dosage des métabolites secondaires en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et triterpènes ont révélé que l'extrait hydro-méthanolique étudié est le plus riche, tandis que l'extrait aqueux est le moins riche en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et le plus pauvre en triterpènes car ils n'ont pas été détectés. D'après ces résultats on conclut que l'extrait aqueux possède une importance teneur en composés phénoliques malgré qu'il s'agit juste d'un extrait secondaire préparé à partir de la solution résiduelle d'hydrodistillation.

Le deuxième volet consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante, *Bunium incrassatum* a montré que la méthode de piégeage du radical libre DPPH est la plus importante sur l'extrait méthanolique, aqueux et huile essentielle avec des valeurs (192.14 µg ET/mg ,206.15 µg ET/mg ,94.34 µg ET/mg respectivement). Il a été ressorti que cette plante exhibe un pouvoir antioxydant intéressant, l'extrait aqueux s'est révélée possédant le plus grand pouvoir antioxydants.

Finalement, les résultats de notre étude permettent de conclure que les graines de *Bunium incrassatum* est une source naturelle riche en agents antioxydants qui peut être utilisée dans le traitement de stress oxydant.

Les résultats obtenus dans cette étude peuvent être approfondis par d'autres études afin de :

Il serait intéressant d'élargir le panel des activités biologiques notamment l'activité antifongique, antimicrobienne et de purifier et identifier les molécules responsables de ces propriétés pharmacologiques, et d'accorder une plus grande importance à sa culture.

Il sera également possible de mettre en œuvre la valorisation de certains produits alimentaires et pharmaceutiques à base de cette plante dans le but de mettre fin au problème des radicaux libres.

Bibliographiques

1. Abdallah, M. S., Mustafa, M., Nallappan, M. A., Choi, S., Paik, J.-H., & Rusea, G. (2021). Determination of Phenolics and Flavonoids of Some Useful Medicinal Plants and Bioassay-Guided Fractionation Substances of *Sclerocaryabirrea* (A. Rich) Hochstem (Bark) Extract and Their Efficacy Against *Salmonella typhi*. *Frontiers in Chemistry*, 9, 670530.
2. Ahmad, R. (2018) *Free radicals, antioxidants and diseases*. London, United Kingdom: IntechOpen.
3. Aiouaz, M., & Bitam, A. (2022). *Buniumin crassatum* Bois. Batt. Trab. (Talghouda) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(2), 92-108.
4. Alberti, A., Zielinski, A. A. F., Zardo, D. M., Demiate, I. M., Nogueira, A., & Mafra, L. I. (2014). Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food Chemistry*, 149, 151-158.
5. Aljabeili, H. S., Barakat, H., & Abdel-Rahman, H. A. (2018). Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Thyme Essential Oil (<i>Thymus vulgaris</i>). *Food and Nutrition Sciences*, 09(05), 433-446.
6. Araújo, R. F. F. de, Martins, D. B. G., & Borba, M. A. C. S. M. (2016). Oxidative Stress and Disease. In J. A. Morales-Gonzalez, A. Morales-Gonzalez, & E. O. Madrigal-Santillan (Éds.), *A Master Regulator of Oxidative Stress—The Transcription Factor Nrf2*. InTech.
7. Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A., Baghiani, A., & Ruberto, G. (2019). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants: *Menthapulegium* L. and *Lavandulastoechas* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(3), 821-837.
8. Bahadori MB, Zengin G, Bahadori S, Maggi F, Dinparast L. Chemical Composition of Essential Oil, Antioxidant, Antidiabetic, Anti-obesity, and Neuroprotective Properties of *Prangosgaubae*. *Natural Product Communications*. 2017;12(12):1934578X1701201.
9. Benkhalfa, A., Toumi, M., & Berberi, M. (2019). Talghouda'' une ancienne source alimentaire et une culture adaptée aux régions montagneuses. Laboratoire d'ethnobotanique et substances naturelles, ENS El-Ibrahimi Kouba, Alger.
10. Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2015). Chemical constituents of the roots of Algerian *Buniumincrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 313-316.

11. Brainina, Khiena, Natalia Stozhko, et Marina Vidrevich. 2019. « Antioxidants: Terminology, Methods, and Future Considerations ». *Antioxidants* 8(8): 297.
12. Bhebbhe, M., Füller, T. N., Chipurura, B., & Muchuweti, M. (2016). Effect of Solvent Type on Total Phenolic Content and Free Radical Scavenging Activity of Black Tea and Herbal Infusions. *Food Analytical Methods*, 9(4), 1060-1067.
13. Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq. *B.*
14. Chang, C. L., Lin, C. S., & Lai, G. H. (2012). Phytochemical Characteristics, Free Radical Scavenging Activities, and Neuroprotection of Five Medicinal Plant Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-8.
15. CHENTOUH S, B. S. (2018). EFFETS DES EXTRAITS ORGANIQUES DE *Bunium incrassatum*. *Revue des BioRessources*, 9.
16. Chentouh, S., Boulahbel, S., Ouldjaoui, A., Hammoudi, N., Djebaili, H., & Adjal, F. (2017). Effect of organic extracts of *Bunium incrassatum* on the hematological, ovarian and uterine parameters of mature female rabbit. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3), 1618.
17. Columbia University Press, 1262 p
18. Cronquist A., 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Ed.
19. Daenen, K. *et al.* (2019) "Oxidative stress in chronic kidney disease," *Pediatric Nephrology*, 34(6), pp. 975–991.
20. De Martino L., De Feoa V., Fratiannib F., Nazzaro F. (2009). Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. *Natural Products Communication*. 4: 1741-1750
21. Deghima, A., Ansorena, D., Calvo, M. I., Astiasarán, I., & Bedjou, F. (2021). Nutritional constituents and effect of in vitro digestion on polyphenols and antioxidant activity of the large-leaved buttercup (*Ranunculus macrophyllus* Desf.). *Food Bioscience*, 40, 100904.
22. Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., Eugenia León-González, M., Baali, F., Gómez-Mejía, E., Madrid, Y., & Bedjou, F. (2022). Phenolic profile, safety, antioxidant

- and anti-inflammatory activities of wasted *Buniumferulaceum* Sm. Aerial parts. *Food Research International*, 160, 111714.
23. Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Gómez-Mejía, E., Madrid, Y., Baali, F., & Bedjou, F. (2020). Bioactive polyphenols from *Ranunculus macrophyllus* Desf. Roots: Quantification, identification and antioxidant activity. *South African Journal of Botany*, 132, 204-214.
24. Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Baali, F., Gómez-Mejía, E., Madrid, Y., & Bedjou, F. (2021). Anti-inflammatory activity of ethyl acetate and n-butanol extracts from *Ranunculus macrophyllus* Desf. And their phenolic profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113347.
25. Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17), 5377.
26. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
27. EL-Haoud, H., Boufellous, M., & Berrani, A. (s. d.). *SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: Mentha Spicata L.*
28. Engwa, G. A. (2018). Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases. In T. Asao & M. Asaduzzaman (Éds.), *Phytochemicals—Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. InTech.
29. Esin Dadasoglu, Aykut Oztekin, et Fatih Dadasoglu. 2018. « Antibacterial and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Ferula communis* and determination of chemical composition of its essential oil ».
30. Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
31. Giancarloş, S., Rosaş, L. M., Nadjafi, F., & Francesco, M. (2006). Hypoglycaemic activity of two spices extracts: *Rhus coriaria* L. and *Bunium persicum* Boiss. *Natural Product Research*, 20(9), 882-886.
32. Gokhan Zengin, Mehmet Yavuz Paksoy, Muhammad Zakariyyah, Jasmina Glamocilja. New insights into the chemical profiling, cytotoxicity and bioactivity of four *Bunium* species. 2019.

33. González-de-Peredo, A. V., Vázquez-Espinosa, M., Espada-Bellido, E., Carrera, C., Ferreiro-González, M., Barbero, G. F., & Palma, M. (2021). Flavonol Composition and Antioxidant Activity of Onions (*Allium cepa* L.) Based on the Development of New Analytical Ultrasound-Assisted Extraction Methods. *Antioxidants*, *10*(2), 273.
34. Habellah RM, Karoune S, Kechebar MSA, Bounab H. Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'Acacia ehrenbergiana de la région de Tindouf. 2016;(13)..
35. Hameister, R., Kaur, C., Dheen, S. T., Lohmann, C. H., & Singh, G. (2020). Reactive oxygen/nitrogen species (ROS/RNS) and oxidative stress in arthroplasty. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, *108*(5), 2073-2087.
36. Hammoudi , N., Hafid , H., Moumen , Y., Chentouh , S., Djebaili , H., Boulahbel , S. (2020). Effect of Organic Materials Extract from *Buniumincrassatum* (Talghouda) Roots on Hematological and Histological Parameters of the Adrenal Glands in the Pregnant Rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *JNTM*,*10*(1):38-43.
37. Hayet, E. K., Hocine, L., & Meriem, E. K. (2017). CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OILS AND THE METHANOLIC EXTRACTS OF BUNIAM INCASSATUM AND BUNIAM ALPIMUM FROM ALGERIA. *Journal of the Chilean Chemical Society*, *62*(1), 3335-3341.
38. J. C. Furtado, N., Pirson, L., Edelberg, H., M. Miranda, L., Loira-Pastoriza, C., Preat, V., Larondelle, Y., & André, C. (2017). Pentacyclic Triterpene Bioavailability: An Overview of In Vitro and In Vivo Studies. *Molecules*, *22*(3), 400.
39. Jacotot, B. & Campillo, B. (2003). *Nutrition Humaine*. Masson . Paris.
40. Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S., Malki, S., & Boudchicha, I. (2020). *EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF BUNIAM MAURITANICUM TUBERSS*.
41. Khadidja D, Zouina D, Anis B, Raouf MA, Seddik K. A Contribution to the Valorization of Two Medicinal Plants: *Atriplex Halimus* Sub. Sp. *Schweinfurthii* and *Buniumincrassatum*, growing in the Region of M'sila (North-East Algeria). Published online 2020.
42. Khadija Bouabid, Fatima Lamchouri, Hamid Toufik, Hamid Toufik. Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylisgummifera* L. Published online 2020.

43. Khanal, P., Paudel, N., Aryal, S., & Aryal, P. (2021). PHYTOCHEMICAL SCREENING AND EVALUATION OF ANTIDIARRHOEAL ACTIVITY OF BUNIMUM BULBOCASTANUM SEEDS EXTRACT IN EXPERIMENTAL WISTAR RATS. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 56-59.
44. Kruk, J., Aboul-Enein, H. Y., Kładna, A., & Bowser, J. E. (2019). Oxidative stress in biological systems and its relation with pathophysiological functions : The effect of physical activity on cellular redox homeostasis. *Free Radical Research*, 53(5), 497-521.
45. Kumaran, A., & Joel Karunakaran, R. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *LWT - Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.
46. Kwon, Yong-Eun, Kim, Hyun-Myung, Park, Se-Yeon, & 정선호. (2010). Enhancement of Solubility and Antioxidant Activity of Some Flavonoids Based on the Inclusion Complexation with Sulfobutylether β -Cyclodextrin. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 31(10), 3035-3037.
47. Landoulsi A, Roumy V, Rivière C, Sahpaz S, Hennebelle T. (2018). Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre Eryngium L. (Apiaceae). Published online.
48. Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous : (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 22-43.
49. Lefahal, M., Zaabat, N., Djarri, L., Benahmed, M., Medjroubi, K., Laouer, H., & Akkal, S. (2017). Evaluation of the antioxidant activity of extracts and flavonoids obtained from *Bunium alpinum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) and *Tamarix gallica* L. (Tamaricaceae). *Current Issues in pharmacy and Medical Sciences*, 30(1), 5-8.
50. Lefahal, M., Makhoulfi, E., Ayad, R., Boussetla, A., Elhattab, M., KeskiN, M., & Akkal, S. (2022). Highlighting the Cosmeceutical Potential of the Edible *Bunium alpinum* Waldst & Kit (Apiaceae) Growing in Algeria : In vitro Antioxidant and Photoprotective Effects. *GAZI UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE*.
51. Llauradó Maury, G., Méndez Rodríguez, D., Hendrix, S., Escalona Arranz, J. C., Fung Boix, Y., Pacheco, A. O., García Díaz, J., Morris-Quevedo, H. J., Ferrer Dubois, A., Aleman, E. I., Beenaerts, N., Méndez-Santos, I. E., Orberá Ratón, T., Cos, P.,

- &Cuypers, A. (2020). Antioxidants in Plants : A Valorization Potential Emphasizing the Need for the Conservation of Plant Biodiversity in Cuba. *Antioxidants*, 9(11), 1048.
52. Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
53. Metrouh-Amir, H., Duarte, C. M. M., &Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricariapubescens*. *Industrial Crops and Products*, 67, 249-256.
54. Mishra, Y. *et al.* (2022) "Application of nanotechnology to herbal antioxidants as improved phytomedicine: An expanding horizon," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, p. 113413.
55. Nagarajan, S., Nagarajan, R., Kumar, J., Salemme, A., Togna, A. R., Saso, L., & Bruno, F. (2020). Antioxidant Activity of Synthetic Polymers of Phenolic Compounds. *Polymers*, 12(8), 1646.
56. Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., &Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants : A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687-704.
57. Nickavar, B., Adeli, A., &Nickavar, A. (2014). Analyses of the Essential Oil from *Buniumpersicum* Fruit and its Antioxidant Constituents. *Journal of Oleo Science*, 63(7), 741-746.
58. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., &Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Polyphenols from Aromatic and Medicinal Plants : An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. In *Polyphenols in Plants* (p. 243-259). Elsevier.
59. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress : Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-13.
60. Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Centre National de la Recherche Scientifique.
61. Rahman, T. *et al.* (2012) "Oxidative stress and human health," *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(07), pp. 997-1019.
62. Ražná, K., Khasanova, N., Ivanišová, E., Qahramon, D., &Habán, M. (2018). Antioxidant properties of cumin (*Buniumpersicum*Boiss.) extract and its protective role against abiotic stress tested by microRNA markers. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1), 11-19.

63. SaeidGoodarzi, Abbas Hadjiakhoondi, Narguess Yassa, MahnazKhanavi, & Zahra Tofighi. (2016). *Essential oils chemical composition, antioxidant activities and total phenols of Astrodaucuspersicus*.
64. Sanei-Dehkordi, A., Vatandoost, H., Abaei, M. R., Davari, B., & Sedaghat, M. M. (2016). Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Buniumpersicum* Essential Oil against Two Important Mosquitoes Vectors. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 349-357.
65. Sang-aroon, W., Tontapha, S., & Amornkitbamrung, V. (2019). Photovoltaic Performance of Natural Dyes for Dye-Sensitized Solar Cells. In *Dye-Sensitized Solar Cells* (p. 203-229). Elsevier.
66. Sauerschnig, C., Doppler, M., Bueschl, C., & Schuhmacher, R. (2017). Methanol Generates Numerous Artifacts during Sample Extraction and Storage of Extracts in Metabolomics Research. *Metabolites*, 8(1), 1.
67. Sharififar, F., Yassa, N., & Mozaffarian, V. (2010). bioactivity of major components from the seeds of *buniumpersicum* (boiss.) fedtch. *Journal of pharmaceutical sciences*, 23 (3), 300-304.
68. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., TsouhFokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants : Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11, 694.
69. Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795-800.
70. Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274.
71. Souilah, N., Bendif, H., Ullah, Z., Hamel, T., Djarri, L., Oztürk, " M., ... Mustafa, A. M. (2021). LC-MS/MS simultaneous determination of 37 bioactive compounds in *Buniumcrassifolium* batt. And its biological activities. *Journal of Research in Pharmacy*, 25(4), 450–463.
72. Sour E, Amin G, Farsam H, et Barazandeh Tehrani M. 2008. « Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts ».

73. Taïbi, K., AitAbderrahim, L., Helal, F., & Hadji, K. (2021). Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(1), 43-52.
74. Toul F, Djendar A, Seladji M, Berroukeche F. Phytochemical profiling and evaluation of antioxidant activity of different solvent extracts from Algerian *Buniumincrassatum* seeds'. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. Published online March 10, 2022:475-482.
75. Toul, F., Djendar, A., Seladji, M., & Berroukeche, F. (2022). Algerian *Buniumincrassatum* Seeds : Effects of Extraction Solvent Polarity on Phenolic Profile and Antioxidant Activity. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 9(2), 415-422.
76. Tvrdá, E. and Benko, F. (2020) "Free radicals: What they are and what they do," *Pathology*, pp. 3–13.
77. Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940-949.
78. Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Free radicals, antioxidant defence systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 200-206
79. Youssef, D., El-Bakatoushi, R., Elframawy, A., El-Sadek, L., & Badan, G. E. (2023). Molecular phylogenetic study of flavonoids in medicinal plants : A case study family Apiaceae. *Journal of Plant Research*, 136(3), 305-322.
80. Zhang, X., Wang, X., Wang, M., Cao, J., Xiao, J., & Wang, Q. (2019). Effects of different pre-treatments on flavonoids and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora* leave. *PLOS ONE*, 14(1), e0200174.
81. Zheng, L., Zhao, M., Xiao, C., Zhao, Q., & Su, G. (2016). Practical problems when using ABTS assay to assess the radical-scavenging activity of peptides : Importance of controlling reaction pH and time. *Food Chemistry*, 192, 288-294.
82. Żukowski, P., Maciejczyk, M., & Waszkiel, D. (2018). Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 92, 8-.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تعزيز المستخلصات المختلفة لبذور نبات تلغودة (*Bunium incrassatum*) من خلال تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد والفلافونول والتريترپان وتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر. أعطانا الاستخراج بالنقع مستخلص ميثانول مائي بنسبة 15.18٪، وأظهر المستخلص المائي الذي تم تحضيره من المواد النباتية المتبقية من التقسيم المائي عائداً أفضل بقدر بنسبة 16.45٪. أعطى التقطير المائي للبذور زيتاً بنسبة 0.213٪. ويبين التحليل الكمي للمركبات الثانوية أن مستخلص الميثانول المائي لا يزال يحتوي على أعلى محتوى من هذه المركبات مقارنة بالمستخلص المائي على التوالي بما في ذلك البوليفينول الكلي (28.40 µg EAG/mg من المستخلص، والفلافونويد (3.472 µg EQ/mg من المستخلص)، والفلافونول (25.611 µg ER/mg من المستخلص)، والتريترپين (7.76 µg EAU/mg من المستخلص). كما يشير المستخلص الميثانولي المائي إلى أفضل نشاط مضاد للأكسدة في الاختبارات المستخدمة لهذا الغرض (Pouvoir réducteur، TAC)، بينما أظهرت نتائج اختبار DPPH أن المستخلص المائي أظهر أفضل نشاط مضاد للأكسدة • DPPH (206.18 µg ET/mg). وجدنا من خلال تحليل نتائجنا أن مستخلصاتنا لها مستويات مركبات ثانوية (فينولية)، مما يسمح لنا باستخدام هذه المستخلصات كمصدر لمضادات الأكسدة التي تلعب دوراً مهماً في الوقاية من الأمراض وتطويع جزيئات طبيعية جديدة بناءً على هذه المكونات النشطة.

الكلمات المفتاحية: *Bunium incrassatum*، مضادات الأكسدة، فلافونول، تريترپان، بوليفينول، فلافونويد، ABTS، DPPH، TAC،

Pouvoir réducteur.

Abstract

The objective of this study is to enhance different extracts of the seeds of the *Bunium incrassatum* plant by determining the amount of polyphenols, flavonoids, flavonols and triterpenes and to evaluate the antioxidant activity in vitro. The extraction by maceration gave us a hydro-methanol extract with a yield of 15.18% and the aqueous extract that was prepared from the residual plant material of the hydrodistillation showed a better yield estimated 16.45%. The hydrodistillation of the seeds gave an oil with a yield of 0.213%. Quantitative analysis of secondary metabolites shows that the hydro-methanol extract still contains the highest content of these compounds compared to the aqueous extract including total polyphenols (28.403 µg EAG/mg extract), flavonoids (3.472 µg EQ/mg extract), flavonols (25.611 µg ER/mg extract) and triterpenes (7.764 µg EAU/mg extract). The hydro-methanol extract indicates the best antioxidant activity in the tests used for this purpose (reducing power, TAC), while the results of the DPPH test showed that the aqueous extract showed the best antiradical activity against DPPH• (206.18 µg ET/mg). We found through analysis of our results that our extracts have secondary metabolite (phenolic) levels. Which allows us to use these extracts as a source of antioxidants that play an important role in the prevention of diseases and the development of new natural molecules based on these active ingredients.

Keywords : *Bunium incrassatum*, antioxydants, flavonols, triterpènes, polyphenols, flavonoids, ABTS, DPPH, TAC, Reducing power.

Résumé

L'objectif de la présente étude est de valoriser différents extraits des graines de la plante *Bunium incrassatum* en déterminant la quantité des polyphénols, des flavonoïdes, flavonols et triterpènes et d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro*. L'extraction par macération nous a donné un extrait hydro-méthanolique avec un rendement de 15,18% et l'extrait aqueux qui a été préparé à partir la matière végétale résiduelle de l'hydrodistillation a montré un meilleur rendement estimé 16,45%. L'hydrodistillation des graines a donné une huile avec un rendement de 0,213%. L'analyse quantitative des métabolites secondaires montre que l'extrait hydro-méthanolique contient toujours la teneur la plus élevés en ces composés par rapport à l'extrait aqueux notamment les polyphénols totaux (28.403 µg EAG / mg d'extrait), flavonoïdes (3.472 µg EQ / mg d'extrait), flavonols (25.611 µg ER / mg d'extrait) et triterpènes (7,764 µg EAU/mg d'extrait). L'extrait hydro-méthanolique indique la meilleure activité antioxydante dans les tests utilisés pour ce but (pouvoir réducteur, TAC), tandis que les résultats du test du DPPH ont révélé que l'extrait aqueux a présenté la meilleure activité antiradicalaire contre DPPH• (206.18 µg ET / mg). Nous avons découvert à la suite de l'analyse de nos résultats que nos extraits présentent des teneurs en métabolites secondaires (composés phénoliques), ce qui nous permet d'utiliser ces extraits comme source d'antioxydants qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies et le développement de nouvelles molécules naturelles à base de ces principes actifs.

Mots clés : *Bunium incrassatum*, activité antioxydante, flavonols, triterpènes, polyphénols, flavonoides, ABTS, DPPH, TAC, Pouvoir réducteur.