



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence
..... /
.....

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Babahenini Linda

Le: lundi 25 juin 2018

Evaluation de l'activité antioxydante (*in vitro*) et anti-inflammatoire (*in vivo*) des différents fractions de la partie aérienne du *Bunium bulbocastanum* l.

Jury :

Mme.	Boujoujo Lamia	MAA	Université Mohamed Kheider Biskra	Président
M.	Deghima Amirouche	MAA	Université Mohamed Kheider Biskra	Rapporteur
M.	Dehimat Abdelouahab	MAA	Université Mohamed Kheider Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

A l'issue de ce travail, nous tenons à exprimer notre remerciement et nos profondes gratitudes avant tout :

A Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage, la force et la patience pour mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier particulièrement Mr. Deghima amirouche mon encadreur, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il m'a témoigné tout au long de cette étude.

Je Remercie les nombre de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail

Je remercie chaleureusement tous les membres du laboratoire de faculté, pour leur sympathie et leur disponibilité.

Remercie tous les travailleurs de la bibliothèque sur ce qu'ils ont données de l'aide, et à tous ceux qui contribué à atteindre ce modeste travaille de près ou de loin, même d'un bon mot.

Fixée. Remercie aussi tous mes collègues et la promotion 2018.

Mes remerciements vont également à tous mes enseignants, pour les informations et les aides au coures des années de mes études, surtout les enseignants du département de biologie.

« « Merci » »

Dédicace

Je dédie ce travail à mes très chers parents que dieu protège, qu'ils ont toujours là pour moi, et qui me donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

Ma mère KHADIDJA, c'est toi qui me nourris avec l'amour, la force et la patience pour continuer.

Et mon père

Mes très chers frères, Djamal, Nabil, Mohammed Saleh et Fares vous êtes mon joie et mon sourire.

Et mes très chères sœurs, Naima, Noura, Sara, et surtout

Ma petite sœur AMANI

Ma grand famille, sur tous et grands-parents que dieu les garde pour nous, oncles, tantes, cousins et cousines. Merci pour tous.

Et bien sûr A mes amies les plus proches

Linda . B

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Introduction I

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre 01: Présentation de la plante .

1.1 La famille <i>Apiaceae</i>	1
1.2 Le genre <i>Bunium</i>	1
1.3. L'espèce <i>Bunium bulbocastanum l</i>	1
1.3.1. Écologie	1
1.3.2. Classification	1
1.3.3. Usage traditionnelle	1

Chapitre 02 : Notions générale sur les métabolites secondaire.

2.1. Les métabolites secondaires	2
2.2. Les polyphénols	2
2.2.1 Classification des polyphénols	2
2.2.1.1 Les non flavonoïdes	3
2.2.1.2. Les flavonoïdes	3
2.2.1.3 Les tannins condensés	3
2.3. Les terpènes	4
2.4. Activités biologiques des polyphénols	4
2.5. Activités antioxydante des flavonoïdes	5

Chapitre 03 : les activités biologique étudiées .

3.1. Activité anti-oxydante	7
3.1.1. Les radicaux libres	7
3.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène	7
3.1.3. Sources de production des ERO	7
3.1.3.1. Sources endogènes	7
3.1.3.2. Sources exogènes	8

3.1.4. Systèmes antioxydants	8
3.1.4.1. Systèmes enzymatiques	8
3.1.4.2. Systèmes non enzymatique	8
3.1.5. Le stress oxydatif	9
3.1.5.1. Les maladies liées au stress oxydant	9
3.2. Activité anti-inflammatoires	10
Partie II : Partie expérimentale	
<u>Chapitre 04 : Matériel et méthodes.</u>	
4.1. Matériel	12
4.1.1. Matériel végétal	13
4.1.2. Matériel animal	13
4.2. Méthodes	13
4.2.1. Extraction et fractionnement	13
4.2.1.1. Extraction	13
4.2.1.2. Fractionnement	14
4.2.2. Calcul du rendement	16
4.2.2.1. Rendement d'extraction	16
4.2.2.2. Rendement de fractionnement	16
4.2.3. Dosage des métabolites secondaires	16
4.2.3.1. Dosage des Polyphénols totaux	16
4.2.3.2. Dosage des Flavonoïdes totaux	17
4.2.3.3. Dosage des Flavonols	18
4.2.3.4. Dosage des Triterpènes	18
4.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	19
4.2.4.1. Test de pouvoir réducteur de fer	19
4.2.4.2. Test de l'acide 2,2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS)	20
4.2.4.3. Test de Capacité antioxydante totale	21
4.2.5. Activité anti-inflammatoire	22
4.2.5.1. Répartition des animaux	22
4.2.5.2. Protocole	22
4.2.5.3. Expression des résultats	22
<u>Chapitre 05 : Résultats et discussions.</u>	
5.1. Rendement	24
5.1.1. Rendement d'extraction	24

5.1.2. Rendement du Fractionnement	25
5.2. Dosage des métabolites secondaire	26
5.2.1. Polyphénols	26
5.2.2. Flavonoïdes	28
5.2.3. flavonols	30
5.2.4. tri-terpènes	32
5.3. Evaluation de l'activité antioxydant :	34
5.3.1. Pouvoir réducteur de fer	34
5.3.2. Inhibition de radical cation ABTS+	37
5.3.3. Capacité antioxydante totale	39
5.4. Activité anti-inflammatoire :	41
Conclusion	44
Références Bibliographique	46

Liste des tableaux

Tableau 1 classification de <i>Bunium bulbocastanum</i> L, Selon (Delamarek et Decanddle, 1805)	2
--	---

Liste des figures

Figure 1 : les parties aériennes de <i>Bunium bulbocastanum</i> . (Taglait, bordj bouarreridj, Algérie)	1
Figure 2: Structure du noyau phénol (Sarni- Machado et cheynir, 2006)	2
Figure 3: structure des flavonoïdes, enchainement C6-C3-C6 (Isorez, 2007).....	3
Figure 4: Structure chimique des tannins condensés (Guignard, 1996)	4
Figure 5: Déséquilibre entre antioxydantes et pro-oxidantes (Andersen, J.k (2004)) ...	9
Figure 6: Groupes des souris Swiss Albinos.....	13
Figure 7: Protocole d'extraction et fractionnement (Markham, 1982)	15
Figure 8: Rendement d'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes de <i>Bunium bulbocastanum</i> L.	24
Figure 9: Rendement des fractions d'extrait brut des parties aériennes de <i>Bunium bulbocastanum</i> L.....	25
Figure 10: Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols....	26
Figure 11: Teneur des fractions en polyphénols totaux en μg EAG/mg Extrait sec pour la plante <i>Bunium bulbocastanum</i>	27
Figure 12: Droite d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	29
Figure 13: Teneur des fractions en flavonoïdes totaux en μg EQE/mg d'extrait sec de la plante.....	29
Figure 14: Droite d'étalonnage de la Rutine pour le dosage des flavonols.....	31
Figure 15: Teneur des fractions en flavonols totaux en μg ER/mg d'extrait sec	31
Figure 16: Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des tri-terpènes...	33
Figure 17: Teneur des extraits en Tri-terpènes en μg EAU/mg d'extrait sec.....	33
Figure 18: Pouvoir réducteur de la différente fraction de l'extrait hydro-méthanolique et des standards	34
Figure 19: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le pouvoir réducteur.....	35
Figure 20: Pouvoir réducteur des différentes fractions.....	36
Figure 21: Inhibition de radical libre ABTS+ en fonction de la concentration.	37
Figure 22: Inhibition de radical libre ABTS+ en fonction de la concentration des standards.	38
Figure 23: IC50 de différentes fractions et les standards effectués par le test ABTS .	38
Figure 24: Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante.....	40
Figure 25: La capacité antioxydante de différentes fractions et de ces standards.	40
Figure 26: Le pourcentage d'inhibition d'activité anti-inflammatoire et leur contrôle.	41

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ABTs+ : Acide 2-2-azinobis-3 éthylenzothiazoline-6- sulphonique

AC : Absorbance du Contrôle

AT : Absorbance du test- Absorbance du blanc de test

BHA : Butyl hydroxyanisole

CAT : Catalase

DEXA : Dexaméthasone.

EOR ; Espèces Réactives oxygénées

Fe₂₊ : Fer ferreux

Fe₃₊ : Fer ferrique

FRAP : Ferric Reducing antioxidant power assay

GPx : Glutathion peroxydase

I% : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : Concentration d'inhibition 50%

Méch : est la masse sèche de l'échantillon végétal en g

Mext : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

NO : Oxyde d'azote

NO₂ : Dioxyde d'azote

R(%) : Rendement en %

RL ; Radicaux libre

SOD : Superoxyde dismutase

TAC : Capacité Antioxydant totale (molibdate)

TPTZ : 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine

TQ : Thymoquinone

UV : *Ultra-violet*

µg EAG/mg d'extrait : µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait sec

µg EQ/mg d'extrait : µg Equivalent Quercitine /mg d'extrait sec

µg ER/mg d'extrait : µg Equivalent de Rutine / mg d'extrait sec

µg EAU/mg d'extrait : µg Equivalent Acide Ursolique /mg d'extrait sec

µg E vit C/mg d'extrait : µg Equivalent de vitamine C /mg d'extrait sec

XO : Xanthine oxydoréductase

Introduction

Introduction

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets néfastes dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces réactives oxygénées (ERO) (Haleng et al, 2007). Dans certaines situations, la production des Espèces Réactives oxygénées (ERO) augmente fortement, entraînant un stress oxydatif. En raison de leur capacité à endommager presque tous les types de molécules dans l'organisme, les ERO ont été impliqués dans un très grand nombre de pathologies aiguës tel que le cancer, le diabète, Alzheimer (Fontaine, 2007).

L'ensemble des dommages radicalaires semble pouvoir être limité, tout au moins en partie, par l'action de molécules dites antioxydantes. Celles-ci ont pour rôle d'empêcher les espèces réactive de l'oxygène (ERO) d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique. Il est habituel de dire qu'un bon antioxydante est un bon « capteur » de radicaux libres (Gardès-Albert, 2003).

Les plantes médicinales sont une source importante pour une grande variété d'antioxydantes naturels. Les plantes médicinales en raison de leur bonne performance thérapeutique et une faible toxicité ont été utilisées pour traiter les maladies humaines pour des milliers d'années. (GHABRIER J. Y, 2010)

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, antiinflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires (Bahorun, 1997).

L'objectif général de cette étude est d'évaluer les potentialités de l'activité antioxydantes de différentes fractions d'extrait hydro-méthanolique des partie aériennes de plante « *Bunium bulbocastanum l* », Et aussi testés la présence de l'activité anti-inflammatoire.

Dans Nos études ont commencé Par l'extraction des molécules bioactives, avec la détermination de la concentration de polyphénols totaux et flavonoïdes, flavonols, et tri-terpènes, comme il vise à tester les activités biologiques des différents extraits organiques surtout l'activité antioxydante de différents fractions par 3 tests antioxydantes de (FRAP, ABTs+, et Molibdate), puis testée l'activité anti-inflammatoire de fraction d'acétate d'éthyle sur les souris Lwiss albinos (*in vivo*).

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :

Présentation de la

plante

1.1 La famille *Apiaceae*

Cette famille se compose de 423 genres, principalement des herbes, des arbustes, des arbres (Koul A, Hamal L, 1979). La caractéristique la plus distinctive des *Apiaceae* est son inflorescence "ombelle", ce qui signifie "parasol". C'est un groupe de fleurs convexes ou à sommet plat dans lequel tous les pédicules proviennent du même sommet, La tige est souvent creuse dans la région inter nodale avec sécrétion canaux contenant des huiles étherées et des résines (Judd W, et al, 2002).

1.2 Le genre *Bunium*

Le genre *Bunium* contient environ 166 espèces, y compris *B. persicum*, *B. carum*, *B. bulbocastanum*, *B. copticum*, *B. flexuosum*, *B. elegans*, *B. cylendricum* et *B. chaerophylloides*, qui sont prévalent en Asie centrale, au Caucase, en Crimée et Europe (Vasilava M, et al, 1985).

1.3. L'espèce *Bunium bulbocastanum l*

Bunium bulbocastanum l, est une plante vivace de 30-70 cm, glabre et verte. De racine subglobuleuse, grosse (1-2 cm de diam.) et de tige dressée, grêle, finement sillonnée, rameuse, peu feuillée et aussi de feuilles bi-tripennatiséquées (ses feuilles sont deux ou trois fois ailées) (Delamarck et Decanddle, 1805).

1.3.1. Écologie :

Champs calcaires ou argileux, dans une grande partie de la France ; nul dans l'Ouest, rare dans la région méditerranéenne, Répartition Europe occidentale et centrale, et la Floraison entre Juin-juillet, la plante est représentée dans la Figure 01.



Figure 1 : les parties aériennes de *Bunium bulbocastanum l* (Taglait, bordj bouarreridj, Algérie).

1.3.2. Classification

La systématique de *Bunium bulbocastanum l*, est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Classification de *Bunium bulbocastanum l* selon (Delamarck et Decanddle, 1805).

Règne Végétal	
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium bulbocastanum l</i>

1.3.3. Usage traditionnelle

Les différentes parties de *Bunium bulbocastanum l* sont normalement utilisés comme épices culinaires pour des années pour améliorer la saveur. Son fruit a été utilisé pour la production d'aliments comestibles. (Clapham et al. 1962).

Médicalement, il est également utilisé en tant que un astringent, En gardant à l'esprit le de *Bunium bulbocastanum*, la présente étude avait pour objet de cribler les différentes parties pour voir si cela est vrais. Cette plante possède des Propriétés biologiques/pharmacologiques, c'est à dire antibactérienne, antifongique, phytotoxique et hémagglutinante (Ahmed et al. 2014).

Chapitre 2 : Notions générales sur les métabolites secondaires

2.1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (BOUDJOUREF 2011). Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann 2007). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge, 2002 ; Abderrazak, 2007).

2.2. Les polyphénols

Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Visioli et al., 2000).

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : ether, ester, hétéroside (Bruneton, 1999), sa structure présentée dans la Figure 2.

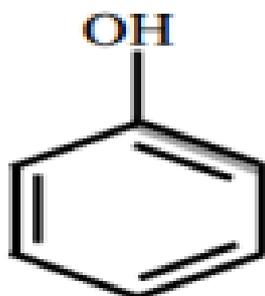


Figure 2: Structure du noyau phénol (Bruneton., 1999).

2.2.1 Classification des polyphénols

Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes : Les non flavonoïdes dont les principaux composés sont : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines et les coumarines (Hoffman, 2003), et les flavonoïdes, dont on caractérise principalement : les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols (Pinacemail et al., 2007).

2.2.1.1 Les non flavonoïdes

2.2.1.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques (Chanforan, 2010).

2.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005). Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base : deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (Tapas et al., 2008).sa structure présentée dans la Figure 3.

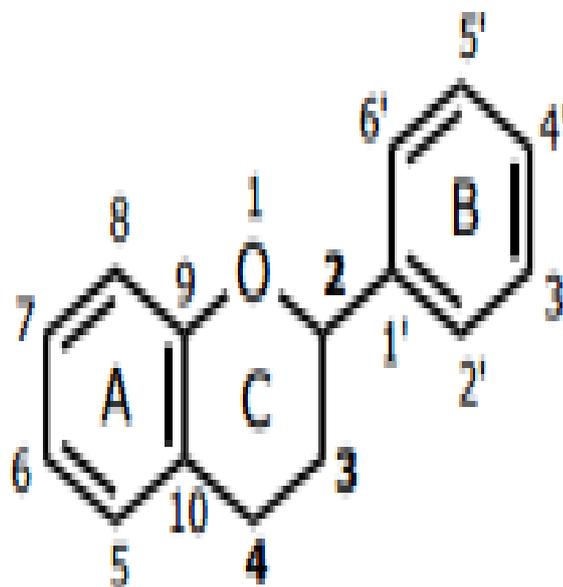


Figure 3: structure des flavonoïdes, enchainement C6-C3-C6 (Isorez, 2007).

2.2.1.3 Les tannins condensés

Les tannins sont des substances poly-phénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. Ces

substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. On distingue : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Roux et Catier, 2007), sa structure de base présentée dans la figure 04.

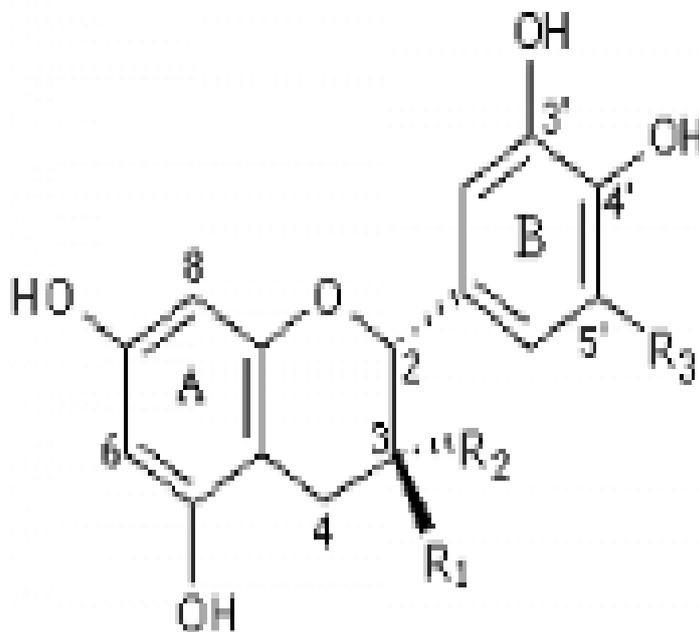


Figure 4: Structure chimique des tanins condensés (Guignard, 1996).

2.3. Les terpènes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une unité simple à cinq atomes de carbone nommée isoprène. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne, ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonction comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (Hopkins, 2003).

2.4. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques, ils interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures Mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Baharun, 1997). Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (Babar et al, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh et al., 2008) et antioxydants (Gomez et al., 2006).

2.5. Activités antioxydante des flavonoïdes

Ces dernières années , une importance particulière a été accordée aux flavonoïdes grâce à leurs propriétés antioxydantes qui sont attribuées à : leur capacité de piéger directement les radicaux libres , de chélateur les ions métalliques impliqués dans la production des EOR via les réactions Fenton et Haber-Weiss , d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases , d'activer les enzymes antioxydantes et de réduire les radicaux α -tocophéryl (Coetelle 2001 ;Lin et Weng .,2006 ;Heim et al., 2002).

Chapitre 3 : Les activités biologiques étudiées

3.1. Activité anti-oxydante

3.1.1. Les radicaux libres

Il s'agit des espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leurs environnements un électron pour s'apparier (Jadot, 1994). Ils sont généralement de forme particulière instable se sont des atomes, ou des groupes d'atomes, qui possèdent sur sa couche la plus externe, un ou plusieurs électrons célibataires (Atawodi, 2004), Ils sont produit quotidiennement par l'organisme et nécessaire à des mécanismes vitaux (Pincemail et al., 1999), mais ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent des dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques (Favier, 2003).

3.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (HO^{\bullet}), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxyde d'azote ($ONOO^-$) (Jacques et Andre, 2004 ; Gutteridge, 1993).

3.1.3. Sources de production des ERO

Les ERO sont produites par différentes sources tant endogènes qu'exogènes

3.1.3.1. Sources endogènes

La xanthine oxydoréductase (XO) joue un rôle important dans la production des ERO, particulièrement $O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2 (Pacher et al., 2006), XO est une enzyme qui utilise l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électrons en produisant l'anion superoxyde au cours de la réaction d'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Harrison, 2004).

La mitochondrie est le siège majoritaire de la synthèse des radicaux libres. Durant la respiration, quatre électrons sont ajoutés à l'oxygène par la chaîne respiratoire, cependant l'oxygène peut être réduit en formant des espèces réactives de l'oxygène telles que $O_2^{\bullet-}$ et $^{\bullet}OH$ (Finaud et al., 2006).

3.1.3.2. Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène.

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes et les substances toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels), sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (Hadi, 2004).

3.1.4. Systèmes antioxydants

Le contrôle de des ERO est généralement assuré par des systèmes antioxydantes. Une antioxydante peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Ladoh yemeda et al., 2014).

Le corps humain est équipé d'une variété d'antioxydantes qui servent à contrebalancer l'effet des oxydants. À toutes fins pratiques, ceux-ci peuvent être divisés en 2 catégories : enzymatique et non enzymatique (Birben et al., 2012).

3.1.4.1. Systèmes enzymatiques

Des enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), et catalase (CAT) participent à l'élimination des ERO (Fathy Et Drees, 2016).

3.1.4.2. Systèmes non enzymatique

Il est représenté par l'acide ascorbique (vitamine C), l' α -tocophérol (vitamine E), le glutathion (GSH), les caroténoïdes, les flavonoïdes et d'autres antioxydants (Valko et al., 2007).

A. La vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble, il protège les autres composés de l'oxydation (l'oxydation des LDL) (Padayatty et al., 2003). Les principales sources de

vitamine C sont des fruits (en particulier les baies) et les légumes verts (Pelli et Ily, 2003).

3.1.5. Le stress oxydatif

En quantité modérée, les RLs sont des éléments indispensables à la vie, car ils remplissent de nombreuses fonctions physiologiques au cours de la croissance ou de la défense de l'organisme (Belaïch et Boujraf, 2016). Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants (figure 6) est équilibrée, si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une superproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydatif » (Favier, 2003).

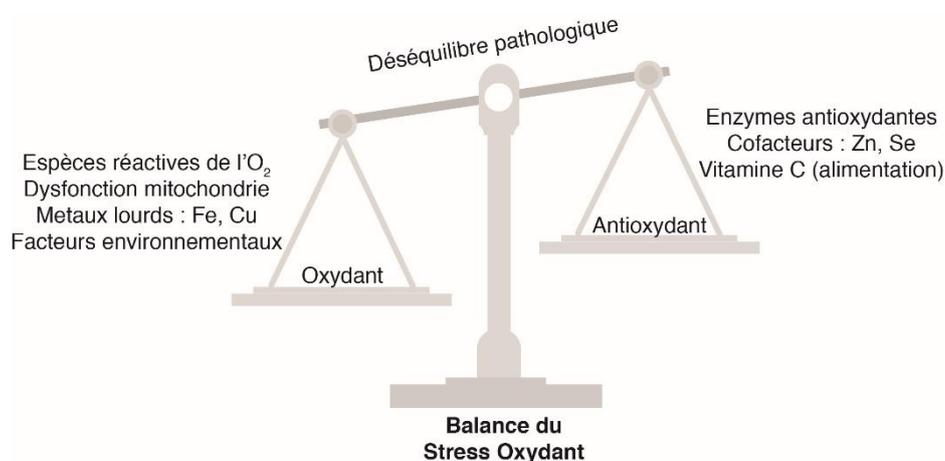


Figure 5: Déséquilibre entre antioxydantes et pro-oxidantes (Andersen, J.k (2004))

3.1.5.1. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est la principale cause initiale de plusieurs maladies. C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Bidie et al., 2001). Les radicaux libres sont également impliqués dans le développement de nombreuses pathologies telles que l'obésité, le cancer, l'inflammation, l'athérosclérose et les maladies dégénératives (Sarr et al., 2015). La plupart des maladies induites par le stress oxydatif apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Favier, 2003).

3.2. Activité anti-inflammatoires

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (infection, blessure (agression mécanique), etc.). Elle a pour rôle essentiel l'élimination de l'agent pathogène et la réparation du tissu lésé.

L'inflammation se manifeste par quatre signes cardinaux (la rougeur, l'œdème, la chaleur, la douleur) résultant d'une augmentation du flux sanguin, d'une augmentation de la perméabilité capillaire permettant aux compléments, aux anticorps et aux cytokines de franchir la barrière endothéliale et de la migration des leucocytes vers le tissu lésé pour une réparation de la lésion (Delarue J, 2001)

La réponse inflammatoire implique de nombreux enzymes parmi lesquels les lipoxgénases et les cycloxygénases (COX 1 et COX 2) qui synthétisent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Bourkhiss M et al, 2010)

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles et al., 2010).

Pour cette raison, il est impérieux d'orienter la recherche de nouveaux agents thérapeutiques anti-inflammatoires vers les plantes médicinales qui constituent une source potentielle de molécules naturelles anti-inflammatoires, L'existence de recettes de la médecine traditionnelle qui se sont révélées positives pour le traitement des pathologies inflammatoires nous amène à nous intéresser à une espèce végétale d'origine tropicale. (sy G, wélé A, Ndiaye M et al, 2008)

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et Méthodes

4.1. Matériels

4.1.1. Matériel végétal

La plante *Bunium bulbocastanum* L, a été récoltée durant le moi mai 2017, dans la région de Taglait de wilaya de bordj Bou Arreridj, Algérie.

Nous n'avons pris en considération que la partie aérienne de la plante, Le matériel végétal a été lavé et séché à l'obscurité dans un endroit bien aéré, à la température ambiante.

4.1.2. Matériel animal

L'étude in vivo a été réalisée sur 30 souris Swiss Albinos males (Figure 6) dont le poids varie entre 20 et 28 g, ils ont été obtenus à partir de l'université el Bachir el Ibrahimi de bordj Bou Arreridj, Algérie. Les animaux sont hébergés dans des cages en groupes de 5 avec accès libre à l'eau et l'aliment standard (Entreprise de fabrication d'aliment de bétail et Volaille, Bordj Bou Arreridj) jusqu'à leurs utilisation.



Figure 6: Groupes des souris Swiss Albinos

4.2. Méthodes

4.2.1. Extraction et fractionnement

4.2.1.1. Extraction

L'extraction est réalisée selon la méthode de Markham (1982), Elle est basée sur le degré de Solubilité des molécules bioactives dans les solvants organiques, Cette méthode comprend deux grandes étapes :

La première phase d'extraction se fait avec le méthanol 85%, après broyage des parties aériennes de la plante « *Bunium bulbocastanum l* », 100g a été soumise à une macération avec 500 ml de Méthanol 85% à température ambiante et sous agitation pendant 24h, après 24h L'extrait récupéré est filtré

La deuxième phase d'extraction se fait avec le méthanol 50%, le culot récupéré par la 1ère extraction a été soumise à une 2eme macération avec 500ml de méthanol 50 % à température ambiante et sous agitation pendant 24h, après 24h L'extrait récupéré est filtré.

Les filtrats ont été évaporés dans un rota vapeur (évaporateur rotatif) à température douces (40 C°), puis sécher l'extrait concentrée à l'étuve pour donner l'extrait hydro-méthanolique brut.

4.2.1.2. Fractionnement

L'extrait brut hydro-méthanolique a subi un fractionnement par une série d'extractions liquide/liquide avec des solvants à polarité croissante de façon successives (Hexane, Chloroforme, Acétate d'éthyle, butanol), on commence le fractionnement par l'hexane jusqu'à épuisement totale. On récupère une phase organique (extrait de hexane) et une phase aqueuse, qui est ensuite épuisée par le solvant suivant est ainsi de suite. A la dernière extraction on considère la fraction aqueuse comme extrait aqueux. Les différents extraits doivent conservés loin à la lumière à température ambiante (Markham, 1982).

Le protocole d'extraction et fractionnement est présente dans la figure 07.

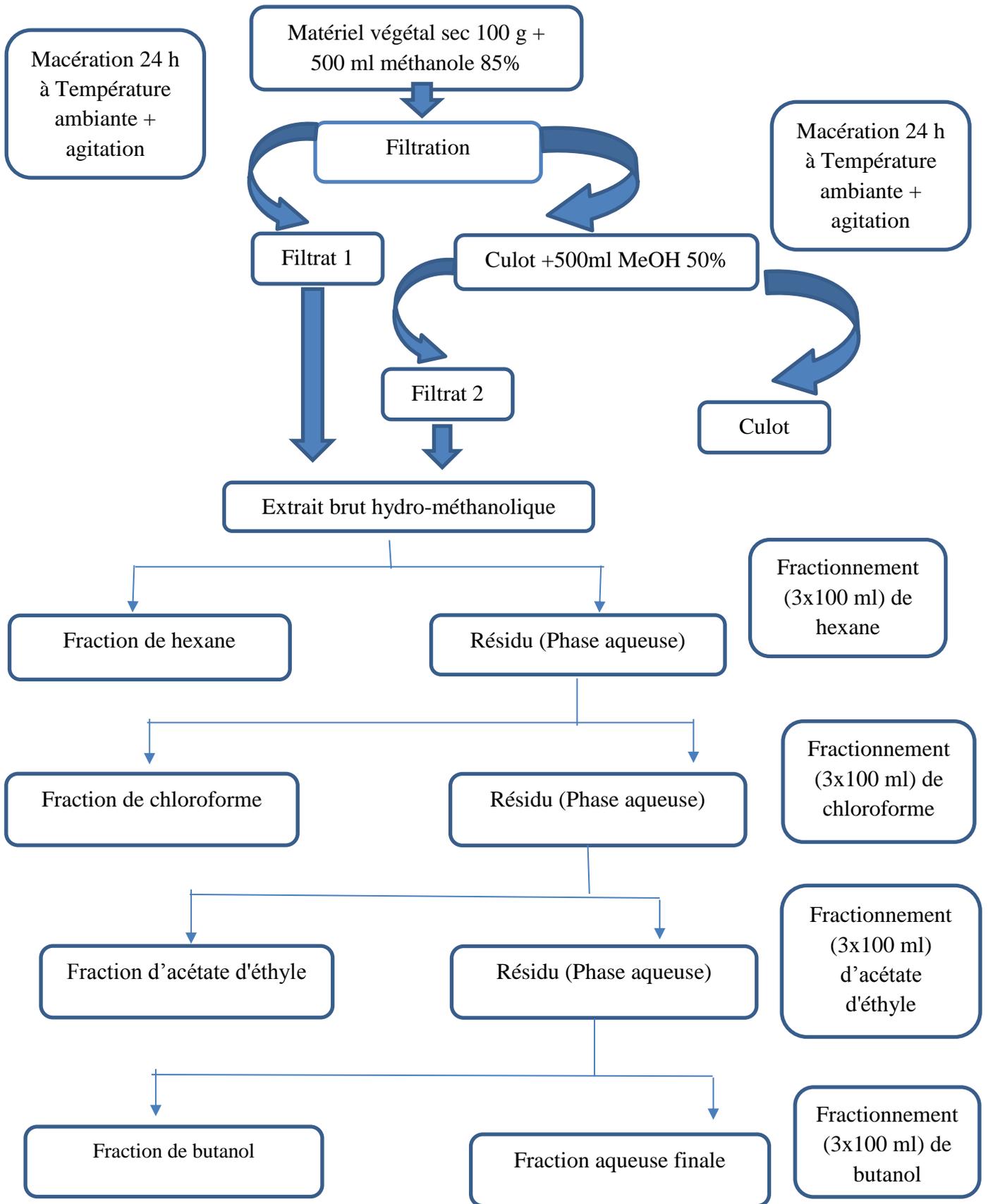


Figure 7: Protocole d'extraction et fractionnement (Markham, 1982).

4.2.2. Calcul du rendement

4.2.2.1. Rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Les rendements des extractions sont calculés suivants la formule ci-dessous :

$$\text{Rdt \%} = M \text{ extrait} / M \text{ échantillon} * 100$$

Avec : M extrait = masse de l'extrait en gramme.

M échantillon = masse de l'échantillon en gramme (Boubekri, 2014).

4.2.2.2. Rendement de fractionnement

Ce rendement est calculé *via* l'équation :

$$\text{Rdt \%} = M f / M E b * 100$$

Avec : M f = masse de chaque fraction en gramme.

M E b = masse d'extrait brut (hydro-méthanolique) en gramme (Boubekri, 2014).

4.2.3. Dosage des métabolites secondaires

4.2.3.1. Dosage des Polyphénols totaux

A. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu, ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin Ciocalteu en un complexe ayant la couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

B. Mode opératoire

Dans des Eppendorf mélanger : 100 µl de solution d'extrait, 500µl du réactif de Folin Ciocalteu à 10 % (v /v), puis le mélange est incubé pendant 4 min, on ajout ensuite

400µl de NaCO₃ à 7.5% (p/v), puis le mélange est soumis à une autre incubation pendant 2h à l'obscurité. La lecture se fait dans la longueur d'onde 765 nm.

Le blanc de test contient : 100µl de méthanol, 500µl de folin et 400µl de NaCO₃. Pour chaque extrait, le test est réalisé en triplicata.

C. Expression des résultats

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent en acide gallique par 1 milligramme d'extraits sec (µg EAG/mg d'extrait).

4.2.3.2. Dosage des Flavonoïdes totaux

A. Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (Djeridane *et al.* 2006) avec le trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe dans le visible à 430 nm.

B. Mode opératoire

Dans un Eppendorf : on mélange 300µl de solution d'extrait avec 300µl AlCl₃ , puis on incube pendant 15 min, la lecture se fait à la longueur d'onde 430 nm.

Le blanc : 1ml d'extrait et 1ml de méthanol. Blanc de test : extrait dilué.

C. Expression des résultats

Les concentrations de flavonoïdes totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations de quercétine (10- 45µg/ml) dans le méthanol, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en quercétine par 1 milligramme d'extrait sec (µg EQE/mg d'extrait).

4.2.3.3. Flavonols

A. Principe

La teneur en flavonols dans les extraits a été déterminée par une méthode adaptée par (Mbaebie B et *al.*, 2012). Le trichlorure d'aluminium et l'acétate de sodium forment un complexe de couleur jaune avec les flavonols mesurable dans 440 nm.

B. Mode opératoire

Dans un eppendorf on mélange :

250µl de solution d'extrait, avec 250µl d'AlCl₃ et on ajout 375µl d'acétate de sodium. Le mélange va être incubé pendant 2.5h à 25°C à l'obscurité. Lecture des Abs se fait à 440 nm.

Blanc : 250µl extrait +625µl méthanol+ 375µl d'acétate de sodium.

C. Expression des résultats

Les concentrations des flavonols des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations de Rutine dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en Rutine par 1 milligramme de d'extrait sec (µg ER/mg d'extrait).

4.2.3.4. Dosage des Triterpènes

A. Principe

Le dosage des tri-terpènes et s'effectuer selon la méthode de (J. P. Fan et C. H. He., 2006)

Le principe de base de cette méthode est la réaction des triterpènes oxydés avec la vanilline, où l'acide sulfurique est utilisé comme oxydant. Les sapogénines stéroïdiennes avec ou sans double liaison en C-5, les sapogénines triterpénoïdes et les acides stéroliques et biliaires qui ont un groupe OH en position C-3 réagissent avec la vanilline en milieu acide pour donner des chromogènes avec des maxima d'absorbance à 548 nm, selon la nature des saponines.

B. Mode opératoire

Dans un eppendorf on mélange

20µl d'extrait sont mélangés avec 30µl vanilline, on ajout 100µl acide perchlorique, puis on incube le mélange à l'obscurité pendant 45 min dans un bain marie dont la température est 60 °C, après le mélange est refroidit dans un bain glacé pour et on ajoute 450µl acide acétique, la lecture des absorbances est réalisée à 548 nm

Blanc : l'extrait est remplacé par le méthanol.

C. Expression des résultats

Les concentrations des tri-terpènes des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide Ursolique dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en acide Ursolique par 1 milligramme de d'extrait sec (µg EAU/mg d'extrait sec).

4.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

De nombreuses méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits. La plupart des méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé 3 tests chimiques : le test Ferric Reducing Antioxydant Power assay (FRAP) qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer, le test à l'acide 2,2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS), et le test de Capacité antioxydante totale.

4.2.4.1. Test de pouvoir réducteur FRAP

A. Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir anti-radicalaire. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe_{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe_{2+}). En effet le Fe_{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006)

B. Mode opératoire

Dans un eppendorf on mélange :

225µl d'extrait sont mélangés avec 225µl de tampon phosphate, on ajout 225µl de $K_3Fe(CN)_6$, avec agitation puis on incube le mélange à l'obscurité pendant 20 min dans un bain marie dont la température est 50 °C, après on ajouter immédiatement 225 µl de TCA. Et directement centrifuger le mélange pendant 10 min à 700 TPM. Puis on mélanger 375µl d'H₂O distillé avec 375µl du surnageant et on ajoute 75µl de FeCl₃, la lecture des absorbances est réalisée à 700 nm. Pour le blanc, l'extrait est remplacé par du méthanol.

C. Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions des extraits étudiés.

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées. Pour chaque concentration, une absorbance est mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

Les résultats sont obtenus en µg EC/mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascobique, et avec la quercetine et l'acide gallique comme standards.

4.2.4.2. Test de l'acide 2,2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS)

A. Principe

L'ABTS est un radical cation caractérisé par sa couleur bleu vert foncé qui va disparaître après la réduction par un antioxydant donneur des protons (hydrogène). Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. Plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène considéré comme un antioxydant fort. La perte de couleur peut être suivie par la mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 734nm. (LI *et al.*, 2015)

B. Mode opératoire

. Préparation de réactif

Suivant le protocole décrit par Aazza et *al.* (2011), le radical ABTS•+ est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈, 2.45mM), utilisé comme oxydant. Ce mélange est laissé pendant au moins 16h à l'obscurité puis dilue avec l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.700 à la longueur d'onde de 734 nm.

. Réaction

Dans un tube on mélange : 50µl d'extrait avec 950µl d'ABTS, on les incube pendant 7 min, et la lecture se faite à 700 nm, contre un blanc contient le réactif et le méthanol.

C. Expression des résultats

Pourcentage inhibition d'ABTS = (Absorbance de contrôle – Absorbance de l'échantillon/Absorbance de contrôle) ×100.

4.2.4.3. Le test de Capacité antioxydante totale

A. Principe

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte (Prieto et al. 1999).

B. Mode Opérateur

Une aliquote de 0,1 ml d'extrait est combinée à 1 ml de solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 mn. Après un repos de 6 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait. Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en µg d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E). Blanc : l'extrait est remplacé par le méthanol.

C. Expression des résultats

Les résultats sont obtenus en µg E Vit C/ mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Absorbances en fonction de la concentration).

4.2.5. Activité anti-inflammatoire

Pour étudier l'activité anti-inflammatoire (*in vivo*) de la plante testée, on utilise le test Œdème d'oreille induit par le xylène selon la méthode (Shang et al., 2011).

4.2.5.1. Répartition des animaux

Des souris mâle swiss albinos de 20–29 g sont réparties en lots de 6 souris dans des cages standards. Avant l'expérimentation Les souris testées sont privées de tout nutriment pendant 24h.

4.2.5.2. Protocole

Le traitement oral de souris :

Groupe 1 : traitement avec solution saline normale (contrôle, 5 ml / kg) (10 ml / kg).

Groupe 2 : traitement avec dexaméthasone (1 mg / kg).

Groupe 3 : traitement avec l'extrait (d'acétate d'éthyle) 150 mg / kg.

Groupe 4 : traitement avec l'extrait (d'acétate d'éthyle) 300 mg / kg.

Après 1h du traitement oral des souris un œdème a été induit chez les souris en appliquant un Goutte de xylène (30 µl) à la surface intérieure et postérieure de l'oreille droite, 1h après l'application de l'irritant, les animaux ont été tués sous anesthésie à l'éther et les deux oreilles sont coupées, Les sections circulaires ont été prises à l'aide d'un porteur de liège Avec un diamètre de 8.0 mm, et pesé.

4.2.5.3. Expression des résultats

L'augmentation de poids causée par le xylène a été estimée en soustrayant le poids de l'oreille gauche non traitée de celle des sections d'oreille droite traitées et le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\Delta t - \Delta d) / \Delta t] * 100$$

Δt = moyenne de différence entre oreille droite et gauche du lots témoin

Δd = moyenne de différence entre oreille droite et gauche du lots traité

Les résultats présentés sous forme d'un histogramme avec le control.

Chapitre 5 : Résultats et discussions

5.1. Rendement

5.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement a été déterminé après l'extraction des parties aériennes de *Bunium bulbocastanum l*, Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique est 19.6 % de la matière sèche, le rendement présente dans la **Figure8**.

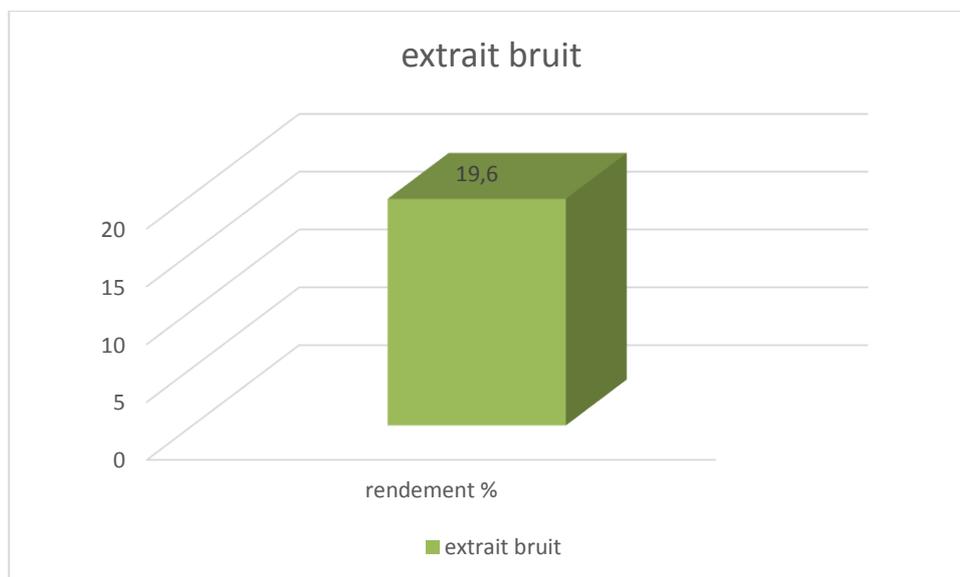


Figure 8: Rendement d'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes de *Bunium bulbocastanum l*.

Dans l'étude d'Ali Mandegary et ses collaborateurs (2012), un rendement de 27.5% est obtenu d'extrait méthanolique de l'espèce *Bunium persicum* du même genre que notre espèce, alors que notre résultat de 19.6% est inférieur à ceux obtenues par ces études mais restent comparables à eux.

D'une manière générale, Le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, la richesse de chaque espèce en métabolites et dépend aussi du type de solvant utilisé, de sa polarité et de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction (Daoudi et al. 2015), La région et la période de la récolte sont aussi des facteurs déterminants du rendement (Keskes et al, 2014).

5.1.2. Rendement du Fractionnement :

Les rendements des fractions déterminé après le fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique par des solvants a différentes polarités (Hexane, Chloroforme, A. éthyle et Butanol), les résultats présente dans la figure 9.

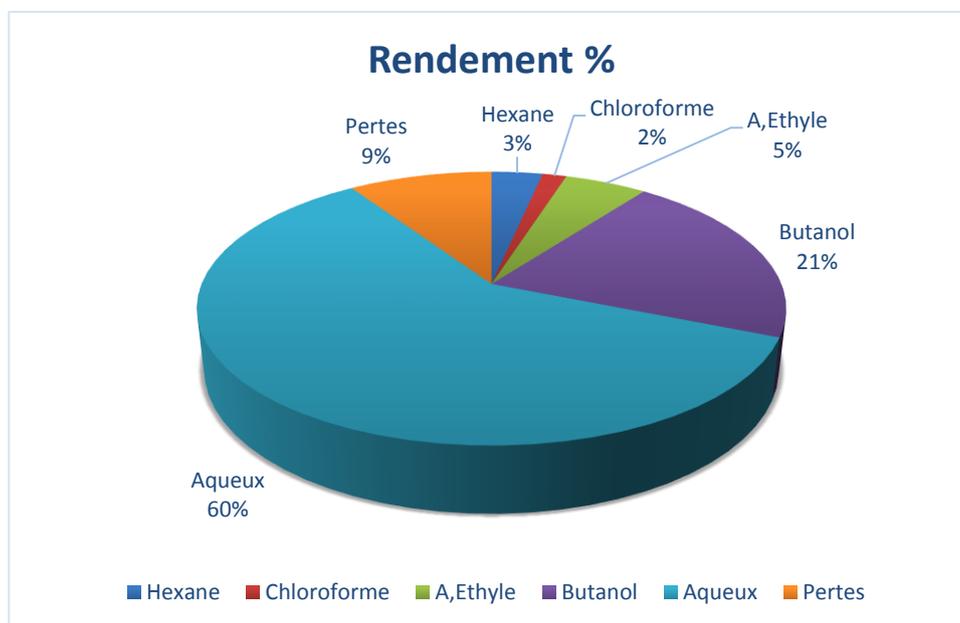


Figure 9: Rendement des fractions d'extrait brut des parties aériennes de *Bunium bulbocastanum l*

La fraction aqueuse représente, la fraction la plus importante de l'extrait hydro-méthanolique avec un rendement de 60 %, suivie par la fraction butanol qui représente 21%, et la fraction de l'acétate d'éthyle de 5% puis la fraction d'hexane avec 3% et en fine chloroforme avec 2% seulement.

La variation du rendement d'extraction des mêmes espèces végétales en ce qui concerne le solvant pourrait être expliqué par la solubilité différentielle des composés chimiques dans différents solvant. Un certain nombre d'études liées à l'extraction de composés chimiques de plantes avec différents solvants a constaté une forte variation du rendement (Teugwa et al., 2013).

Dans autre étude de Khaksari M et *al* (2014) le rendement de *Bunium persicum*, pour la fraction aqueuse d'une masse de 8mg, cette masse est faibles que notre masse de 11.65mg, mais reste comparable.

Il difficile de comparer nos rendement avec les rendements obtenus par d'autres études car les rendements différents considérablement selon l'espèce végétale, la partie de la plante utilisées (tiges, racines, feuilles et fruit) et du type de solvant utilisé pour l'extraction. Cela est dû à des facteurs édaphiques ou bien intrinsèque génétique propre à chaque espèce végétale (Teugwa et al., 2013)

5.2. Dosage des métabolites secondaire

5.2.1. Polyphénols :

L'estimation de la teneur en polyphénols se fait selon la méthode de Singleton *et* Rossi (1965) par l'utilisation de Réactif de Folin-Ciocalteu.

La droite d'étalonnage a été tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (5 à 200 µg/ml). Les essais ont été réalisés en triple et la concentration des composés phéniques totales était déterminée à partir de la droite d'étalonnage de la figure 10.

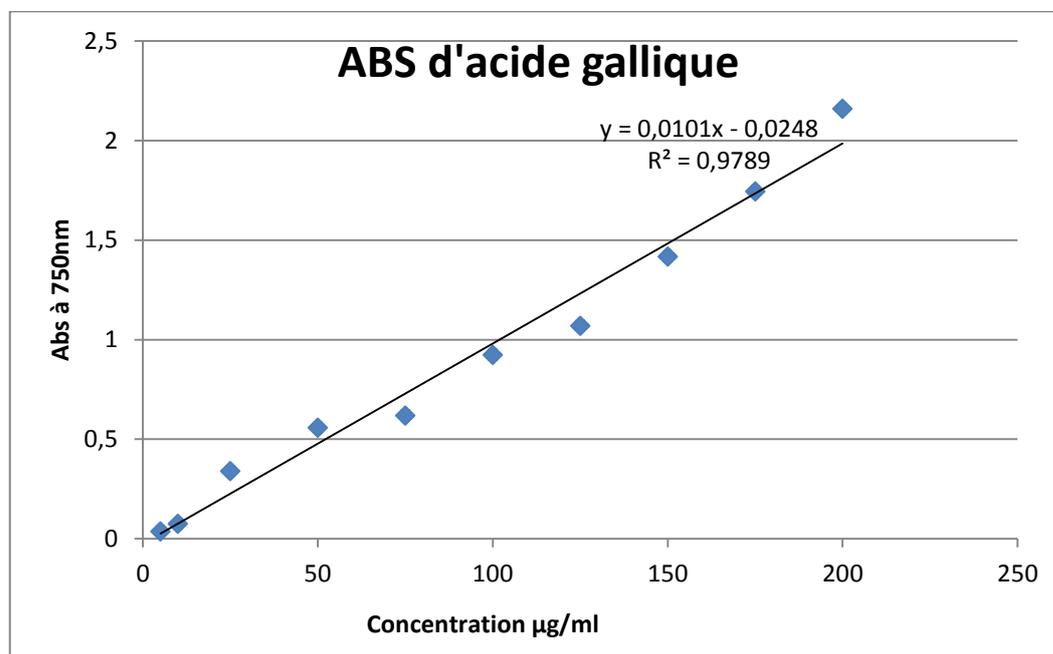


Figure 10: Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

La quantité des polyphénols totaux dans les extraits est exprimée en microgramme équivalent d'acide Gallique par 1 mg d'extrait sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 11.

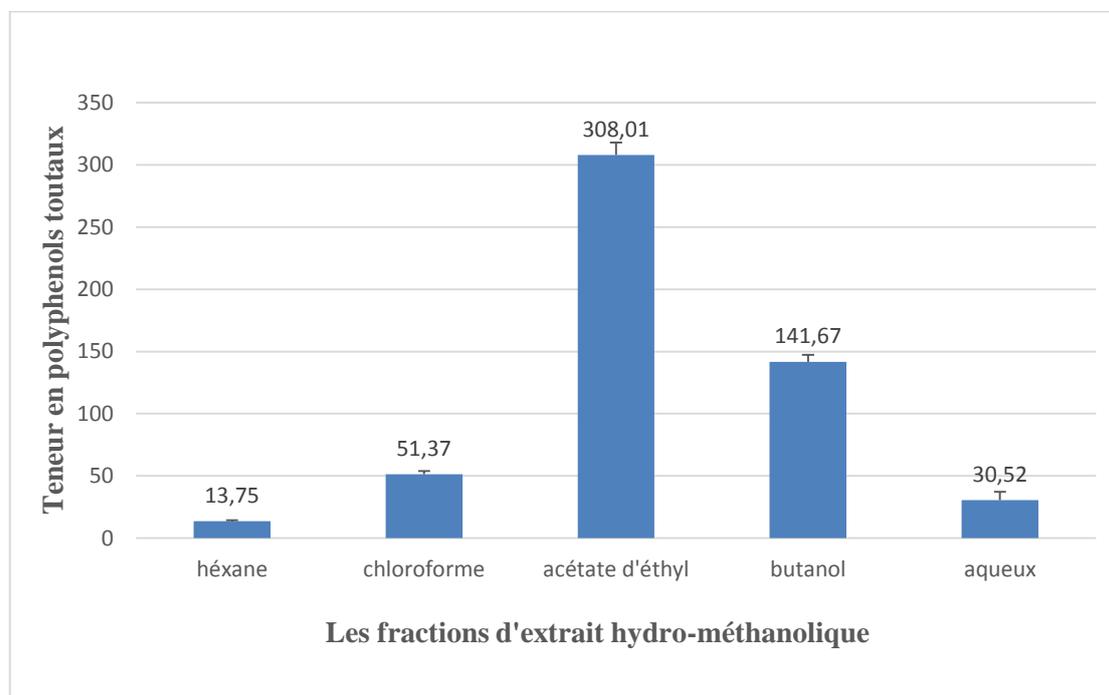


Figure 11: Teneur des fractions en polyphénols totaux en µg EAG/mg Extrait sec pour la plante *Bunium bulbocastanum*.

Les résultats de la figure montrent que, la fraction de l'Acétate d'éthyle est la plus riche en polyphénols totaux, et contient une teneur forte par rapport aux autres extraits avec $308.01 \pm 9,93$ µg EAG/mg ES, Suivie de la fraction butanol avec $141.67 \pm 5,78$ µg EAG/mg ES.

Puis le chloroforme avec $51.37 \pm 2,52$ µg EAG/mg, Suivie de la fraction aqueux avec $30.52 \pm 6,61$ µg EAG/mg et en fin la fraction d'hexane avec $13.75 \pm 0,56$ µg EAG/mg ES.

On remarque que l'extrait d'Acétate d'éthyle est supérieur aux autres extraits,

Les résultats d'étude de Seri, A., et ses collaborateurs (2017), montré que la teneur en composés phénoliques totaux du *Bunium persicum* de $122,41$ µg d'équivalents d'acide galliques par milligramme d'extrait séché. Cette résultat est inférieur à la fraction la plus riche en polyphénols (acétate d'éthyle), et presque similaire à la fraction du butanol, mais il est supérieur aux autres fractions (hexane, chloroforme, et aqueux).

Dans autre étude de Saeed, N, et ses collaborateurs (2012), les résultats montrent que le teneur des polyphénols de la plante *Torilis leptophylla* de même famille de nos plantes (*Apeaceae*), de $121.9 \pm 3.1 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'extrait. Ce teneur est inferieur a la fraction la plus riche en polyphénols (acétate d'éthyle), et similaire a la fraction de butanol, mais il est supérieur aux les autres fractions.

La différence entre la teneur en polyphénols des différentes fractions s'explique par la différence en solubilité de ces composés dans les solvants extracteurs choisis, sachant que les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (Macheix *et al.* 2005).

Le teneur des composées phénoliques différents considérablement selon l'espèce végétale, la partie de la plante utilisées (tiges, racines, feuilles et fruit), la richesse en métabolite secondaire et du type de solvant utilisé pour l'extraction (Teugwa *et al.*, 2013).

5.2.2. Dosage des Flavonoïdes totaux

L'estimation des teneurs en Flavonoïdes se fait selon la méthode de chélation de l'Aluminium (Djeridane *et al.* 2006).

La droite d'étalonnage a été tracée en utilisant la quercétine comme standard (5 à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Des essais ont été réalisés en triplicata el la concentration des flavonoïdes totaux était déterminée à partir de la droite d'étalonnage de la Figure 12.

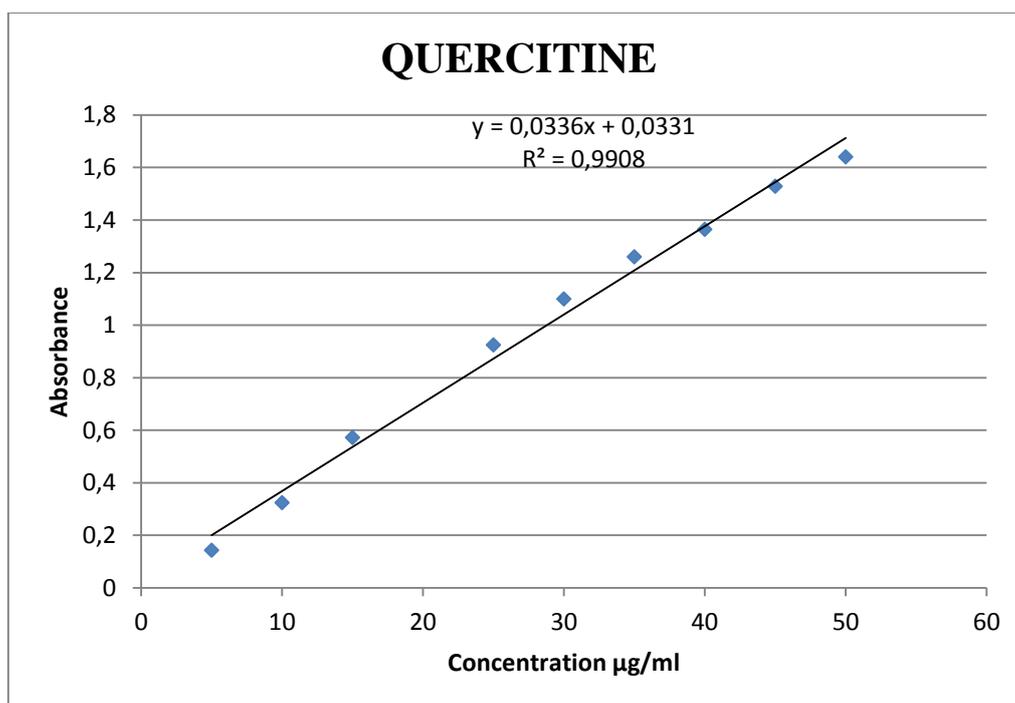


Figure 12: Droite d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La quantité des Flavonoïdes totaux dans l'extrait hydro-méthanolique et ces différentes fractions est exprimée en microgramme équivalant quercétine par 1 milligramme d'extrait sec. Les Résultats obtenus sont présentés dans la figure 13.

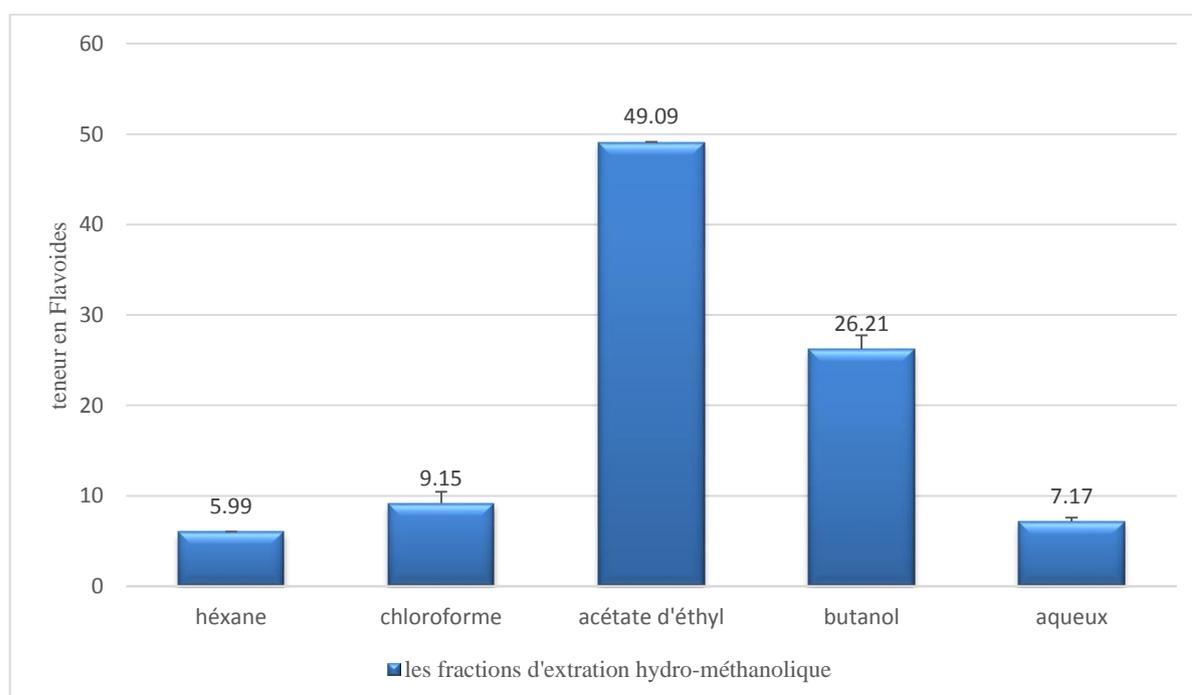


Figure 13: Teneur des fractions en flavonoïdes totaux en µg EQE/mg d'extrait sec de la plante.

Les résultats de cette figure montrent que la fraction d'Acétate d'éthyle est la plus riche en flavonoïdes totaux et contient une teneur $49.09 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg ES}$ suivie par la fraction butanol avec $26.21 \pm 1,51 \mu\text{g EQ/mg}$ suivie par la fraction chloroforme avec $9.15 \pm 1,28 \mu\text{g EQ/mg ES}$, puis la fraction aqueux avec $7.18 \pm 0,40 \mu\text{g EQ/mg ES}$ et en fin la fraction d'hexane avec $5.99 \pm 0,04 \mu\text{g EQ/mg ES}$.

On a remarqué que l'extrait d'Acétate d'éthyle est supérieur aux autres extraits.

Dans autre étude de Saeed, N, et ses collaborateurs (2012), les résultats montrent que le teneur des flavonoïdes de la plante *Torilis leptophylla* de même famille de nos plantes (*Apeaceae*), de $60.9 \pm 2.2 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait. Ce teneur est supérieur à nos résultats.

le facteur principal influençant sur la solubilité de la flavonoïde est sa capacité à former des liaisons hydrogènes avec le solvant, Les flavonoïdes sont des substance moins soluble dans l'eau et dans des solvants très apolaires, mais soluble dans les solvant polaire (alcools) (Calias et al., 1996).

5.2.3. Dosage des flavonols

La détermination de la teneur en Flavonols des différents extraits est estimée par la méthode de (Mbaebie B et al., 2012).

La teneur en flavonols a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, la rutine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en μg équivalent rutine par mg d'extrait ($\mu\text{g ER/mg}$ d'extrait). La courbe d'étalonnage présente dans la Figure 14.

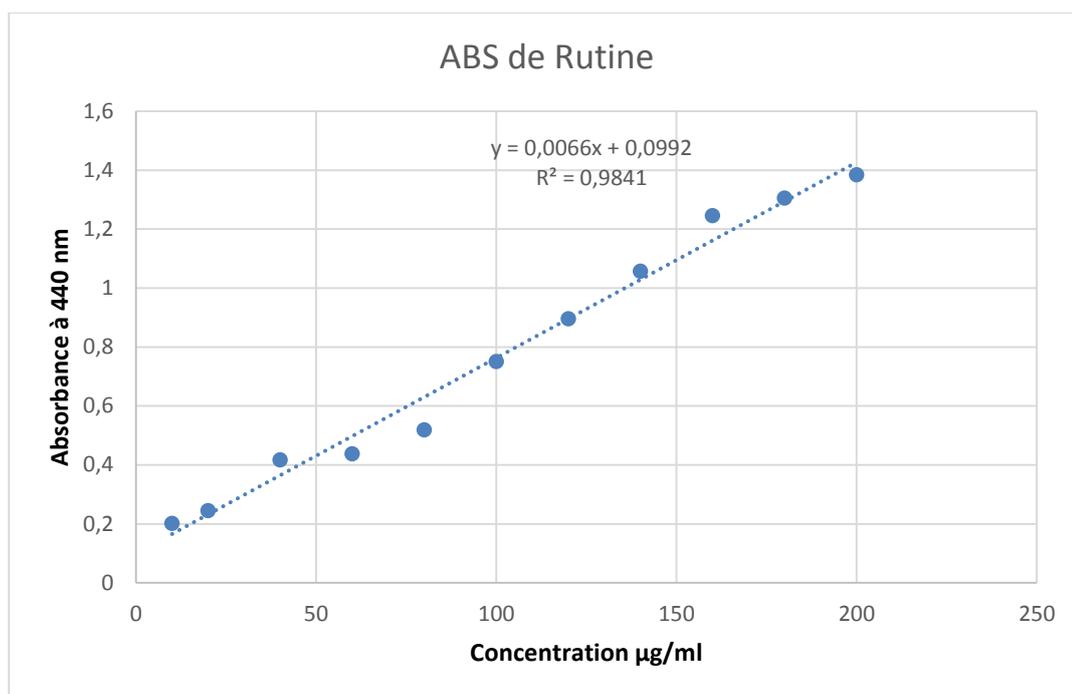


Figure 14: Droite d'étalonnage de la Rutine pour le dosage des flavonols.

La quantité des flavonols a été rapportée en microgramme d'équivalent de rutine par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g ER}/\text{mg}$ d'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 15.

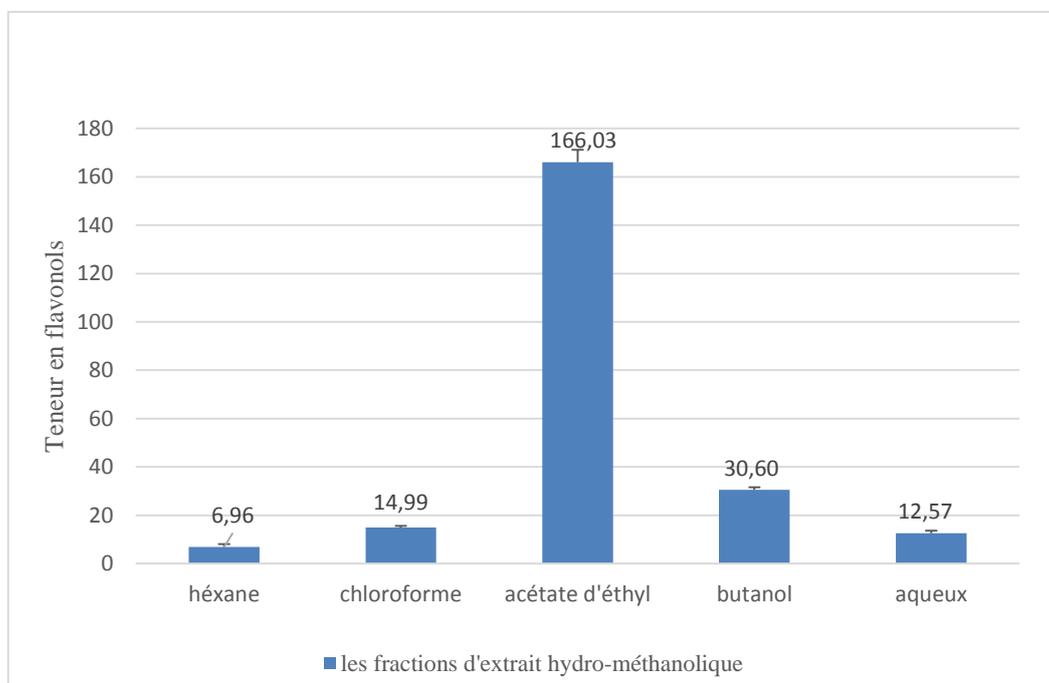


Figure 15: Teneur des fractions en flavonols totaux en $\mu\text{g ER}/\text{mg}$ d'extrait sec.

Les résultats de la figure 15 ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle est très riche en Flavonols et contient une teneur très forte de $166,03 \pm 5,10 \mu\text{g ER}/\text{mg}$ d'extrait

Sec, suivie par la fraction butanol avec 30.60 ± 1.06 μg ER/mg d'extrait sec, ensuite 15 ± 0.61 μg ER/mg d'extrait sec pour la fraction de chloroforme, la fraction aqueuse renferme 12.57 ± 1.03 μg ER/mg d'extrait sec et enfin la fraction d'hexane contient une teneur très faible de 6.96 ± 1.13 μg ER/mg d'extrait sec.

On a remarqué que l'extrait d'Acétate d'éthyle est supérieur aux autres extraits.

La différence entre les teneurs en métabolites secondaires justifiée selon Teugwa et al., (2013), par l'espèce végétale utilisée, la partie de la plante choisie, et aussi la richesse en métabolites secondaires.

5.2.4 Dosage des tri-terpènes

La détermination de la teneur en tri-terpènes des différents extraits est estimée par la méthode de (J.P. Fan et He., 2006). La teneur en tri-terpène a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide ursolique à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en μg équivalent acide ursolique par mg d'extrait (μg EAU/mg d'extrait).

La courbe d'étalonnage présente dans la Figure 16.

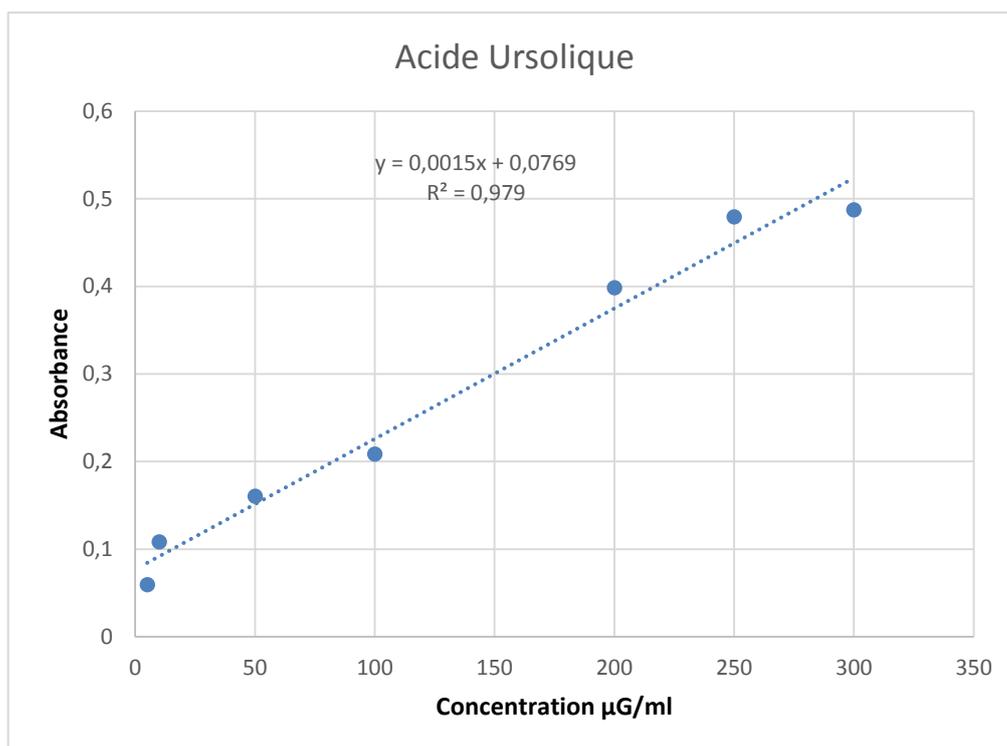


Figure 16: Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des tri-terpènes

La quantité des Tri-terpènes a été rapportée en microgramme d'équivalent acide ursolique par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait) Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 17.

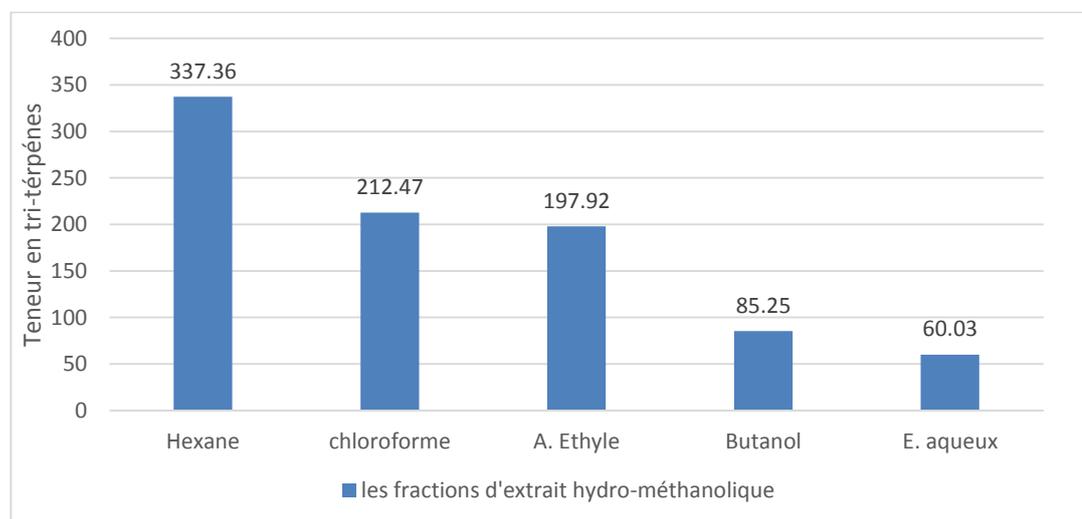


Figure 17: Teneur des extraits en Tri-terpènes en $\mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait sec.

Les résultats de la figure 17 ont montré que la fraction d'hexane est très riche en Tri-terpènes et contient une teneur très forte de $337.36 \pm 10.61 \mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait sec, suivie par la fraction de chloroforme avec $212.47 \pm 18.27 \mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait sec, en

suite la fraction d'acétate d'éthyle $197.92 \pm 16.006 \mu\text{g EAU/mg}$ d'extrait sec, puis la fraction de butanol renferme $85.25 \pm 6.10 \mu\text{g EAU/mg}$ d'extrait sec.

Et enfin la fraction aqueuse qui contient une teneur le plus faible avec $60.03 \pm 1.17 \mu\text{g EAU/mg}$ d'extrait sec.

On a remarqué que l'extrait d'hexane est supérieur aux autres extraits.

Alors, les différences dans les quantités de composés bioactifs peuvent être affectées par l'origine des échantillons, et la solubilité de ses composés (Fernandes, R. P. P. 2016).

5.3. Evaluation de l'activité antioxydant :

5.3.1. Pouvoir réducteur FRAP

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur des différents extraits augmente en fonction de la concentration, ces résultats sont représentés dans la figure 18.

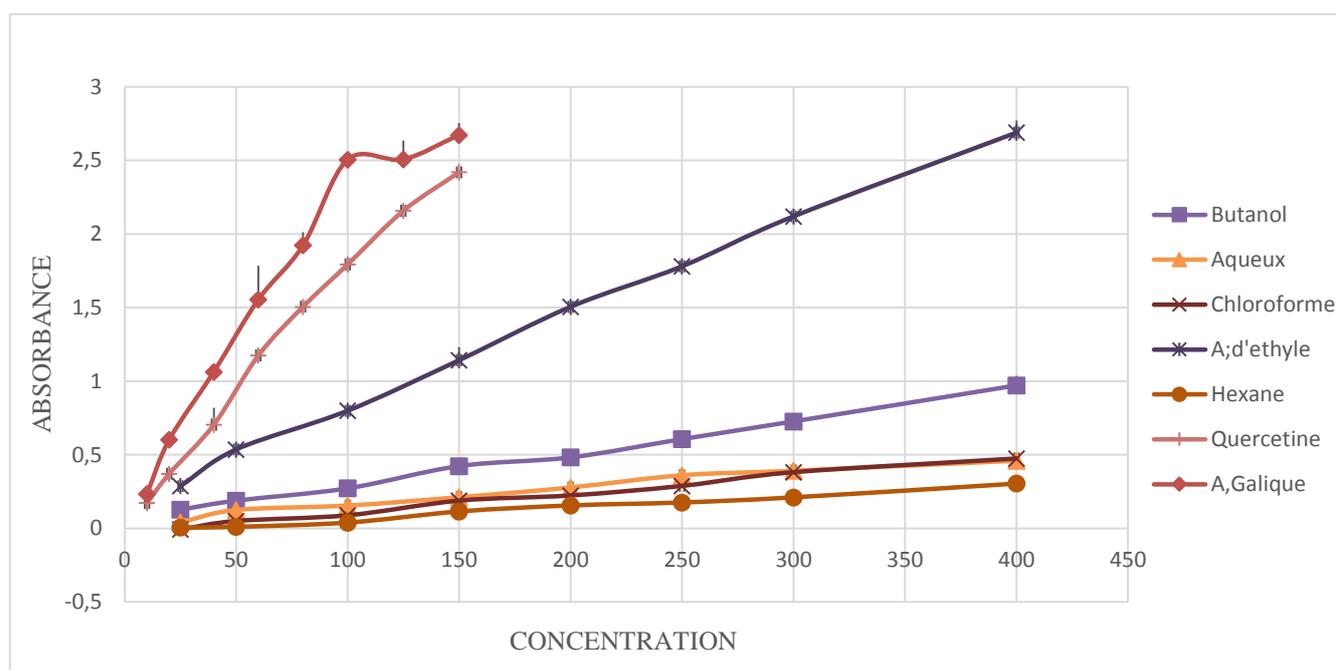


Figure 18: Pouvoir réducteur de la différente fraction de l'extrait hydro-méthanolique et des standards.

L'extrait d'acétate d'éthyle a donné le pouvoir réducteur le plus important avec une absorbance de $0.80 \pm 0,03$ enregistrée à la concentration $100 \mu\text{g/ml}$. Suivie de l'extrait du butanol avec une absorbance de $0.27 \pm 0.008 \mu\text{g/ml}$, à la même concentration, puis l'extrait aqueuse avec une absorbance $0.15 \pm 0.005 \mu\text{g/ml}$, puis l'extrait de

chloroforme avec $0.086 \pm 0.002 \mu\text{g/ml}$, et en fin l'extrait du l'hexane avec une absorbance de $0.043 \pm 0.003 \mu\text{g/ml}$, toujours à la même concentration.

Les résultats des standards obtenus montrent que les absorbances des différents standards augmentent en fonction de la concentration, alors les absorbances des standards reste supérieur à la différente fraction d'extrait hydro-méthanolique.

Pour mieux comparer cette résultats ont utilisent une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations (10-150 $\mu\text{g/ml}$). La courbe d'étalonnage présente dans la figure 19.

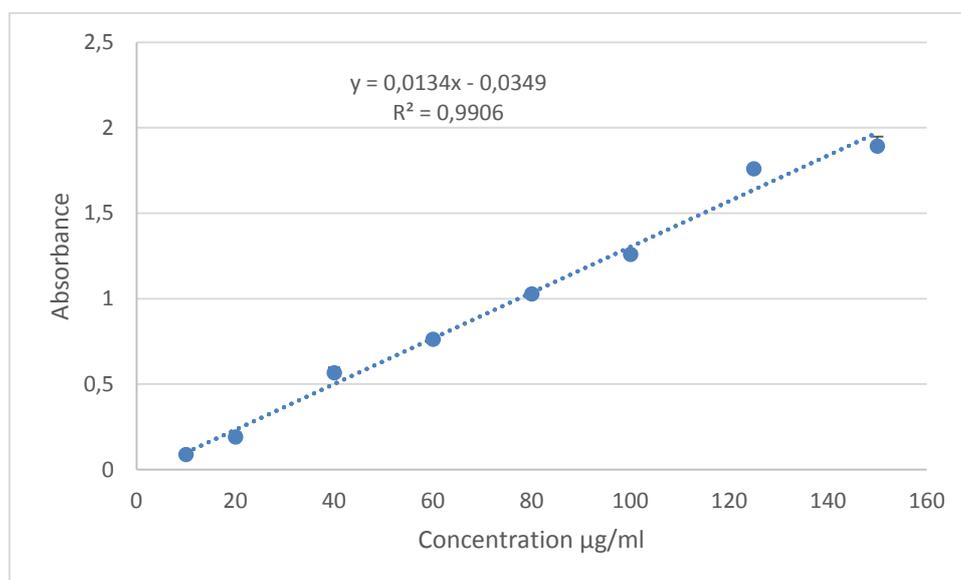


Figure 19: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le pouvoir réducteur.

Pour mieux comparer entre nos fractions et les standards, on prend l'absorbance de chaque extrait et les standards à la concentration 100 $\mu\text{g E Vit C /mg ES}$, les résultats sont représentés sous forme d'histogrammes dans la figure 20.

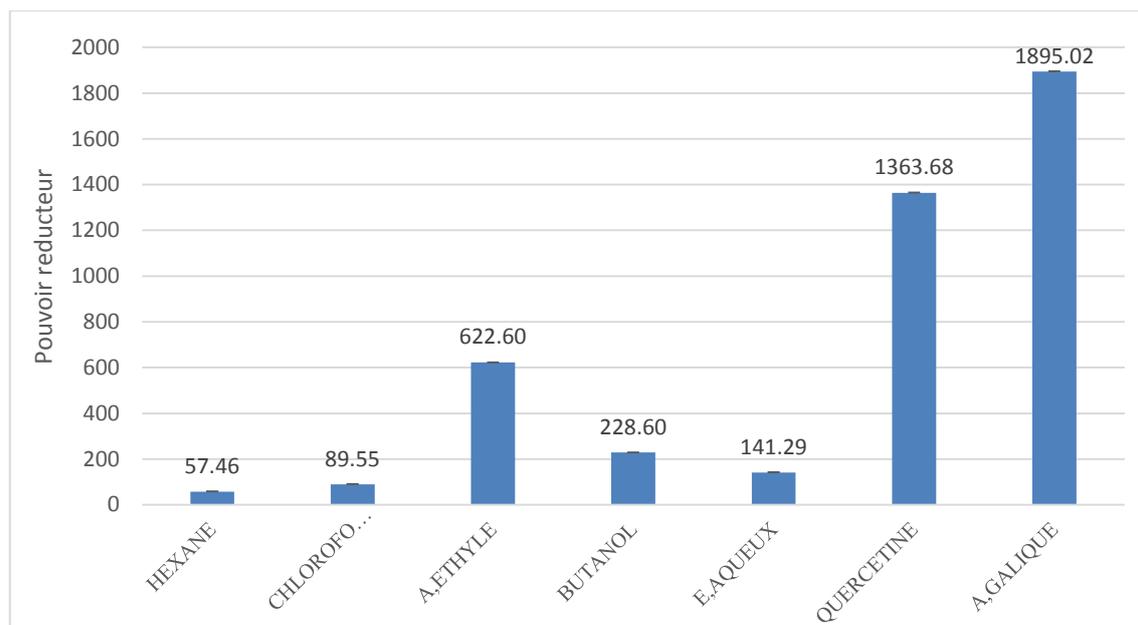


Figure 20: Pouvoir réducteur des différentes fractions à la concentration 100 µg E Vit C /mg ES.

La fraction d'acétate d'éthyle a donné le pouvoir réducteur le plus important avec une teneur de $622.13 \pm 0.03 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$, suivie de la fraction de butanol avec une teneur de $228.60 \pm 0.008 \mu\text{g E AA/mg E}$, puis la fraction aqueuse avec $141.29 \pm 0.005 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$ et la fraction chloroforme avec $89.55 \pm 0.002 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$. Et enfin la fraction d'hexane a donné le pouvoir réducteur le plus faible par rapport à ces fractions avec $57.46 \pm 0.003 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$.

Le pouvoir réducteur des différentes fractions reste faible par rapport aux standards utilisés qui donnent un pouvoir réducteur plus fort avec $1895.02 \pm 0.03 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$ pour l'acide gallique et le quercétine avec $1363.68 \pm 0.021 \mu\text{g E AA/mg Extrait sec}$.

Selon l'étude de Sharafati C et ses collaborateurs (2018), l'activité antioxydante des huiles essentielles des extraits de *Bunium Perscium* a été évaluée à l'aide d'une méthode antioxydante réductrice d'acide ferrique, l'huile essentielle de B. perscum a montré la plus grande activité antioxydante de $(248.56 \pm 1.09 \mu\text{g AG/mg})$.

Cette résultat est presque similaire à la fraction de butanol avec une teneur de $228.60 \pm 0.008 \mu\text{g E AA/mg}$ mais reste très faible par rapport à nos résultats (acétate d'éthyle) et aussi par rapport à l'acide gallique et quercétine.

La capacité d'une plante à réduire le fer ferrique en fer ferreux peut être dû à sa richesse en antioxydants par rapport aux autres plantes. L'activité réductrice observée

peut être due principalement à la présence des polyphénols qui ont des propriétés redox qui leur permettent d'agir comme étant d'agents réducteurs et/ou donneurs d'électrons (Djeridane et al., 2006).

D'après Sahreen et al. (2011), l'activité antioxydant est due à la présence de différents composés phénoliques notamment les polyphénols et flavonoïdes

5.3.2. Inhibition de radical cation ABTS+

L'estimation de cette activité anti-radicalaire est mesurée par la méthode (Re et al., 1999), les résultats obtenus montrent que l'inhibition de radical cation ABTS+ augmente en fonction de la concentration, les résultats sont présentés dans la figure 21.

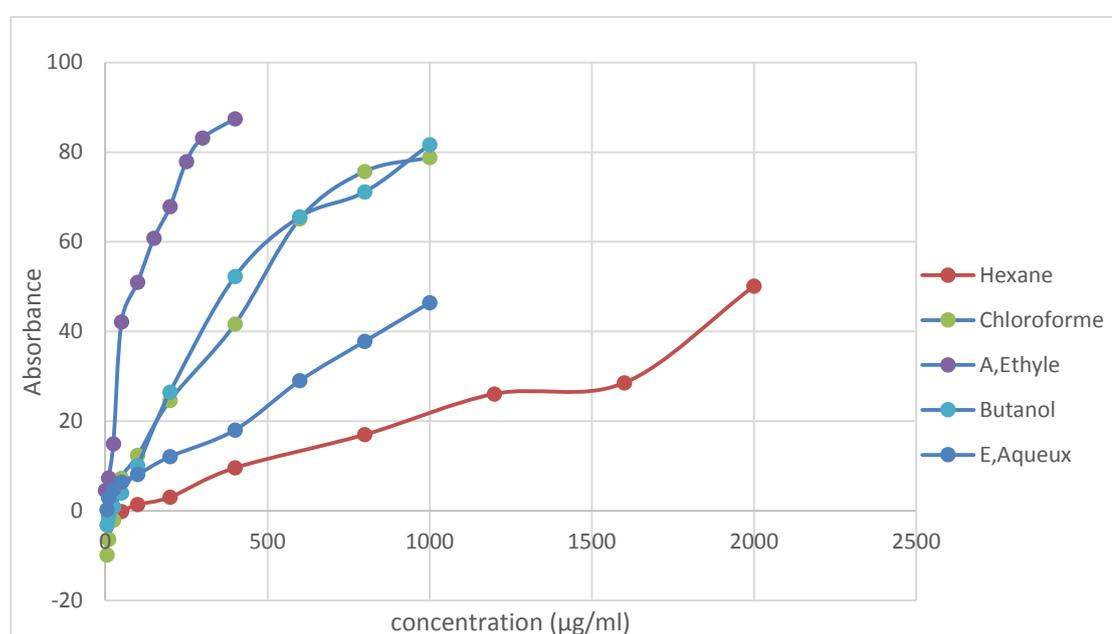


Figure 21: Inhibition de radical libre ABTS+ en fonction de la concentration.

Pour la comparaison on utilise 3 standards BHA, Quercitine, et BHT. Les résultats représentés sous forme de courbes dans la figure 22.

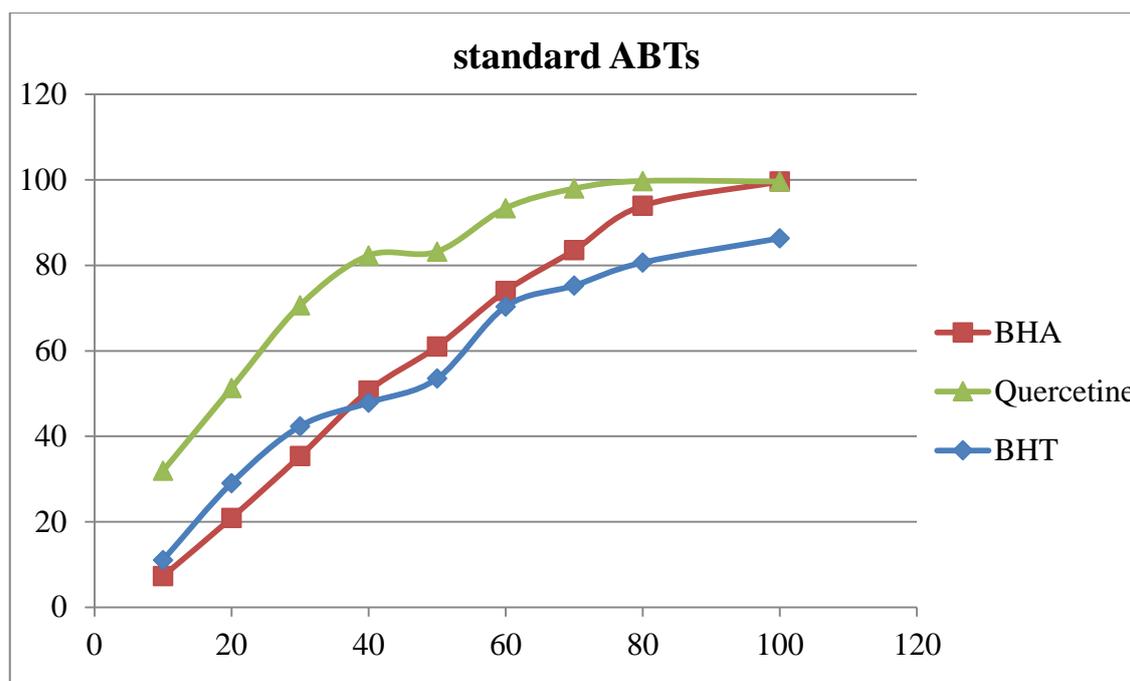


Figure 22: Inhibition de radical libre ABTS+ en fonction de la concentration des standards.

Pour une meilleure comparaison entre nos fractions d'extrait hydro-méthanolique ainsi que les standards utilisés, on a calculé les IC50 à partir des graphes précédents, Les IC50 obtenues sont présentées dans la figure 23.

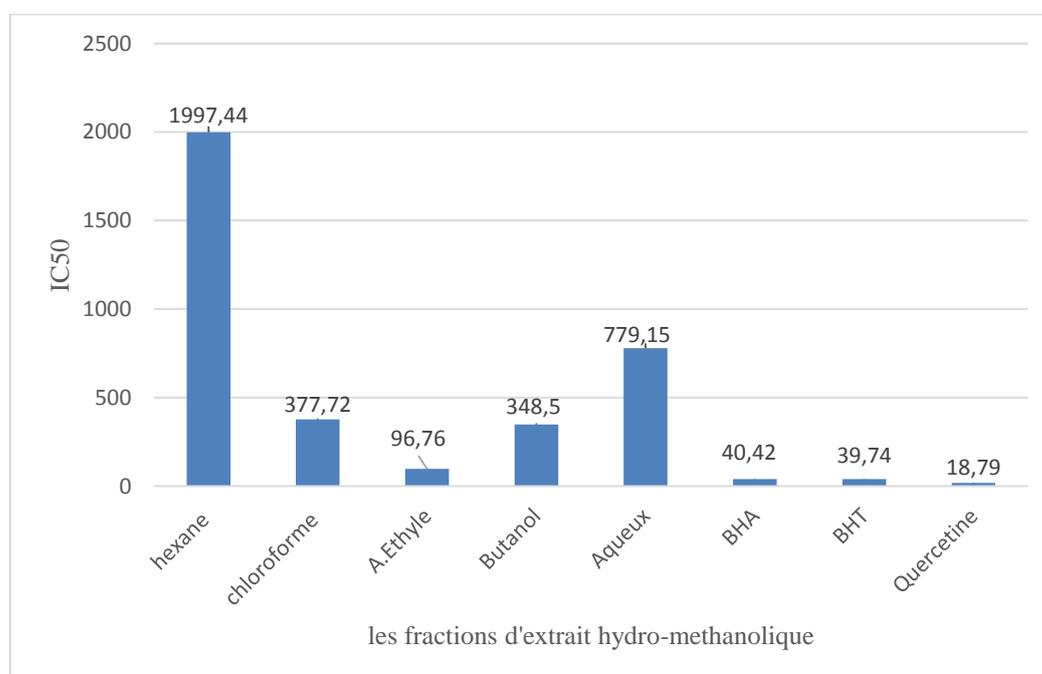


Figure 23: IC50 de différentes fractions et les standards effectués par le test ABTS+.

La fraction d'acétate d'éthyle possède l'IC50 la plus petite 96.76±2.2µg/ml et pour cela elle détient le pouvoir anti-radicalaire le plus puissant, suivie par la fraction

butanol avec une IC50 de $348.50 \pm 6.35 \mu\text{g/ml}$, en suite la fraction de chloroforme avec $377.73 \pm 5.39 \mu\text{g/ml}$, puis la fraction aqueuse avec une IC50 de $779.15 \pm 27.36 \mu\text{g/ml}$, et enfin la fraction d'hexane avec $1997.44 \pm 35.45 \mu\text{g/ml}$. Donc le pouvoir anti-radicalaire le plus faible para port les fractions précédentes est l'acétate d'éthyle et la plus forte activité para port les autres fractions mais les standards ils sont plus actifs que les extraits mais reste très proche de la fraction d'acétate d'éthyle. Donc le BHA donné $40.42 \pm 0.99 \mu\text{g/ml}$, et le BHT avec $49.74 \pm 2.05 \mu\text{g/ml}$. Et en fin quercetine avec $18.79 \pm 1.92 \mu\text{g/ml}$

Dans autre étude de Saeed, N, et ses collaborateurs (2012), les résultats montrent que l'ABTS de ($10,0 \pm 0,9 \mu\text{g} / \text{ml}$) de la plante *Torilis leptophylla* de même famille de nos plantes (*Apeaceae*). Ce résultats est supérieur à nos résultats, car il donnée l'IC50 plus faible a la fraction la plus actif (acétate d'éthyle) de nos étude.

L'évaluation de l'activité antioxydante est différente selon le degré de solubilité des composés secondaire de chaque plante, et aussi selon la plante utilisée (Ferradji A. 2011).

5.3.3. Teste molybdate

La détermination de la Capacité antioxydant totale TAC des différents extraits est estimée par la méthode de (Prieto et *al.*, 1999).

La Capacité antioxydant totale a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide Ascorbiques à différentes concentrations ont été variées entre $10 \mu\text{g/ml}$ jusqu'au $300 \mu\text{g/ml}$.

Les résultats sont exprimés en μg équivalent acide Ascorbiques par mg d'extrait ($\mu\text{g EAA/mg}$ d'extrait). La courbe d'acide ascorbique présente dans la figure 24.

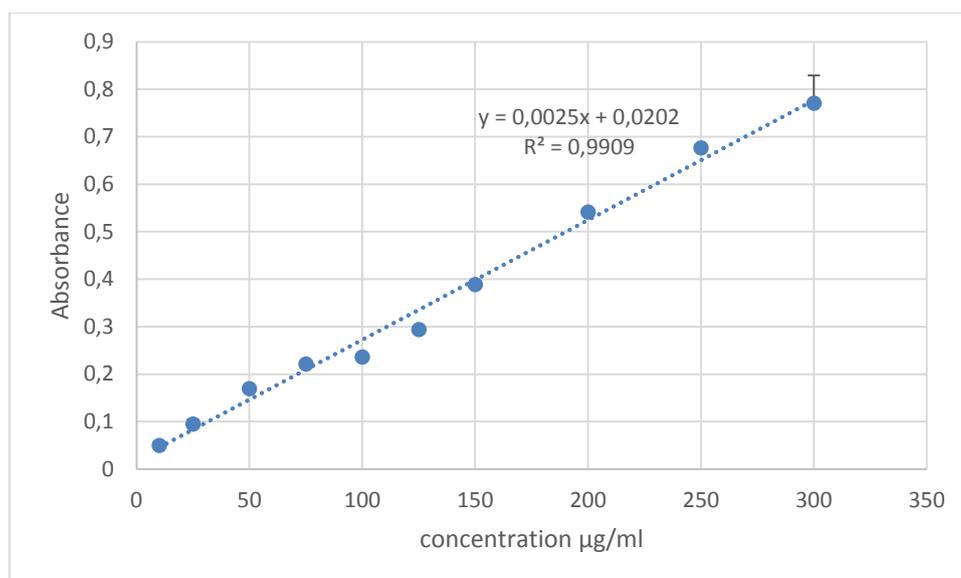


Figure 24: Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante.

La capacité antioxydant a été rapportée en microgramme d'équivalent acide Ascorbique par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EAA/mg d'extrait}$) Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 25.

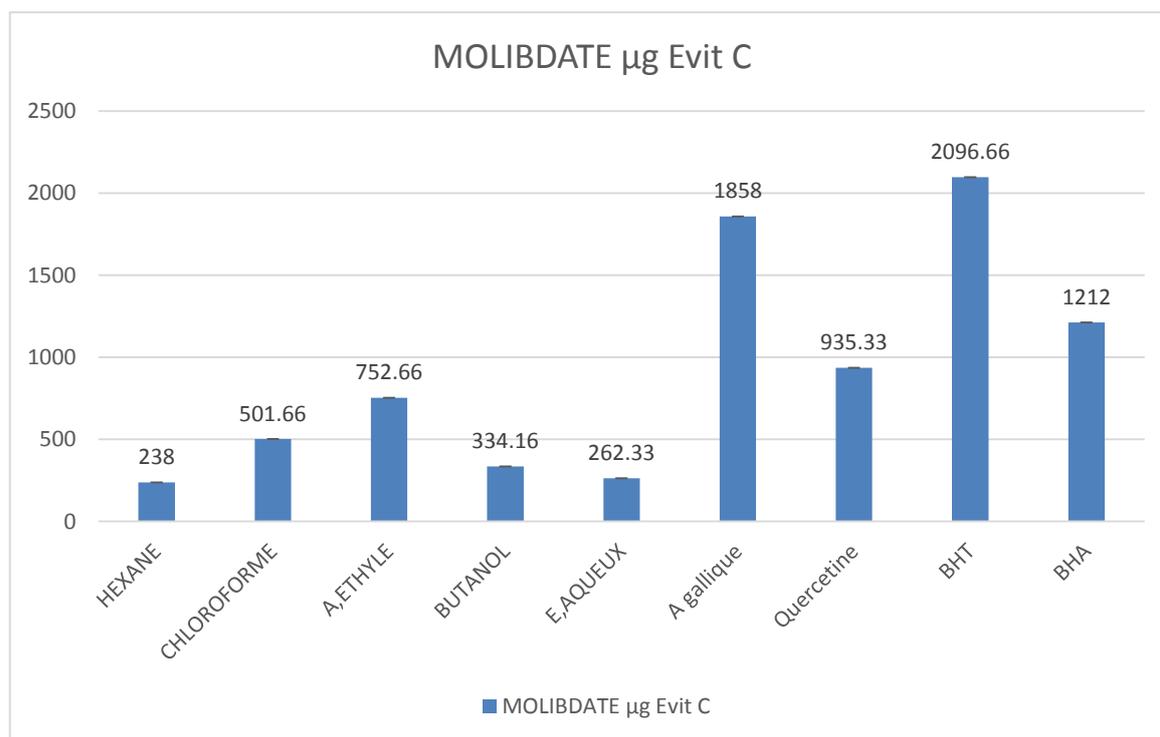


Figure 25: La capacité antioxydante de différentes fractions et de ces standards.

Les résultats de la figure 25 ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle ayant, la TAC la plus haute avec $752.66 \pm 0.04 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$, suivie par la fraction de chloroforme avec $501.66 \pm 0.01 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$, en suite $334.16 \pm 0.02 \mu\text{g E}$

AA/mg d'extrait sec pour la fraction de butanol, en fin par la plus faible activité la fraction aqueuse avec $262.33 \pm 0.01 \mu\text{g E AA/ mg ES}$ et l'hexane $238 \pm 0.007 \mu\text{g E AA/ mg ES}$.

La TAC de nos différentes fractions reste faible par rapport aux standards utilisés on trouve que BHT donne le teneur la plus forte $2096.66 \pm 0.15 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$. Suivie A gallique de $1858 \pm 0.21 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$, ensuite BHA de teneur de $1212 \pm 0.12 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$, enfin quercétine ayant la TAC la plus faible des standards et très proche de la fraction d'A éthyle de $935.33 \pm 0.05 \mu\text{g E AA/mg d'extrait sec}$.

Selon Nickavar B et Abolhasani FA, (2009), il y a une corrélation positive entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes des fractions, et la fraction d'acétate d'éthyle présente l'activité et la teneur la plus élevées.

5.4. Activité anti-inflammatoire :

L'étude de cette activité anti-inflammatoire est mesurée par la méthode (Shang et al., 2011), les résultats obtenus montrent que l'augmentation de poids causée par le xylène a été estimée en soustrayant le poids de l'oreille gauche non traitée de celui des sections d'oreille droite traitées, en fonction de la concentration, les résultats sont présentés dans la figure 26.

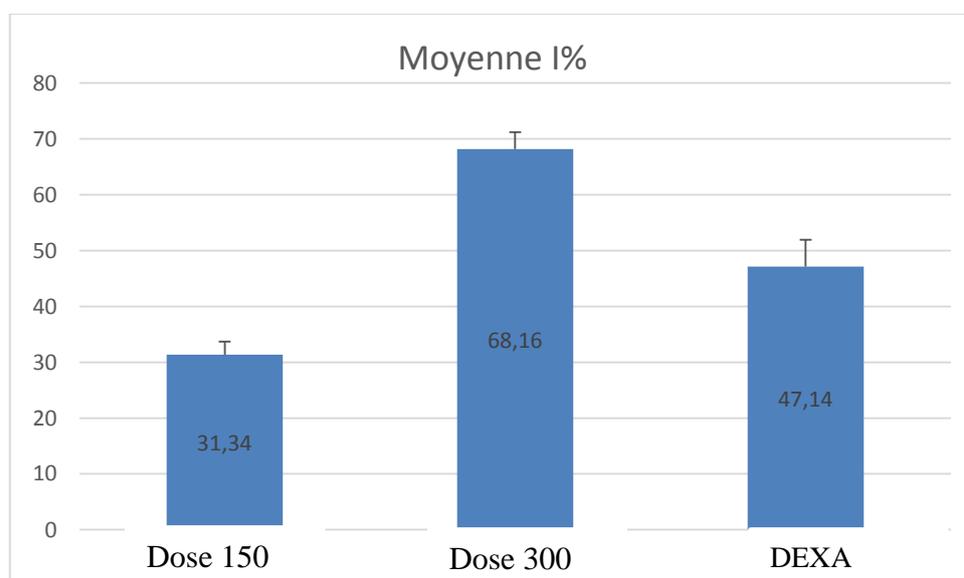


Figure 26: Le pourcentage d'inhibition d'activité anti-inflammatoire et leur contrôle.

A la dose de 150 mg/kg de poids corporel l'extrait inhibe l'œdème à 31,34 % par rapport au contrôle négatif, à la dose 300 mg/kg de poids corporel on obtient une

inhibition de 68,16 % ce pourcentage est plus élevé que celui du médicament de référence utilisé comme contrôle positif (Dexaméthasone) qui n'a donné que 47,14%.

Donc les parties aériennes de *Bunium bulbocastanum L*, appliqués localement possèdent un effet anti-inflammatoire significativement supérieur à celui de médicament DEXA, alors que la fraction d'acétate d'éthyle à un effet anti-inflammatoire important que le control positif aux doses utilisées.

Dans autre étude de shang x et al (2011) qui étudiée l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueuse du plante «*Phlomis umbrosa turez* » chez les souris, par l'utilisation de même méthode et Protocole de nos étude, donc il montre que a la dose 100mg/kg l'extrait inhibe l'œdème a 25.50%, ce résultat est de bonne effet dépendant de la dose ont été obtenu.

L'évaluation de l'activité antioxydante et activité anti-inflammatoire sont différente selon le degré de solubilité des composés secondaire de chaque plante (Ferradji A. 2011).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales ou les extraits des plantes sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies, sont aussi utilisées dans les préparations pharmaceutiques.

Notre travail pouvant constituer une base pour d'autres études plus approfondies, a démontré le potentiel antioxydant et testés la présence de l'activité anti-inflammatoire sur l'extrait d'acétate d'éthyle des partie aériennes de *Bunium bulbocastanum L.*

L'extrait hydro-méthanolique représente 19.6% de la matière végétale, a près fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique avec des solvants de différente polarité, on constate que la fraction aqueuse constitue la plus grande partie de l'extrait hydro-méthanolique.

Le dosage des polyphénols, Flavonoïdes, Flavonols, révèlent que la fraction acétate d'éthyle est la plus riche en polyphenols, Flavonoides, flavonols, entre les différentes fractions de l'extrait hydro-méthanolique alors que la fraction d'hexane est la plus pauvre.

Mais le dosage des tri-terpènes révèle que la fraction d'hexane est la plus riche entre les différentes fractions de l'extrait hydro-méthanolique alors que la fraction aqueuse est la plus pauvre en tri-terpènes

Pour évaluer les potentiels antioxydants des différentes fractions d'extrait hydro-méthanolique on a utilisé les tests de l'activité antioxydant FRAP, ABTs+, molybdate, les 3 testes montrent que tous les extraits possèdent une activité antioxydante. L'extrait d'acétate d'éthyle, possède la meilleure activité anti radioxydante et aussi in vivo ont une activité anti-inflammatoire importante par rapport le standard DEXA.

Les résultats obtenus restent préliminaires et nécessitent d'autres travaux qui doivent se concentré sur l'étude de la composition chimique de cette plante *bunium bulbocastanum L.*, et la recherche de la ou les composants responsables de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire et des mécanismes par lesquels ils fonctionnent.

Références bibliographique

Références Bibliographique

-A-

Abderrazak, M. et Joël,R. 2007. *La botanique de A à Z*. Paris.: Dunod.p84.

Ahmad H, Khan I, Nisar W. (2014). Antioxidation and Antiglycation Properties of *Bunium bulbocastanum* Fruits Various Fractions and its Possible Role in Reducing Diabetes Complication and Ageing. *Vitam Miner*; 3: 118p.

Ali-Mandegary M, Milad-Arab N, Hoorieh R, Fariba S. 2012. Anticonvulsant activity of the essential oil and methanolic extract of *Bunium persicum* (Boiss). *B. Fedtsch.. Journal of Ethnopharmacology* 140 :447-451.

Atawodi S. E. (2004). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2):128-133.

-B-

Babar Ali M., Hahn E.J., Pak K.Y., (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molécules*. 12: 607-621.

Bahorun T.(1997). Substances Naturelles actives.La flore Mauricienne.une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Maurities p83-94.

Belaïch R et Boujraf S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez Les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques* 10(1) :38-42.

Bidie P., N'Guessan., Yapo A F., N'Guessan J D., Djaman A J. (2001). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1): 1-11.

Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1): 9-19.

Boubekri C.2014. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, université Mohamed khider, Biskra, p160.

Boudjouref M, (2011). Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extrait d'*Artemisia campestris* L.). Thèse de magistère, université Ferhat Abbas, Sétif, p64.

Bourkhiss M'barek, Hnach M, Paolini J, et al (2010). Propriétés antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bull Soc Roy Sci Liège* 79: 141–54.

BRUNETON, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. *Edition .Technique et documentation*, p233.



Calias, P., Galanopoulos, T., Maxwell, M., Khayat, A., Graves, D., Antoniadis, H. N., & Dalarcao, M. (1996). Synthesis of inositol-2-phosphate- quercetin conjugates. *Carbohydr Res* 292, 83–90.

CHANFORAN, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université D'AVIGNON et des PAYS de VAUCLUSE.

Charles N Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010). *Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.*

Clapham, Tootin,(1962). Warburg. *Flora of the British Isles*. UK: Cambridge University Press.

Cotelle N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry 1*: 569-590.

-D-

Daoudi A., Sabiri M., M Bammou., Zair T., Ibjibijen J., Nassiri L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences* (87) ,8094-8104.

Delamarck et Decanddle, (1805). *Flor francaise ou succinctness de toutes les plantes qui croissant naturellement en France.*, 3^{eme} édition ,p 94-100.

Delarue J (2001) Acides gras polyinsaturés à longue chaine n-3 et inflammation. *Nutr Clin Metab* 15: 172–6.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem.* 97 p 654–660.



Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* 331: 372-379.

Fathy S. M. et Drees E. A. (2016). Protective effects of Egyptian cloudy apple juice and apple peel extract on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and inflammatory status in diabetic rat pancreas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(8): 1-14.

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.

Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Lima, C. G., Pugine, S. M. P., Munekata, P. E. S., ... de Melo, M. P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 451–460.

Finaud J., Lac G., Filaire E. (2006). Oxidative Stress, Relationship with Exercise and Training. *Sports Med*, 36(4): 327-358.

Fontaine E. (2007). Radicaux libre et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diurétique* 42(2) :110-115.

-G-

GHABRIER J. Y., (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): 165.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore J. (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. L'actualité chimique.91-96.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4 ,162-169.

Gomez-caravaca a.m., gomez-romero m ., arraez-roman d ., segura-carretero a., fernandez-gutierrez a ..(2006). advances in the analysis of phenolic compounds in Products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.

Guingard J, (1996). *Biochimie végétale*. Lavoisier, Paris, 175-192 p.

Gutteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*, 19: 141-158.

-H-

Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Thèse de doctorat pharmacochimie, université Louis Pasteur, 155p.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne JO., Charlier C., Chapelle JP. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* 62 (10) : 628-638.

Harrison R. (2004). Physiological roles of xanthine oxidoreductase. *Drug Metabolism Reviews*, 36(2):363-375.

Hartmann, T. (2007). «From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism.» *Phytochemist* 68: 2831-2846.

Heim E.k., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J., (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional biochemistry* 13: 572-584.

Hoffmann, D. (2003). *Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine. Edition Inner Traditions / Bear & Co.,* p 90.

HOPKINS W. G.(2003). *Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A,* Paris: 514.

Hubert A J.(2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. Ecole doctorale des Sciences Ecologiques. Vétérinaires. Agronomiques et Bio ingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments. P174.

=I=

Isornez G .(2007). Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments des vins rouges Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur De Strasbourg Ecole Doctorale De Chimie. p5.

=J=

Jacques B. and André R. (2004). *Biochimie métabolique* Ed ellipses. Paris. pp: 217-219- 220-223-225.

Jadot G. (1994). Antioxydants et vieillissement, Edition, John Libbey Eurotext, Paris, p. 35.

J. P. Fan and C. H. He, (2006). “Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 41, no. 3, pp. 950–956.

Judd W, Campbell C, Kellogg E. (2002). *Plant systematics. A phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. USA. pp:470_471.

-K-

Keskes H., Mnafigui K., Hamden K., Damak M., ElFeki A., Allouche N (2014). « In vitro antidiabetic, anti-obesity and antioxidant properties of *Juniperus phoenicea* L. Leaves from Tunisia », *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (Suppl 2): p 649-655.

Khaksari M, Ahmadi M, Najafipour H, Shahrokhi N.(2014). Effect of *Bunium persicum* aqueous extract plus endurance exercise on cardiorespiratory capacity and serum lipid profile. *Avicenna Journal of Phytomedicine*;4(2):118-126.

Koul A, Hamal I.(1979). A new base number for the genus *Bunium*. *Curr Sci* 48: 688-689.

-L-

Ladoh Yemeda C. F., Dibong S. D., Nyegue M. A., Djembissi Talla R. P., Lenta Ndjakou B., Mpondo Mpondo E., Yinyang J., Wansi J. D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (*Loranthaceae*) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences* 84 : 7636-7643.

Lin J.K, Weng M.S.(2006). Flavonoids as Nutraceuticals. In: The science of flavonoids. Grotewold, E. Eds, springer Pp: 217.

Lutge U., Kluge M., Bauer G.(2002). *Botanique 3ème Ed.* Lavoisier .Paris: Technique et documentation.

-M-

Macheix J-J., Fleuriet A, Allemand C. (2005).Les composés phénoliques des végétaux :Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechnique et universitaires romandes, Italie. p 2-3-12-13-14.

Markham K .(1982). Technics of flavonoids identification. *Academic Press* (London). Chap.1 et 2 pp 1-113.

Mbaebie B, Edeoga H, Afolayan A; (2012) Phytochemical analysis and antioxidant activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pac J Trop Biomed* 2:118–24.

-N-

Nickavar B, Abolhasani FA, (2009). Screening of antioxidant properties of seven umbelliferane fruits from Iran. *Pak J pharm sci*; 22(1): 30.

-O-

Oyaizu, M., (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japn. J. Nutr.* 44, 307–315.

-P-

Pacher P., Nivorozhkin A., Szabo C. (2006). Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev* 58:87–114.

Padayatty S. J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J-H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S. K., Levine M. (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1): 18-35.

Pelli K. et Lyly M. (2001). Antioxydantien in der Nahrung. VTT Biotechnology Finland, N°3. 28p.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 4 (5) : 148-154.

Pincemail, J., Degrune, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N. & Defraigne, J.- O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme* 21, 66–75.

Prieto P., PinedaA M., Aagular M., (1999)- Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.

-R-

Re, R., Pellegrini, N., Proteggebnte, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Sci. Inc.* 26, 1231–1237.

-S-

Saeed, N., Khan, M. R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 221.

Sahreen S., Khan M. R. and Khan R. A., (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of *Rumex hastatus* D. Don. Leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 2755-2765.

Sarr S. O., Fall A D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B., Diop Y M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *Int. J. Biol. Chem. Sci* 9(3) : 1263-1269.

Seri, A., Khorsand, M., Rezaei, Z., Hamed, A., & Takhsid, M. A. (2017). Inhibitory Effect of *Bunium Persicum* Hydroalcoholic Extract on Glucose-Induced Albumin Glycation, Oxidation, and Aggregation In Vitro. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 42(4), 369–376.

Shang X, wang J, li M, Miao X, Pam H, Yang Y, Wang Y (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *phlomis umbrosa turcz* extract; 82(4): 16-21.

Sharafati Chaleshtori, F., Saholi, M., & Sharafati Chaleshtori, R. (2018). Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of *Bunium persicum*, *Eucalyptus globulus*, and Rose Water on Multidrug-Resistant *Listeria* Species. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23-25.

Singleton V.L., Rossi J.A.1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and viticulture* 16: 144-158.

Sy G, Wélé A, Ndiaye M, et al (2008) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des feuilles d'*Annona reticulatum* (Annonaceae) sur l'oedème aigue de la patte de rat induit par la carraghénine. *Pharmacop Méd Trad Afri* 15: 5-23.



Tapas A. R., Sakarkar, D. M. & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.

Teugwa M., Sonfack D., Fokom R., Penlap B., Amvam Z .(2013). *Journal of Medicinal Plants Research ; Full Length Research Paper, Antifungal and antioxidant activity of crude extracts of three medicinal plants from Cameroon pharmacopeia, DOI: 10.5897/JMPR13.258*).



Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological Functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 : 44-84.

Vasilava MG, Klingkov EV, Pimenov MG. (1985). Karyotaxonomic analysis of genus bunium. *Plant Systematics and Evol* 149: 71- 88.

Visioli, F., Borsani, L. & Galli, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research* 47, 419–425.

الملخص

ان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مضادات الأكسدة ونشاط مضاد الالتهاب لمختلف مستخلصات الجزء العلوي لنبته *Bunium bulbocastanum* , في البداية ، تم تقدير كمية محتوى البوليفينول الكلي والفلافونويد. والفلافونول وكذلك ثلاثي التيربين في مختلف مستخلصات هذه النبتة حيث اظهرت النتائج ان مستخلص اسيتات الاثيل يحتوي على اكبر نسبة من كل من بوليفينول ، فلافونويد، والفلافونول ، ولكن ثلاثي التيربين يتواجد بنسبة كبيرة في مستخلص الهكسان. اما بالنسبة لنشاط مضاد الأكسدة، اظهرت النتائج ان مستخلص أسيتات الإيثيل ذو نشاط مضاد الأكسدة قوي جدًا في كل الاختبارات الثلاثة FRAP ، ABTs + ، TAC ، وله أيضًا نشاط مضاد الالتهاب ، والذي يعطي نسبة مئوية كبيرة لتثبيط الانتفاخ أعلى من الدواء المرجعي.(DEXA) . و في الختام نجد ان مستخلص أسيتات الاثيل لنبته *Bunium bulbocastanum* لديه نشاط مضاد الأكسدة ومضاد الالتهابات ممتازة مقارنة بالمستخلصات الاخرى .

كلمات مفتاحية: *Bunium bulbocastanum* . بوليفينول ، فلافونويد ، فلافونول ، ثلاثي تيربين ، مضاد الالتهاب ، مضاد الأكسدة.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydant et l'activité anti-inflammatoire de différents extraits de la partie aérienne de *Bunium bulbocastanum* .

Dans un premier temps, la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et flavonols et aussi les tri-terpènes de différentes fractions d'extraits sec a été effectuée. L'extrait d'acétate d'éthyle a montré une richesse en polyphénols totaux, en flavonoïde, et en flavonols, mais les tri-terpènes existent en grand teneur dans la fraction d'hexane. Et Pour l'activité antioxydante , L'extrait d'acétate d'éthyle a montré une très forte activité antioxydant dans les 3 tests (FRAP, ABTs+, TAC),et aussi ont une activité anti-inflammatoire,qui donnée une pourcentage d'inhibition plus élevé que celui du médicament de référence(DEXA).

En conclusion, l'extrait d'acétate d'éthyle de *Bunium bulbocastanum* . possède une excellente activité antioxydant et anti-inflammatoire par a pour a l'autre extrait.

Mots clés : *bunium bulbocastanum* . polyphénols, flavonoïde, flavonols, tri-terpènes, anti-inflammatoire, antioxydant

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity and the anti-inflammatory activity of deferent fractions of the aerial part of *Bunium bulbocastanum* L.

At first, the content of total polyphenols, flavonoids and flavonols and the tri-terpenes of different fractions of dry extracts was carried out. The ethyl acetate extract showed a richness in total polyphenols, flavonoid, and flavonols, but tri-terpenes exist in high content in the hexane fraction. In addition, for the antioxidant activity, the ethyl acetate extract showed a very strong antioxidant activity in the three tests (FRAP, ABTs +, TAC), and have an anti-inflammatory activity, which gives a percentage of higher inhibition than that of the reference medicine (DEXA).

In conclusion, the ethyl acetate extract of *Bunium bulbocastanum* . has excellent antioxidant and anti-inflammatory activity for the other extract.

Key words: *bunium bulbocastanum* . polyphenols, flavonoid, flavonols, tri-terpenes, anti-inflammatory, antioxidant

