



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abbes Laghrour-Khenchela

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master Académique

FILIERE : Sciences Biologique

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

**Etude phytochimique et activités biologique d'une
plante médicinale**

Soutenu le : JUIN 2023

Présenté par

Mlle. HALIMI Sara

Mlle. HAMI Chadha

Membres du jury :

Présidente : M^{me}. NAILI OUMAIMA (MCA) Université Abbes Laghrour Khenchela

Promotrice: M^{me} Arab Yasmine (MCB) Université Abbes Laghrour Khenchela

Examinatrice: M^{me} KRIM Meriem (MAB) Université Abbes Laghrour-Khenchela

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier sincèrement **Madame ARAB YASMINE** qui, en tant qu'encadrant de mémoire, elle a toujours montré l'écoute et la disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer pour que ce mémoire voit le jour.

Nous tenons à remercier les membres du jury :

M^{me}. **NAILI OUMAIMA**, pour avoir accepté de présider ce travail

M^{me}. **KRIM MERIEM**, pour avoir accepté d'examiner ce travail

Nos profonds remerciements les enseignants de département Biologie

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous.



Dédicace



Je tiens à dédier cet humble travail aux plus proches à mon cœur
A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, ma douce et tendre maman. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Celle que je lui souhaite une longue vie pleine de santé et de prospérité.

Mes très chers frères DJAMEL, SALAH et KARIM

À Chadha ma chère copine avant d'être mon binôme qui a partagée avec moi des beaux moments et souvenirs.

À mes chères intimes de ma vie Fatima et Marwa.

À mes chères cousines, NOORLAMIA ET AMIRA.

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment ... Merci

Sarah



Dédicace



C'est avec beaucoup de fierté que je dédie ce modeste travail :

A Mon très cher père *HAMI BOUDJAMAA* : l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime ,aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A ma tendre mère *BEKHOUC H NASSIRA* Tu m'as donné la vie la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. En témoignage, je te remercie pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours donné, Tu représente pour moi l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

A mes chères sœurs (*AFAFE*, et *DIHIA*) sources constantes d'encouragement, j'espère que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

A mes chers frères (*HAMID*, *FETHI* et *KHALED*) pour être toujours à mes côtés surtout dans les moments les plus dures,

A ma chère Binôme *SARA* l'amie sur qui je peux toujours compter.

Sans oublier mes proches et mes amis (*NESRINE, HADIL, LAMIA, KHAWLA*,)

A tous ceux qui me sont chers

Je témoigne ma profonde gratitude à tous ceux que j'aime et qui m'aiment qui m'ont soutenu de près ou de loin tout au long de mes études.

CHADHA

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Première partie : Revue bibliographique	
I. Les substances naturelles viennent du métabolisme secondaire	3
I.1. Les composés phénoliques	3
I.2. Les alcaloïdes	4
I.3. Les terpénoïdes	4
II. Monographie de la plante étudiée	5
II.1. La famille des Apiaceae	5
II.2. Le genre <i>Bunium</i> L.	5
II.3. L'espèce <i>Bunium incrassatum</i>	5
II.3.1. Nomenclature.....	5
II.3.2. Position systématique	5
II.3.3. Description botanique	6
II.3.4. Composition phytochimique de <i>Bunium incrassatum</i>	6
II.3.5. Intérêts thérapeutiques	7
III. Les activités biologiques	7
III.1. Activité antioxydante	7
III.1.1. Définition de stress oxydant	8
III.1.2. Origine du stress oxydant	8

III.1.3. Les radicaux libres :	9
III.1.4. Les antioxydants	10
III.1.4.1. Classification des antioxydants	10
III.1.4.2. Mode d'action	11
III.2. L'activité antibactérienne	11
III.2.1. Résistance aux antibiotiques (antibiorésistance)	12
III.2.2. Techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne	13
III.2.2.1. Méthode de dilution en milieu solide	13
III.2.2.1.1. Méthode de dilution en milieu liquide	13
III.2.2.1.1.1. Concentration minimale inhibitrice CMI	14
III.2.2.1.1.2. Concentration minimale bactéricide CMB	14
III.2.2. Mode d'action des extraits des plantes contre les bactéries	14

Première partie : Etude expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I. Matériel biologique	15
I.1. Matériel végétal	15
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	15
II. Etude phytochimique	15
II.1. Préparation de l'extrait brut	15
II.2. Détermination du rendement d'extraction	16
II.3. Screening phytochimique	16
II.4. Etude quantitative	19
II.4.1. Dosage des polyphénols.....	19
II.4.2. Dosage des flavonoïdes	19
III. Etude des activités biologiques	19
III.1. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante	19
III.3.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne	20

III.3.2.1. Souches bactériennes	20
III.2.2.2. Milieux de culture.....	20
III.2.2.3. Préparation de l'inoculum et des solutions d'extraits.....	20
III.2.2.4. Ensemencement et dépôt des disques.....	21
IV. Expression des résultats	21
Conclusion.....	31
Les références bibliographiques	32
Les annexes	

Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est la mise en évidence des composés phytochimiques, d'estimer la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes et d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait brut de la plante médicinale *Bunium incrassatum*. L'échantillon a été soumis à une macération dans le méthanol 80%, et le rendement obtenu de la partie aérienne est de l'ordre de 5,7%. Pour le criblage phytochimique, l'extrait étudié a montré la présence des différents métabolites tels que : Les composés phénoliques, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les composés réducteurs, les terpenoïdes et les polyuronides. L'analyse quantitative des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$, a révélé la présence des quantités respectivement de $107,3 \pm 2,56 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $31,92 \pm 2,14 \mu\text{g EQ/mg E}$. En outre, l'étude du pouvoir antioxydant de l'extrait vis-à-vis le DPPH a confirmé les propriétés puissantes de l'extrait à piéger les radicaux libres avec IC_{50} égal à $3,39 \pm 0,16 \text{ mg/ml}$. Les résultats de l'activité antibactérienne, réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, ont révélé une faible activité uniquement contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec des diamètres d'inhibition variant de 7 à 8 mm et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 *pneumoniae* avec 7mm de diamètre d'inhibition. Nous avons conclu dans cette étude que l'extrait méthanolique présente des bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de le recommander dans la biotechnologie.

Les mots clés: plante médicinale, *Bunium incrassatum*, criblage phytochimique, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of biologically bioactive molecules. In this context, the objective of this work is the identification of phytochemical compounds, to estimate the content of phenolic compounds and flavonoids and to evaluate the antioxidant and antibacterial activity of the crude extract of the medicinal plant *Bunium incrassatum*. The sample was subjected to maceration in 80% methanol, and the yield obtained from the aerial part is around 5.7%. For phytochemical screening, the extract studied showed the presence of different metabolites such as: phenolic compounds, flavonoids, saponins, tannins, reducing compounds, terpenoids and polyuronides. Quantitative analysis of total phenols by Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the AlCl_3 method, revealed the presence respective quantities of $107.3 \pm 2.56 \mu\text{g EAG/mg E}$ and $31.92 \pm 2.14 \mu\text{g EQ/mg E}$. In addition, the study of the antioxidant power of the extract against DPPH^{\bullet} confirmed the powerful properties of the extracts to trap free radicals with IC_{50} equal to $3.39 \pm 0.16 \text{ mg /ml}$. Results of antibacterial activity, by the agar diffusion method, revealed only low activity of the extract against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 with inhibition diameters varying from 7 to 8 mm and *Klebsiella pneumoniae* ATCC4352 with 7mm of inhibition diameter. We concluded in this study that the methanolic extract exhibit good antioxidant properties which could allow us to recommend it in biotechnology.

Keywords: medicinal plant, *Bunium incrassatum*, phytochemical screening antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا السياق، الهدف من هذا العمل هو تحديد المركبات الكيميائية النباتية، تقدير محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا للمستخلص الخام للنبات الطبي *Bunium incrassatum*. عرضت العينة للنقع في ميثانول 80٪، بلغ الناتج المتحصل عليه من الجزء العلوي للنبنة حوالي 5.7٪. بالنسبة للفحص الكيميائي النباتي، أظهر المستخلص المدروس وجود مركبات مختلفة مثل: المركبات الفينولية، الفلافونويدات، الصابونين، العفص، المركبات المختزلة، التربينويدات والبوليورونيدات. أظهر التحليل الكمي لمجموع الفينولات بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بطريقة $AlCl_3$ وجود كميات على التوالي ($107,3 \pm 2,56$ ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك /مغ من المستخلص) و (31.92 ± 2.14 ميكروغرام مكافئ لحمض الكارسييتين/مغ من المستخلص). بالإضافة إلى ذلك، أكدت دراسة القوة المضادة للأكسدة للمستخلص ضد DPPH، خصائص قوية لاحتجاز الجذور الحرة ب $IC_{50} = 0.16 \pm 3.39$ ميليجرام/ملييلتر. أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا، الذي تم إجراؤه بواسطة طريقة الانتشار على وسط جيلوزي، نشاطاً ضعيفاً فقط ضد *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 بأقطار تثبيط تتراوح من 7 إلى 8 مم و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 4352. بقطر 7 مم من التثبيط. خلاصتنا من هذه الدراسة أن المستخلص الميثانولي يحتوي على خصائص جيدة لمضادات الأكسدة التي يمكن أن نوصي بها في مجال التكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية: نبات طبي، *Bunium incrassatum*، فحص كيميائي نباتي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.

ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك /مغ من المستخلص

ميكروغرام مكافئ لحمض الكارسييتين/مغ من المستخلص

Liste des abréviations

Abs : L'Absorbance

ATCC : American Type Culture Collection

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

EOR : Espèces Oxygénées Réactives

ERN : Espèces Réactives de l'Azote

IC₅₀: Concentration d'Inhibition à 50 %.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NO: Le Monoxyde d'Azote

OH: Le Radical Hydroxyle.

EQ : Equivalent Quercétine.

ROS : Réactive Oxygène Spécifs

UFC : Unité Formant Colonie

UV-Vis : Ultraviolet/Visible

Liste des Schéma

Schéma 1: Schéma de l'extraction de l'extrait brut	15
---	----

Liste des Figures

Figure 01 :	Description morphologique de <i>Bunium incrassatum</i>	6
Figure 02 :	Stress oxydant : déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants.....	8
Figure 03 :	Représentation photographique de l'espèce <i>Bunium incrassatum</i>	14
Figure 04 :	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	24
Figure 05:	Courbe d'étalonnage d'acide quecétine pour le dosage des flavonoïdes.....	26
Figure 06 :	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	27
Figure 07 :	Pourcentage d'inhibition de l'extrait MeOH et l'acide ascorbique.....	28

Liste des Tableaux

Tableau01 :	Classification de plantes <i>Bunium incrassatum</i>	6
Tableau02 :	principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes)	8
Tableau03 :	Les souches bactériennes testées.....	19
Tableau04 :	La couleur, l'aspect et le rendement d'extrait MeOH de la plante <i>Bunium incrassatum</i>	21
Tableau 05 :	screening phytochimique de l'extrait méthanolique de <i>Bunium incrassatum</i>	22
Tableau06:	Teneur en polyphénols d'extrait MeOH de la plante <i>Bunium incrassatum</i>	25
Tableau07:	Teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique de <i>Bunium incassatum</i>	26
Tableau08 :	Valeurs des IC ₅₀ de l'extrait étudié	29
Tableau 09:	Diamètres des zones d'inhibition d'extrait méthanolique de <i>Bunium incassatuum</i> vis-à-vis les bactéries testées.....	30



Introduction

Introduction

La recherche sur les plantes et leurs composés bioactifs a toujours été d'une grande importance pour l'humanité. L'importance des plantes médicinales réside en leur possession de nombreuses substances ayant des fins thérapeutiques curatives et préventives (**Lonela, 2015**). Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire (**Chaabi, 2008**).

Les métabolites végétaux secondaires, également connus sous le nom de produits naturels, sont de riches sources de substances bioactives, telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui possèdent de nombreux effets bénéfiques sur la santé, notamment des antioxydants (**Nahdi et al., 2018**) d'une part de protéger l'organisme contre un certain nombre de maladies liées au stress oxydatif et aux dommages induits par les radicaux libres, et des antimicrobienne (**Bekkara et al., 2007**), d'autre part d'agir contre les bactéries en constituant une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces.

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes, parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines (**Sofiane, 2018**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles d'origine végétale de l'Est- algérien.

Une plante locale *Bunium incrassatum* de la famille Apiaceae a retenu notre attention. Cette Apiacées est très commune dans les moissons du Tell, elle est pourvue d'un volumineux tubercule amylicé que les indigènes récoltent les années de disette. Ces tubercules séchés et légèrement torréfiés donnent une farine alimentaire. Le tubercule frais contient un produit essentiel âcre provoquant des accidents intestinaux et nerveux ment torréfiés (**Karouche et al., 2020**).

Dans ce contexte, Ce travail vise à étudier *in vitro* l'activité antioxydante et antibactérienne de cette plante. Les objectifs de ce travail sont :

- Mettre en évidence et détection des métabolites secondaires par réalisation du screening phytochimiques de l'extrait méthanolique 80%.

- L'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes.
- L'évaluation de pouvoir antioxydant et antibactérien

Pour atteindre cet objectif, le présent mémoire se subdivise en deux grandes parties :

- La première partie relative à l'étude bibliographique, les produits bioactifs d'origines naturels, des généralités sur la plante *Bunium* *incrassatum*, du stress oxydant et de l'activité antibactérienne.

- Dans la deuxième partie, nous présentons le matériel et les méthodes utilisées, ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions.

- Le mémoire est achevé par une conclusion et perspectives.



Partie I : Revue Bibliographique

I. les substances naturelles viennent du métabolisme secondaire

les produits naturels constituent une banque de molécules caractérisés par des structures riches, complexes et fort variées que les chimistes auraient bien du mal à synthétiser dans leurs laboratoires (**Graham et Depovere, 2002**). Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leurs existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides, des acides nucléiques et des hydrates de carbone (**Small et catling, 2000**). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées à partir des métabolites primaires et résultent de réactions chimiques ultérieures effectuées par les plantes autotrophes (**Raven et al., 2000; Fouche et al., 2000**). Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représente également une source importante de produits pharmaceutiques (**Bourgaud et al., 2001**). Ils sont produits en très faible quantité, nous distinguons trois principales classes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

I.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux (**Lugasi et al., 2003**). Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes d'où la dénomination de métabolites secondaires (**Urquiaga et Leighton, 2000**). Avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante, ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de Shikimate et d'acétate, La structure de ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés) (**Hopkins, 2003**). Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, le thé, le café, les jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (**Macheix et al., 2005**).

Les polyphénols sont divisés principalement en deux groupes majeurs selon leur structure et nombre de carbones liés : les phénols simples comme les acides phénoliques (C6-C1 et C6- C3), et les phénols complexes dont les plus largement trouvés: les flavonoïdes (C6-C3-C6) (**Harmi, 2012**).

➤ **Les Flavonoïdes**

Le nom flavonoïde provient du terme flavus c'est-à-dire jaune (**Malešev et Kuntić, 2007**). Les flavonoïdes sont des composés avec un squelette de base de quinze atomes de carbone, constitué de deux cycles aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyranne, formant une structure C6-C3-C6. Ce sont les composés phénoliques les plus courants. Ils sont impliqués dans le processus de pigmentation florale et de défense contre les rayons UV, les herbivores et les attaques microbiennes. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...). En outre, ils possèdent une activité antioxydante ; défend l'organisme contre les radicaux libres (**Chaudhuri et al., 2007**). Les flavonoïdes sont constitués de cycles benzoïques présentant plusieurs groupements hydroxyles et sont pour cette raison également nommés polyphénols (**Descheemaeker et Provoost, 1999**).

I.2. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée à caractère alcalin et présente une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (**Badiaga, 2011**). Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications, ils se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**). D'un point de vue biologique, les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne, anticancéreuses, ... (**Bruneton, 2009**).

I.3. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des composants organiques aromatiques dérivés de l'isoprène (hydrocarbure de 5 atomes de carbone) qui se trouvent dans tout type de végétation et sont importants dans de nombreuses interactions biotiques (**Goodwin, 1971**). Ce sont des molécules hydrocarbonées produites particulièrement au niveau des organes foliaires. Les différentes voies métaboliques dont ils sont issus sont la glycolyse, le cycle de Krebs et la voie du Shikimate, ainsi que la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) (**Soualeh et Soulimani, 2016**). Cependant, l'extrême diversité des terpénoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux (**Krief, 2003**). Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (**Malecky, 2008**). 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**).

II. Monographie de la plante étudiée

II.1. La famille des Apiaceae

Les Apiacées, anciennement appelées Ombellifères, sont une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsida (Dicotylédones). Cette famille constitue de 3000 à 3700 espèces regroupées en 300 à 450 genres ; Elle est très homogène et facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées, mais les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (**Stephen et al., 2000; Serge, 2012**). Les plantes de la famille des Apiacées sont des végétaux herbacés, des arbres et des arbustes qui sont soit bisannuelles, annuelles ou vivaces, elles présentent une tige cannelée et noueuse. Ce sont souvent des plantes alimentaires, des condiments, des plantes médicinales ainsi que des plantes toxiques. Elles s'étendent sur différentes parties du globe, mais surtout dans les régions tempérées, et relativement rares dans la zone tropicale. Dans la flore Algérienne on peut inventorier 55 genres incluant de nombreuses espèces (**Bouderdara, 2013; Lefahal, 2014**).

II.2. Le genre *Bunium* L.

Les espèces de ce genre sont des plantes aromatiques ayant des propriétés médicinales, leurs grains ainsi que leur huile essentielle sont souvent utilisés dans l'alimentation et la médecine (**Jassbi et al., 2005**).

Le genre *Bunium* L. est représenté en Algérie par sept espèces qui sont: *Bunium incrassatum* ; *Bunium fontanesii* ; *Bunium chaberti* ; *Bunium elatum*; *Bunium crassifolium*; *Bunium macuca*; *Bunium alpinum* (**Quezel et Santa, 1963**).

II.3. L'espèce *Bunium incrassatum*

Bunium incrassatum est une plante médicinale de la famille des ombellifères (Apiaceae), est Très fréquente dans l'est de l'Algérie et connu par le nom Talghouda , avec une valeur économique élevée (**Boukezata, 2014**).

II.3.1. Nomenclature

Nom français : Noix ou gland de terre,

Nom arabe : Talghouda تلغودة ; **Nom scientifique**: *Bunium mauritanicum*.

II.3.2. Position systématique

La classification de cette plante est comme suit selon **Quezel et Santa, 1963**:

Tableau 1 : Classification de plantes *Bunium incrassatum*

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dilleniidea
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

II.3.3. Description botanique

B.incrassatum est une plante vivace, herbacée ayant des rayons des ombelles et des ombellules restant grêles, de 5 à 7 cm de large ; les fruits sont rétrécis au sommet à méricarpe contigus et sont 4 à 5 fois plus longs que larges ; les tiges sont grêles de 10 à 50 cm d'hauteur et les feuilles sont bipennatiséquées, à segments linéaires ou linéaires lancéolés (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 1 : Description morphologique de *Bunium incrassatum* (**Chentouh et al., 2018**).

II.3.4. Composition phytochimique de *Bunium incrassatum*

Des études phytochimiques de la plante médicinale *B. incrassatum* ont montré que la partie souterraine contient les composés suivants: saccharose, acide oléique, scopolétine ,scoparone scopolamine et bêta-sitostérol (**Bousetla et al., 2015**). Selon une étude de (**El kolli et al., 2017**), 31 composés des huiles essentielles des parties aériennes de *Bunium incrassatum* ont été identifiés. Ses constituants les plus abondants sont les terpènes et leurs dérivés, les acides ; acide palmitique (18.39 %), oxyde de caryophyllène (17.36 %), β -eudesmol (13.95 %) ,n-pentane (5.13 %) 10-épi- α -muurolol (4.36 %),hédycaryol (4.14 %) et spatulenéole (4.04 %) .Une autre évaluation phytochimique sur la composition nutritionnelle a montré que la poudre de *B.incrassatum* contient les éléments suivants : protéine, lipides, d'une partie majoritaire d'amidon et congénères, des minéraux dont le plus fréquent c'est le calcium. Ainsi, ses polyphénols incluent les flavonoïdes et principalement la quercétines, les alcaloïdes et d'un taux élevé de coumarine (**Aiouaz et Arezki, 2022**).

II.3.5. Intérêts thérapeutiques

Depuis longtemps, cette plante été utilisée dans l'alimentation et la médecine traditionnelle dans le monde grâce à ces racines très nutritives (utilisées en alimentation comme pommes de terre). Ont démontrés dans leurs études les prospérités ; antifongique, activités phytotoxiques, d'hémagglutination et activité antimicrobienne de cette plante. Ils utilisaient de la farine de talghouda dans des préparations médicinales et ils sont une petite plante vénéneuse. Il élimine les ballonnements et la diurèse traite la constipation et les gonflements (Graines). Ils ont extrait l'huile pilote anti-gaz de l'estomac, et des maux d'estomac sur la colline algérienne (**Halimi, 2017**). D'autre part, les tubercules transformés en poudre sont utilisés comme anti-diarrhéique, astringent ou contre les hémorroïdes inflammatoires. En outre, ils sont utilisés pour traiter la bronchite et la toux. Selon les guérisseurs traditionnels, cette plante est également utilisée dans le but d'augmenter le poids, la sécrétion de lait de certains animaux de ferme et régler la sécrétion glandulaire surtout celle de la glande thyroïdienne (**Jassbi et al., 2005**).

III. Les activités biologique

III.1. Activité antioxydante

En condition physiologique, l'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques, toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces oxygénées réactives

(EOR) (ou ROS, pour réactive oxygène spécifs) et les espèces réactives de l'azote (ERN). (Halliwell, 1994). Les EOR deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction des EOR au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs Maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement (Koechlin-Ramonatxo, 2006). De nombreuses études sur l'activité antioxydante d'une grande variété de l'huile essentielle de *Bunium incrassatum* ont montré que cette activité est liée à la composition chimique. Cependant, la présence de certaines molécules (même minoritaires) telles que le carvacrol et le thymol (1,41%) a été trouvée pour attribuer un haut degré de propriété antioxydante par synergie contre les radicaux libres et ils ont été trouvés comme de forts réducteurs de DPPH et inhibiteurs de la peroxydation lipidique (Lu *et al.*, 2001).

III.1.1. Définition de stress oxydant

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydants ou à une augmentation de production des radicaux libres (Orban, 2010).

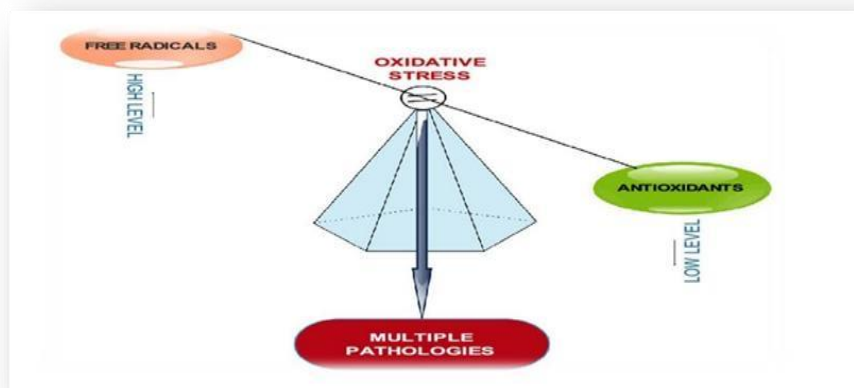


Figure 2: Stress oxydant : déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (Gutteridge, 2001)

III.1.2. Origine du stress oxydant

Le stress oxydant peut avoir divers origines, tels que la surproduction endogène d'agents pro oxydants d'origine inflammatoire, une défaillance nutritionnelle ou de la carence

en un ou plusieurs antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligoéléments (**Favier, 2003**). De même, il peut être à l'origine d'une exposition environnementale à des facteurs pro oxydants tels que, le tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets (UV), pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques, une mauvaise alimentation, la pollution, etc. (**Magder, 2006**). Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aigüe, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc. Et aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

III.1.3. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, capable d'exister sous forme indépendante et contenant au moins un électron libre sur sa couche externe. Cela augmente considérablement sa réactivité car il doit se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Mac Laren et al., 2007**), sa durée de vie est très courte (de quelques millisecondes à quelques nanosecondes) et elle est représentée par un point qui indique où se situe l'électron libre (par exemple: OH) (**Sayre et al, 2008**). Le radical super oxyde ($O_2^{\circ-}$), le radical hydroxyle (OH°), le monoxyde d'azote (NO), ainsi que certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante sont les principales espèces réactives de l'oxygène (**Roberts et al, 2010**).

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^-).
- Le radical hydroxyle (OH).
- Le monoxyde d'azote (NO).

Et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que :

- Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).
- Le peroxydinitrite ($ONOO^-$) (**Borg et Reeber, 2004**).

Tableau 2 : principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes) (Delattre *et al.*, 2005).

Endogènes	Exogènes
– NADPH oxydase	– Toxiques environnementaux
– Chaîne respiratoire	– Radiations ionisantes
– Mitochondriale	– Radiations UV
– Peroxysomes	– Champ électrique
– Cytochromes P450	– Xénobiotiques pro-oxydants
– Xanthine oxydase	– Cytokines pro-inflammatoires
– Cyclo-oxygénases	
– Lipo-oxygénases	

III.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003). Selon (Valko *et al.*, 2006), un antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres
- Chélater les métaux de transition
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles.

III.1.4.1. Classification des antioxydants

- ❖ **Les antioxydants endogènes** : Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme. L'organisme a également la capacité de synthétiser quelques antioxydants aussi retrouvés dans l'alimentation (Marfak, 2003). La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (la superoxyde dismutase, la catalase, hème oxygénase, peroxydoxine.....), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide

urique, bilirubine, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine,) (Pincemail *et al.*, 2002).

- ❖ **Les antioxydants exogènes** : Selon (Rice-evans *et al.*, 1995), les antioxydants exogènes sont des antioxydants naturels apportés par l'alimentation, les plus connus sont les caroténoïdes, ainsi que les composés phénoliques, et aussi les vitamines (E, C et A) (Djeridane *et al.*, 2006).

III.2. L'activité antibactérienne

III.2.1. l'antibiorésistance

La prospérité des antibiotiques a duré près d'un demi-siècle mais la situation actuelle inquiète. Selon l'OMS. (2014), l'antibiorésistance représentait une menace majeure internationale pour la santé publique et que son développement pourrait changer considérablement la prise en charge des maladies infectieuses dans les années à venir. Elle est le résultat d'une utilisation massive et irraisonnée des antibiotiques en santé humaine et animale, responsable d'un phénomène aux proportions alarmantes. L'émergence rapide de quelques souches résistantes sélectionnées après l'introduction d'un antibiotique, associée à une résistance transférable de manière épidémique est devenue monnaie courante dans le monde bactérien. Il est donc indispensable de prendre en considération les données pharmacologiques de l'antibiotique et notamment la posologie, la voie d'administration, la diffusion tissulaire et son métabolisme pour appréhender son efficacité. Celle-ci réside dans sa capacité à pénétrer dans la bactérie et à se fixer sur sa cible afin d'en perturber le fonctionnement physiologique. Si l'antibiotique perd une de ses facultés, il devient alors inefficace et le terme « résistance » prend tout son sens, la bactérie détenant le pouvoir de croître en présence de l'antibiotique.

En raison de l'émergence de maladies infectieuses et de la montée de la résistance microbienne, de nouvelles stratégies sont à l'étude pour résoudre ce problème. En raison du fait que des plantes ont été utilisées pendant des siècles pour traiter les infections, ils sont considérés comme une source importante de nouveaux agents antimicrobiens (Bereksi, (2018).

L'activité des antimicrobiens *in vitro* est déterminée en fonction de leur concentration, ils peuvent entraîner leur destruction (effet microbicide) ou empêcher leur multiplication (effet microbiostatique), par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Chacun des antibiotiques a son spectre d'action propre:

certains à spectre restreint ne sont efficaces que contre un groupe limité de microorganismes, certains n'attaquent que les bactéries gram négative, d'autres n'attaquent que les grams positive, d'autres enfin sont à large spectre. Ainsi les antibiotiques agissent sur: la synthèse du peptidoglycane (Bêtalactamines, Glycopeptides, Fosfomycines), les membranes (Polypeptides), la synthèse protéique (Macrolides, Aminosides, Phénicolés, Tétracyclines), la synthèse des acides nucléiques (Quinolones, Sulfamides) et le métabolisme intermédiaire (Sulfamides). L'action des antibiotiques est influencée par de nombreux facteurs: concentration microbienne, milieu, interaction avec un autre antibiotique,...etc. (Nauciel, 2000).

II.2.2. Techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne

La détermination de l'activité antibactérienne d'un composé consiste à le mettre en contact avec une souche bactérienne et d'observer les conséquences de son effet sur cette dernière. On rapporte ci-dessous les deux techniques de l'évaluation de l'activité antibactérienne les plus utilisées :

II.2.2.1. Méthode de dilution en milieu solide

La méthode de diffusion sur disque, est l'approche la plus ancienne et la plus utilisée dont le principe est relativement simple, en effet des disques de papier filters stériles sont imprégnés de différentes concentrations du produit à tester en solution puis déposés sur une gélose de Mueller-Hinton coulée préalablement dans des boites de pétri etensemencée avec une suspension de la bactérie à tester, c'est ainsi que les différentes concentrations de chaque disque du produit à tester vont diffuser en inhibant ainsi la croissance bactérienne. Après 24h d'incubation, la lecture des résultats de l'activité se fait par la mesure de la zone d'inhibition en mm. En effet ces zones d'inhibition doivent être uniformément circulaires (Richard *et al.*, 2007).

II.2.2.2. Méthode de dilution en milieu liquide

Dans une série de tubes à hémolyse stériles, on met des concentrations décroissantes et à un même volume du produit à tester, puis on rajoute à un même volume une culture de bactérie en phase exponentielle de croissance. Après une incubation de 18h à 24h la CMI est mesurée et toute croissance bactérienne est visualiser à l'œil nu caractérisée par un trouble ou un culot bactérien (CLSI, 2006).

II.2.2.2.1. Concentration minimale inhibitrice CMI

Elle correspond à la concentration minimale d'un antibiotique inhibant toute culture d'une souche bactérienne visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18h à 24h. Sa détermination s'effectue par l'observation d'un trouble correspondant à la croissance des germes étudiés. La CMI caractérise alors l'effet bactériostatique d'un antibiotique (**Jawetz et al., 1973**).

II.2.2.2.2. Concentration minimale bactéricide CMB

Elle correspond à la concentration minimale d'un antibiotique ne laissant que 0.01% ou moins d'une population bactériennes survivantes après une durée d'incubation de 18h à 24h à 37°C. Elle caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique (**Harley, 2010**).

La CMB est déterminée à partir de la CMI:

- Si le rapport CMI / CMB = 1 ou 2 l'antibiotique est bactéricide
- Si le rapport CMI / CMB = 4 à 16 l'antibiotique est bactériostatique
- Si le rapport CMI / CMB \geq 32 il y'a une tolérance des bactéries à l'antibiotique

II.2.3. Mode d'action des extraits des plantes contre les bactéries

Les extraits des plantes possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, elles sont efficaces contre un large spectre de microorganisme pathogène et non pathogène mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phase:

- Attaque de la paroi bactérienne par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Dorman, 2000**).



Partie II: Etude expérimentale



Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel biologique**I.1. Matériel végétal**

Bunium incrassatum a été récoltée de la région d'Oum el Bouaghi en Avril 2021 (stade de floraison). Après séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux, et broyées ensemble dans un moulin électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre, cette dernière est conservée dans un flacon en verre bien hermétique jusqu'à son utilisation.



Figure 3 : Représentation photographique de l'espèce *Bunium incrassatum* (photo personnel).

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations :

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos étude, parmi ces produits : Eau distillée, eau physiologie, Folin-ciocalteu, trichlorure de fer (FeCl_3), DPPH, carbonate de sodium, trichlorure d'aluminium (AlCl_3), méthanol, acide sulfurique, acide ascorbique, acide chlorique, réactif de Mayer, Fehling liqueur,

Parmi l'appareillage utilisé : étuve, spectrophotomètre UV vis à double faisceau 1200, , balance analytique avec chambre de pesée (Aventurer), vortex, étuve des bactéries à 37°C , bec bunsen, anse de platine, autoclave, bain marie,

II. Etude phytochimique**II.1. Préparation de l'extrait brut**

70g g de la matière végétale sèche et broyée a été soumise à une extraction par macération hydro alcoolique avec de méthanol 80 % dans l'eau distillée à la température ambiante du laboratoire. Cette opération est répétée 03 fois toutes les 24 heures. Les macéras

sont par la suite réunis et filtrés deux fois à travers un papier filtre ordinaire, puis évaporés presque à sec avec un évaporateur rotatif sous pression réduite et à température de 40 °C afin d'éliminer le méthanol (Boukri, 2014).

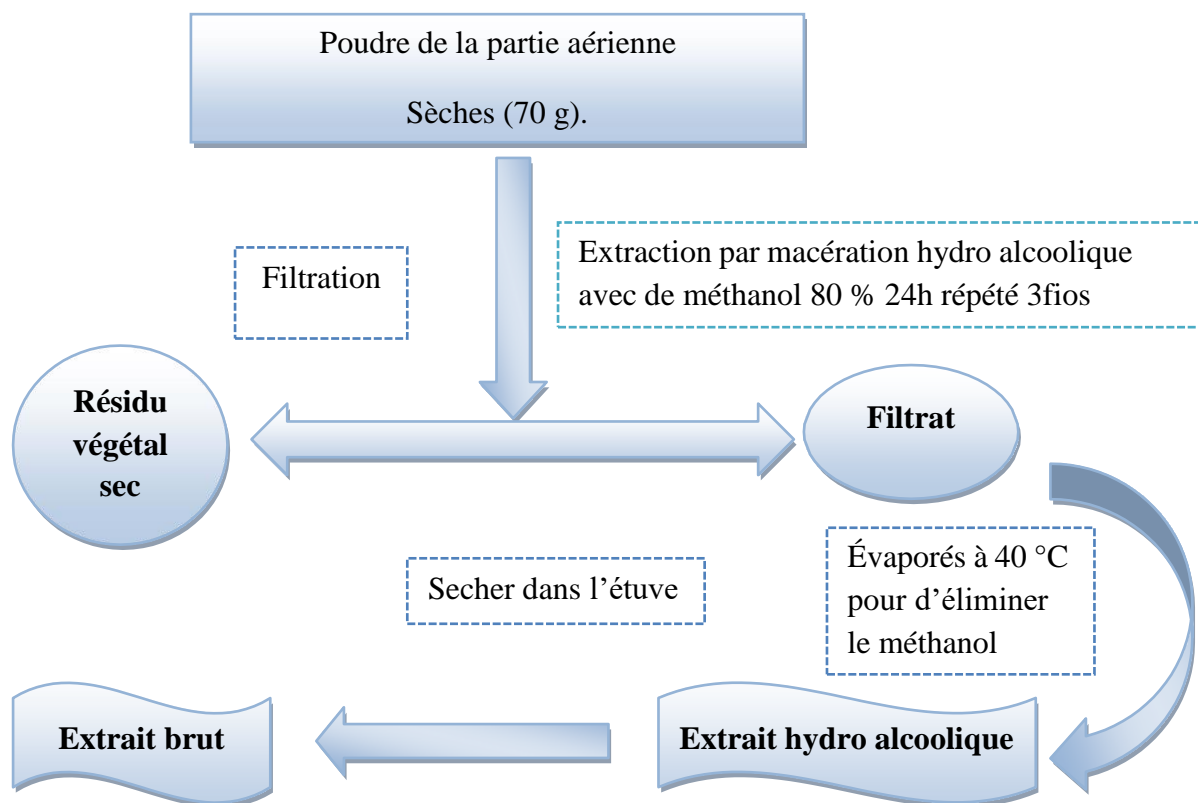


Schéma 1: Schéma de l'extraction de l'extrait brut (Boukri, 2014).

II.2. Détermination du rendement d'extraction

Le résidu ou la poudre obtenue d'extrait méthanolique est pesé pour la détermination du rendement selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{M \text{ extrait}}{M \text{ poudre}} \times 100$$

M poudre : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

M extrait: Poids de la poudre en gramme (g).

II.3. Screening phytochimique

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence ou l'absence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+++ : Très forte ; ++ : fort ; + : des traces ; - : l'absence

➤ **Test des composés phénoliques**

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl_3 y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (**Rosine et Momo, 2009**).

➤ **Recherche des flavonoïdes**

Traiter 5 ml de l'extrait préparé avec 1 ml de l'HCL concentré et ajouter une quantité de tournures de mg (3-4 graines) et laisser agir. La présence des flavones est confirmée par l'apparition d'une couleur virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacées (flavonones et flavonols) (**Lock et al., 2006**).

➤ **Recherche des composés réducteurs**

Introduire 2ml de l'extrait dans un tube à essai, et ajouté 2ml de la liqueur de Fehling après le mélange est porté au bain-marie bouillant durant 8 min, la présence des composés réducteurs est indiquée par l'obtention d'un précipité rouge brique (**Bentab et Lasгаа, 2015**).

➤ **Recherche des alcaloïdes**

1 ml de l'extrait est mélangé avec avec 5 gouttes de réactif de Mayer (Potassium Mercuriic Iodide), L'obtention d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (**Tiwari et Kakkar, 1990**).

➤ **Recherche des tanins**

L'ajout de trichlorure du fer (FeCl_3)1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence des tanins galliques, et au bleu verdâtre en présence des tanins catéchiques (tanins condensés) (**Dohou et al, 2003**).

➤ **Caractérisations des saponines**

Deux milligrammes de l'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée puis l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 ml de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15min de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de

mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (**Rosine et Momo, 2009**).

- ✓ Pas de mousse = test négatif
- ✓ Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- ✓ Mousse de 1-2 cm = test positif
- ✓ Mousse plus de 2 cm = test très positif

➤ **Détection des Terpenoïdes**

Pour 0,5 g de chaque extrait, nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes (**Ayoola et al., 2008**).

➤ **Détection des stéroïdes**

L'ajout de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait. 0,5 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés au mélange. Après agitation l'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (**Ayoola et al., 2008**).

➤ **Identification des polyuronides (pectines, mucilage et gencive)**

2 ml de l'extrait ont été ajoutés goutte à goutte dans un tube à essai où 10 ml d'acétone avaient déjà été placés, un précipité épais s'est formé indiquant la présence de polyuronides (**Zellagui et al, 2012**).

➤ **Test des mucilages**

La détection des mucilages est effectuée en introduisant 1ml d'extrait dans un tube à essai, et l'ajout de 5 ml d'éthanol pendant quelques minutes. Il apparaît un précipité qui témoigne leur présence (**Awor et al, 2003**).

II.4. Etude quantitative

II.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux de nos extraits butanolique et acétate d'éthyle a été effectué selon la méthode du réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu décrite par **Wong et al. (2006)**. Elle consiste à mélanger 100 µl d'extrait, 500µl du réactif de Folin -Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée pendant 4 min d'incubation. Le mélange ensuite est ajouté de 400 µl de carbonate de sodium 7.5%. Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures min. L'absorbance est mesurée à 765 nm et les résultats sont rapportés à une courbe étalon et exprimés en équivalent d'acide gallique.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par **Djeridane et al., (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. 500 µl de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation. La quantification des flavonoïdes a été évaluée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

III. Etude des activités biologiques

III.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Afin d'étudier l'activité anti-radicalaire de différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl), selon le protocole décrit par **Mansouri et al. (2005)**. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 µl des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 µl de solution méthanolique de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé selon l'équation:

$$\% I = [(Abs\ contrôle\ négatif - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle\ négatif] \times 100.$$

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont de l'ordre de (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 et 3mg /ml) pour l'extrait et pour le control positif l'acide ascorbique.

III.3.2. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par NCCLS. (2003) cité par Sokmen et ses collaborateurs. (2004).

III.3.2.1. Souches bactériennes

Six souches bactériennes ont été choisies pour leurs pathogénicités et leur implication fréquente dans plusieurs infections notamment les infections respiratoires et la diarrhée.

Tableau 3 : Les souches bactériennes testées.

Microorganismes	Souches testées
Bactéries Gram positif	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Staphylococcus</i> sp clinique
Bactéries Gram négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

III.2.2.2. Milieux de culture

Nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants : gélose nutritive et gélose Mueller Hinton.

III.2.2.3. Préparation de l'inoculum et des solutions d'extraits

Les souches bactériennes sont ensemencées sur gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18-24 h. Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une turbidité voisine à 0.5 Mc Farland. L'extrait de la plante a été dilué à raison de 200 et 100 mg par 1mL dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) puis filtrés sur une membrane de porosité 0.22 µm.

III.2.2.4. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri contenant le milieu Muller-Hinton. Une fois l'ensemencement est effectué, des disques de 6 mm de diamètre imprégnés de 10 µl de l'extrait (200 mg/ml, 100 mg/ml) sont déposés sur la surface de la gélose ensemencée. Des disques contenant l'antibiotique (témoin positif) et les disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés. Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

IV. Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques.



Chapitre II : Résultats et discussion

II. Etude phytochimique

II.1. Rendement d'extraction

Pour l'obtention de l'extrait méthanolique à partir de la partie aérienne de *Bunium incrassatum*, nous avons réalisé une extraction par macération dans le mélange (MeOH/H₂O: 80%). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4: La couleur, l'aspect et le rendement de l'extrait MeOH de la plante *Bunium incrassatum*

Matériel Végétal	Extrait	Aspect	Couleur	M (g)	Rendement (%)
<i>Bunium incrassatum</i>	MeOH	Huileux	Marron foncé	70	5,7

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que l'extrait méthanoïque obtenu possède un aspect huileux, une couleur marron foncée avec un rendement de 5,7 %, sachant que l'extraction a été réalisée par le méthanol à 80%.

Nos résultats indiquent que le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique de l'espèce *B.incrassatum* était supérieur à celui obtenu dans l'étude d'El Kolti *et al.* (2017) (1.82 %). De même, il était supérieur à celle obtenue à partir des tubercules récoltés de la région M'sila 3,36 % (Dehimi *et al.*, 2020). Cependant, Nos résultats sont inférieurs à ceux reportés par Karouche *et al.*, (2020), et Toul *et al.*, (2022), qui ont obtenus un rendement d'extraction de 7,81 % et de 7,1 % pour les tubercules récoltés de la région Aïn Dis de la wilaya d'Oum El-Bouaghi et les graines récoltés de la région Telemann, respectivement. En comparant au même genre *Bunium*, un rendement de 6,21 %, 2,31 % et 8,62 % a été enregistré chez *B.pinnatifolium*, *B.brachyactis* et *B.macrocarpum*, respectivement (Zengin *et al.*, 2019), Cependant, notre résultat était inférieur de celles représenté par Souilah *et al.* (2021), pour l'extrait hydro-méthanoïque de *B.crassifolium* (28,50 %).

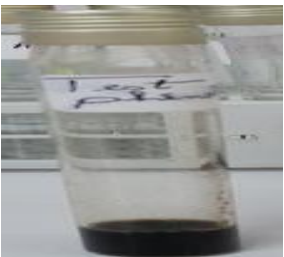
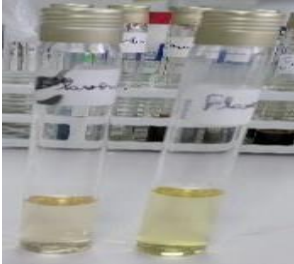

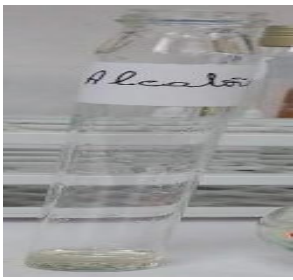
Selon Stalikas, (2007) ont indiqué que le rendement d'extraction est fortement affecté non seulement par la polarité du solvant, mais également par d'autres paramètres tels que la température, les parties de la plante et les durées de stockage. Bien que plusieurs facteurs doivent être pris en considération : La méthode d'extraction (extraite directement ou cloisonnée), le type de plante, les substances intrinsèques qui s'accumulent dans les tissus végétaux.







II.2. Etude qualitative

II.2.1. Screening phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques (Boukezata, 2014). Les résultats de ce criblage phytochimique effectués sur l'extrait méthanolique de la *Bunium incrassatum* sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau 5 : screening phytochimique de l'extrait méthanolique de *Bunium incrassatum*.

Les métabolites secondaire	Présence/absence	Observation	
Les composés phénoliques	+++	Présence une coloration bleue verdâtre	
Les flavonoïdes	+	Présence une légère couleur jaune	
Les composés réducteurs	+++	Présence une coloration bleu-vert	
Les alcaloïdes	-	Il n'y a pas de précipitations blanches	

Les Tanins	+++	Présence une coloration brune verdâtre	
Les saponines	+	Présence une petite épaisseur de 1 cm de la mousse	
Terpenoides	+++	Présence une couleur brune rougeâtre à l'interface	
Les stéroïdes	-	Il n'y a aucun anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert	
Polyuronides	+	Il y a un précipité épais au fond	
les mucilages	-	Il y a un précipité très léger	

+++ : Fortement positif+ : faiblement positif. ++ : Moyennement positif. - : négatif

Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique de *Bunium incassatum* a montré la présence de diverses classes des métabolites secondaires: les composés phénoliques, les terpenoïdes, les tanins, les composés réducteurs, les flavonoïdes, les polyuronides et les saponines, avec l'absence des stéroïdes, les mucilages et les alcaloïdes.

des observations pareilles sont notées pour l'extrait méthanolique obtenue à partir les tubercules récoltés de la région M'sila, la présences des flavonoïdes, des terpenoïdes, des tanins avec l'absence des saponines (Dehimi *et al.*, 2020). De même l'étude de Bousetla *et al.* (2011), qui ont permis de mettre en évidence la présence de deux coumarines: la scopolétine et scoparone. D'autre investigation phytochimique réalisée par Lefahal *et al.* (2017) sur les parties aériennes du *Bunium sp* a révélé la présence des flavonoïdes.

II.3. Analyse quantitative

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La concentration en polyphénol de l'extrait méthanolique de *Bunium incassatum* est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisons l'acide gallique comme référence. Le taux est exprimé en (μg EAG / mg extrait).

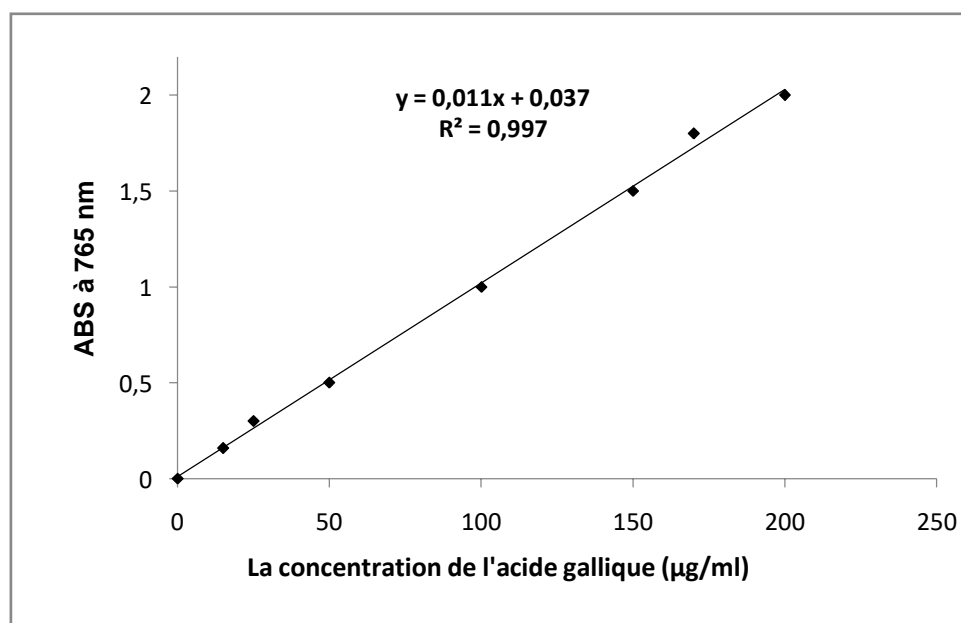


Figure 4: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 6 suivant. Les teneurs ont été rapportées en μg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait du matériel végétal.

Tableau 6: Teneur en polyphénols d'extrait MeOH de la plante *Bunium incrassatum*

Extrait	Teneur en polyphénols (μg EAG/mg)*
Extrait Méthanolique	107,3 \pm 2,56

*Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm écart type.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait de *Bunium incrassatum* est riche en polyphénol, dont la valeur est de 107,3 \pm 2,56 μg d'équivalent d'acide gallique /mg E.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la même espèce *Bunium incrassatum* (236,6 μg EQ/mg), déterminée par **El kolli et al. (2017)** est supérieure par rapport à celle obtenue dans notre travail. En fait, d'autres études ont été réalisées pour l'évaluation des teneurs en polyphénols du tubercule de la même variété: **Dehimi et al. (2020)** ont rapporté dans leurs travaux des teneurs plus faibles avec 13,00 μg EAG/mg E. **Karouche et al. (2020)** ont été montrés une teneur proche de notre étude (89,442 \pm 5,951 μg EAG/mg E).

Cette différence peut être attribuée au :

- La teneur en composés phénoliques variant en fonction de la saison de culture et de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, la maturité de la plante et la durée de conservation, ainsi que les méthodes d'extraction et des dosages différentes (**Bentahar et al, 2012**).

- La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (**Gomez et al., 2006**).

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation: $Y = 0,035x + 0,288$ ($R^2 = 0,995$). La quantité des flavonoïdes a été

rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

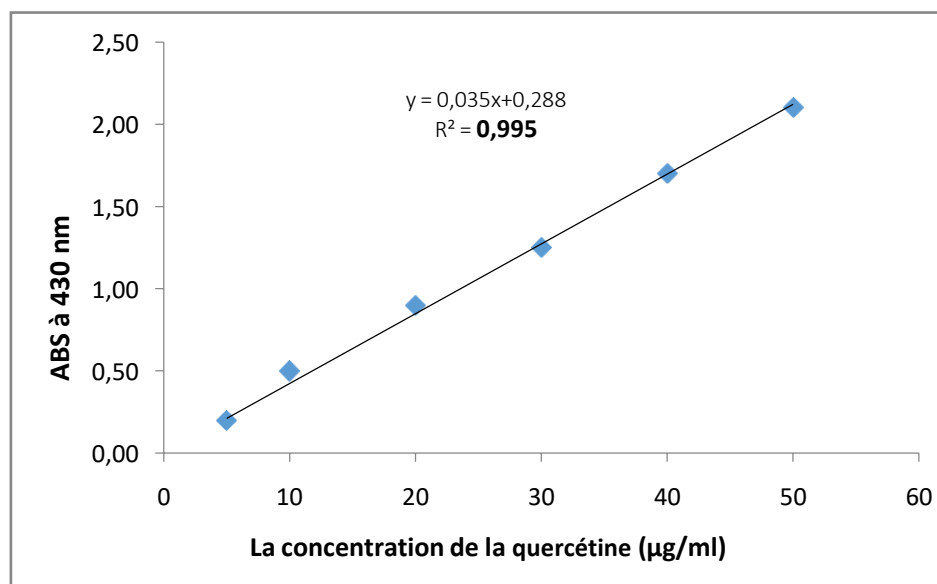


Figure 5: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des flavonoïdes.

Le tableau ci-dessous représente les résultats de dosage des flavonoïdes.

Tableau 7: Teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique de *Bunium incassatum*

Extrait	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mgE}$)*
Extrait méthanoïque	31,92 \pm 2,14

*Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm écart type

Dans la présente étude, on a obtenu des quantités en flavonoïdes de l'ordre de 31,92 \pm 2,14 $\mu\text{g EQ/mgE}$.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Dehimi et al. (2020)** (16,32 \pm 0.05 $\mu\text{g QE/mg E}$), **Aiouaz et Arezki. (2022)** (2,36 \pm 0,06 mg QE/gE), **Karouche et al., (2020)** (4,031 \pm 0,141 $\mu\text{g EAG/mgE}$), qui ont signalé des teneurs encore plus faibles dans l'extrait méthanolique obtenu à partir les tubercules de *B.incrassatum*. Autres observations ont été enregistrées par **Toul et al. (2022)**, une teneur en flavonoïdes plus élevé (72,07 \pm 3,80 mg CE/g E) pour l'extrait brut obtenu à partir les graines de la même variété.

Ces différences notées peuvent être dues à la variabilité des composés phénoliques entre les espèces du même genre ou les organes de la même espèce, voire aux conditions environnementales dans lesquelles les plantes ont poussé (**Küçükbay et al., 2020**). Aussi

peut être attribuée aux propriétés climatiques de la plante, à certains paramètres pendant leur croissance telles que: la salinité, la sécheresse et l'exposition solaire qui agissent sur la biosynthèse des métabolites secondaires, aussi sur la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisée (Ghedadba *et al*, 2014).

II.4. Les activités biologiques

II.4.1. L'activité antioxydante

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydant des extraits testés. L'activité antioxydante d'extrait méthanoïque de la partie aérienne de *Bunium incrasatum* vis-à-vis du radical DPPH est évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

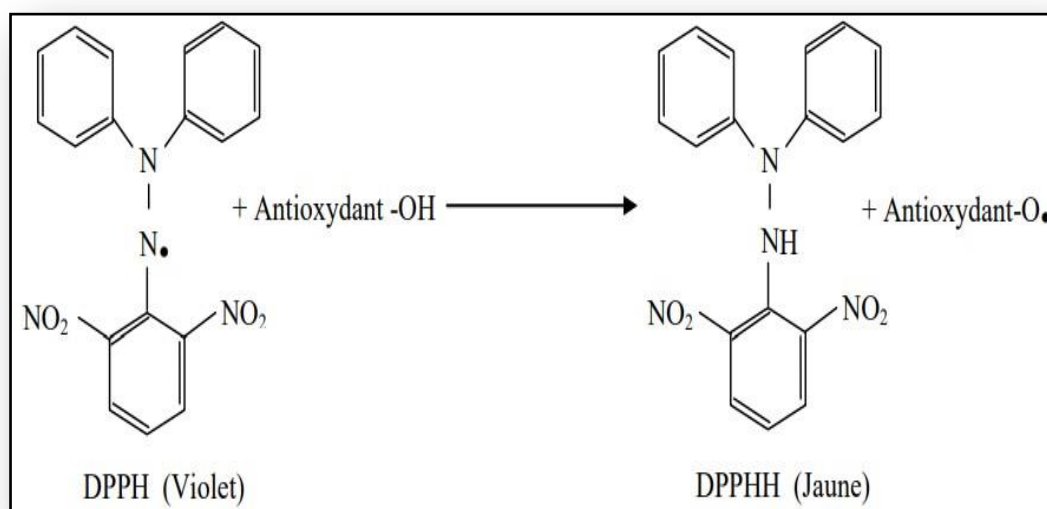


Figure 6 : Réaction d'un antioxydant avec le radical

Les résultats de l'activité antioxydante et le standard l'acide ascorbique sont représentés dans la figure suivante

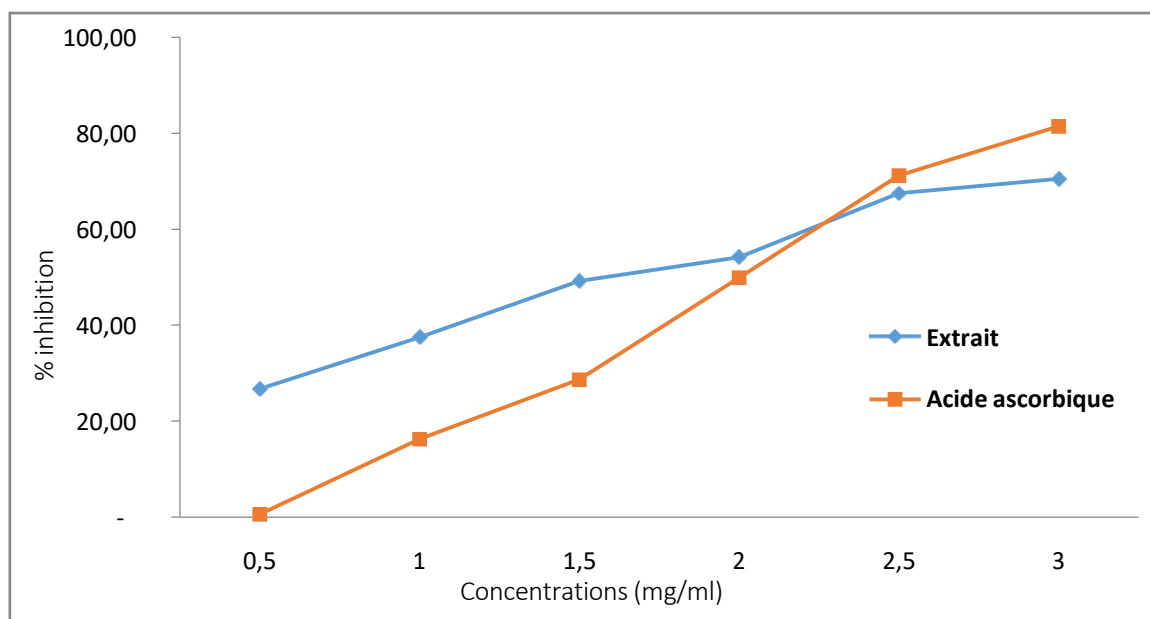


Figure 7 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait MeOH et l'acide ascorbique.

Les courbes comparatives illustrées dans la figure 7, montre que le pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de la partie aérienne (26,75%, 37,47%, 49,24%, 54,18%) est supérieur à celui de l'acide ascorbique (0,60%, 16,30%, 28,70%, 48,9%) pour toutes les concentrations respectivement de 0,5mg/ml, 1mg/ml, 1,5mg/ml, 2mg/ml. Pour les concentrations 2,5mg/ml et 3mg/ml, le pourcentage d'inhibition de l'extrait (67,54%, 70,53%) est inférieur à celui de l'acide ascorbique (71,20%, 81,44 0%).

On constate que le pourcentage d'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour les extraits méthanoliques de *Bunium incrassatum*. Il semble que l'activité anti-radicalaire est fortement dépendante aux concentrations d'extrait, Plus l'extrait est concentré, plus le pourcentage d'activité est élevé.

Nos résultats sont nettement inférieures, en comparant les pourcentages d'inhibition obtenus d'extrait MeOH des tubercules de la même espèce par rapport à ceux de **Karouche et al. (2020)**, qui ont trouvés des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 75.407%, 39.402%, 20.516%, 16.847% pour des faibles concentrations respectivement de: 0.4, 0.29, 0.22, 0.18 mg/ml.

Selon **Hebi et Eddouks, 2016**, IC_{50} est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande

Les calculs des IC_{50} sont schématisés sur le tableau suivant :

Tableau 8 : Valeurs des IC₅₀ de l'extrait étudié.

Les extraits	<i>Bunium incrassatum</i> *	Acide ascorbique*
Valeurs d'IC ₅₀	3,39±0,16	4,0160±0,0036

* Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± écart type

Les résultats présentés dans le tableau 8 montrent que l'extrait testé possède une activité anti radicalaire avec un IC₅₀ de l'ordre de 3,39 ±0,16 mg/ml respectivement. En comparons avec l'antioxydant de standard (l'acide ascorbique) qui a démontré un IC₅₀ de 4,0160 ±0,0036mg/ml, nous constatons que l'extrait possède une forte activité par rapport au standard.

Le travail réalisé par **Boustela et al., (2015)** a détaillé la composition chimique de l'extrait de *B. incrassatum* et il montre que cet extrait contient comme composés majoritaires des coumarines ; β-sitosterol et le sucrose en plus de l'acide oléique. La présence des coumarines dans l'extrait renforce son activité antioxydante (**Kapoor et al., 2010; Bougandoura et Bendimrad, 2013**).

Par contre, nos résultats sont inférieures à celles obtenus par: **El kolli et al. (2017)**, qui ont montré que l'extrait méthanoliques des parties aériennes de *B. incrassatum* possède une activité intéressante avec un IC₅₀ de l'ordre de 55,77±3,25 µg/ ml, et de **Toul et al, (2022)**, qui ont enregistré des valeurs importantes (d'IC₅₀= 0,15±0,02 mg/ml) pour l'extrait brut obtenu à partir des graines de la même variété.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent est de combiner les résultats de différents tests pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**Li et al., 2008 ; Tabart et al., 2009**).

II.4.2. Activité antibactérienne

Cette partie de notre étude a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne d'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Bunium incrassatum* vis-à-vis six souches bactériennes de référence. La méthode utilisée pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne est la diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Grâce à sa spécificité et à sa composition, ce milieu, souvent rencontré dans la littérature, permet une bonne croissance aux bactéries-tests tout en

offrant des résultats clairs (Woo *et al.*, 2002). Cette technique est basée sur la mesure de diamètre de la zone d'inhibition, en millimètre (mm), qui apparaît autour du disque imprégné d'extrait de la plante.

La sensibilité aux différents extraits est classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira *et al.*, 2005).

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition et de la sensibilité de l'extrait méthanolique sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 9: Diamètres des zones d'inhibition d'extrait méthanolique de *Bunium incassatum* vis-à-vis les bactéries testées.

Les souches Les concentrations	Diamètre de la zone (mm)*		Sensibilité
	100mg/ml	200mg/ml	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	R	R	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7	8	+
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	R	R	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	R	R	-
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	R	R	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	7	7	+

(*)Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition représentent la moyenne des mesures de deux essais \pm SD; **R**: résistante

A partir des résultats obtenus lors de cette étude, il apparaît que l'extrait méthanolique a réagi positivement uniquement avec deux souches de Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec des diamètres d'inhibition variant de 7 à 8 mm, et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 avec 7mm d'inhibition. Par contre, les souches de références *Escherichia coli* (ATCC 25922) *Bacillus cereus* ATCC 11778 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et d'origine clinique se révèle résistante pour les deux concentrations testées.

D'après la littérature consultée, les espèces de *Bunium* présentent généralement, un spectre d'activité antibactérienne étroit (moyen ou faible) vis à vis beaucoup de souches

testées. **Bousetla et al. (2014)**, ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *B. incrassatum* sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, ils ont trouvé des diamètres d'inhibition variant de 6 à 22 mm seulement. Aussi, l'extrait méthanoliques à partir des tubercules de la même espèce, a montré une sensibilité contre deux souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (**Dehimi et al., 2020**).

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante *Bunium incrassatum*, est généralement faible, il faut chercher d'améliorer les méthodes d'extractions, on peut aussi travailler sur d'autres métabolites comme les huiles essentielles ou bien de faire une combinaison de plusieurs extraits pour améliorer l'activité antibactérienne (**Boukezata et al., 2014**).



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives, ayant montré leurs efficacités dans le traitement de diverses pathologies, à l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à la mise en évidence des composés phytochimiques, d'estimer la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes et d'évaluer les antioxydants et antibactériens de l'extrait brute de la plante médicinale *Bunium incrassatum*.

Les résultats de criblage phytochimique de l'extrait obtenu par macération méthanoliques 80%, montrent la richesse de la plante en métabolites secondaires tels que: les composés phénoliques, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les composés réducteurs, les terpenoïdes et les polyuronides.

La teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux a été réalisée selon la méthode Folin-Ciocalteu et la méthode au nitrate d'aluminium, respectivement. Les résultats obtenus dans la présente étude ont révélé que notre extrait plus riche en polyphénols que des flavonoïdes avec des teneurs de $107,3 \pm 2,56 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $31,92 \pm 2,14 \mu\text{g EQ /mg E}$, respectivement.

Le potentiel anti-radicalaire de l'extrait a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats ont montré que l'extrait possède une bonne activité avec un IC_{50} égal à $3,39 \pm 0,16 \text{ mg/ml}$ par rapport au standard l'acide ascorbique IC_{50} de $4,0160 \pm 0,0036 \text{ mg/ml}$.

L'évaluation de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion en milieu gélosé sur six souches bactériennes, a montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *B. incrassatum* possède une faible activité antibactérienne, une sensibilité a été enregistré seulement contre deux bactéries: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (8mm) et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 (7mm) pour une concentration de 200 mg/ml.

L'extrait méthanolique présente des très bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie. En perspective, Il serait intéressant de compléter cette étude par:

- Réaliser des tests *in vivo* pour évaluer certaines activités thérapeutiques (activité antidiabétique, anti-inflammatoire, antifongique, antiviral...);
- Tester la présence d'autres molécules bioactives avec d'autres méthodes d'extraction ou même dans d'autres parties de la plante utilisée.
- Réaliser des tests *in vivo* sur des animaux de laboratoire afin d'assurer une étude complète de ces plantes suspectées d'avoir un effet antioxydante et antibactérienne.



Références Bibliographiques

A

Aiouaz M., Arezki B. (2022). *Bunium incrassatum* Bois. Trab (Talgouda) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats. Journal of fundamental and Applied Pharmaceutical science.

Atawodi SE., Bulus T., Ameh DA., Nok. AJ, Mamman M. (2003). Département de biochimie, Université Ahmadu Bello, Zaria, Nigeria. Journal Africain de Biotechnologie 2(9): 317-321

Awor R., Samseny R. (2003). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos IcajaBaillon* (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto - Stomatologie, Mali, 1:277-435

Ayoola G.A., Coker H.A., Adesegun S.A., Adepoju A.A., Obaweya K., Ezennia E.C. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7 (3): 1019-1024

B

Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, P 74.

Bentab-Lasgaa N. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredolia aretioides* et *Echium vulgare* de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, P 20-21.

Bentahar A., Khennouf S., Bouaziz A., Djidel S. (2012). Evaluation de la teneur en polyphénols et l'activité antioxydant des extraits aqueux des Ceratonia.

Bereksi M., Hassaine H., Bekhechi C., Abdelouahid D. (2018). Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants extracts commonly used in Algerian traditional medicine against some pathogenic bacteria 10(3):507-512.

Borg J., Reeber A. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. Pp: 217-219-220-223-225.

Bouderdara N. (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine, 210 p.

Bougandoura N., Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante. *Nature and Technologie*, 09 :14-19.

Boukezata A. (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium incrassatum*). Mémoire de Master. Université Ferhat Abbas, Sétif, 59p

Boukri N.E.H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 81p.

Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E, (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Review Plant Science* 161: 839–851.

Bousetla A, Zellagui A, Derouiche K, Rhouati S. (2015). Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3): 313–316.

Bousetla A., Zellagui A., Derouiche K., Rhouati S. (2011). Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8:313-316.

Bousetla A., Kurkcuglu M., Konuklugil B., Baser K.H.C., Rhouati S. (2014). Composition of essential oil from *Bunium incrassatum* from Algeria. *Journal of natural compounds*, 50:4.

Boyd B., Ford C., Koepke M., Gary K., Hom E., Mc Analley S., Mc Analley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*, 4(6): 7.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales

C

Chaabi M. (2008). Étude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. Et Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae) (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).

Chaudhuri S., Banerjee A., Basu K., Sengupta B and K. Sengupta P. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41: 42–4.

Chentouh S, Boulahbel S, Adjal F, Tolba M. (2018). Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des bios ressources*. 8 (2) : P 34-42.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) (2006). Document M42-A, Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Approved Guideline CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19:087-1898, USA,

D

Dehimi K., Djoudi Z., Boulaouad A., Maadadi A., Dahmana S., Khenffouf S. (2020). A Contribution to the Valorization of Two Medicinal Plants: *Atriplex Halimus Sub. Sp.Schweinfurthii* and *Bunium incrassatum*, growing in the Region of Msila (North-East Algeria). *Indian Journal of Novel Drug Delivery* 12(4): 208-216

Delattre J., Beaudoux J-L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques 14: 93-94.

Descheemaeker K., Provoost C. (1999). L'impact de la nutrition sur la santé, développements rcebt-1. Edition. Louvin-Garant, p 95.

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.

Dohou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L-M., Badoc A ., Gmira N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelae alythroides*. *Bull.Soc, Pharm.Bordeaux*.142:61-78.

Dorman H.J.D., Deans S.G, (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2): 308–316.

E

El kolli H., laouer H., el kolli M. (2017): chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from Algeria. Journal of the Chilean Chemical Society, 62:3335-3341

F

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 14:108-115p.

Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(4), 1220-1234.

Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament, observation du monde des.

G

Ghedadba N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S., Mouloud Y. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L., Algerian J. Nat. Products, 2: (2) 64-74

Gómez-Caravaca A. M., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A.,

Goodwin, T. W. (1971). Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry. Academic Press, Londres.

Graham L.P., Depovere P. (2002). Chimie pharmaceutique. Ed. De Boeck, p.154

Gutteridge, J. M. C. (2001). Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. Free Radical Research Communications, 19 (3): 171-158.

H

Halimi, A. (2017). Plantes médicinales en Algérie, Le samedi 24 juin 2017.

Halliwell B, (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutrition Reviews, 52: 253-265.

Harley J.P., (2010). Microbiology, Ed. De Boeck. p 101

Harmi N. (2012), Activité antidiabétique et anti-inflammatoire de *Capparis spinosa*, Mémoire Des Etudes Supérieures en Biologie.

Hebi M., Eddouks M., (2016): Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*, 14:17-22.

Hopkins W. G. (2003). Physiologie végétale. 2ème édition. Edition de Boeck Université, p 268,280.

J

Jassbi A., Mehrdad M., Soleimani M., Mirzaeian M., Sonboli A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Bunium elegans* and *Bunium caroides*. Chemistry of natural compounds, 41(4): 415-417.

Jawetz E., Melnick J., Adelberg E., (1973). Microbiologie médicale, 7(3): 273–275.

Justine, (2005). Systematic Parasitology. 62 (1) 39-45.

K

Karouche S., Benbott A., Henouda S., Malki S., Boudchicha I. (2020). Evaluation of Phenolic content and biological activities of *Bunium mauritanicum* tubers. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 12(2): 916-930.

Kebili Z. (2016). Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'Ephedra alata de la région d'Ouargla. 40. UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA.

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires 20(4) : 165-177

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.

Küçükbay FZ, Tekin Z(2020). Evaluation of phytochemical contents and antioxidant activity of pomegranate flower. Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry, 7(1):37–42.

L

Lefahal M. (2014). Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae. Thèse de Doctorat. Université de Constantine 1, Constantine, 127p.

Lefahal M., Zaabat N., Djarri L., Benahmed M et al., (2017). Evaluation of the antioxidant activity of extracts and flavonoids obtained from *Bunium alpinum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) and *Tamarix gallica* L. (Tamaricaceae). *Pharmacy and Medical Sciences* 30: 5-9.

Li H.B., Wong C.C., Cheng K.W., Chen F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food science and technology*, 41(3): 385-390.

Lock O., Cabello I., Doroteo V.H., (2006). Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry*, 20: 6-11.

Lonela S. (2015). Les plantes médicinales. *Yiesvlip* (04):52.

Lu Y, and L, Foo Y. (2001), “Antioxidant Activities of Polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*),” *Food Chemistry*, 75(2): 197-202.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V., Biro L. (2003). The rol of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47: 119 –125.

M

Mac Laren D. (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

Macheix J, Fleuriet A, Jay-Allemand Ch. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes, 192 p.

Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life. *Crit care* (10) :208-216.

Malecky, M. (2008). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins.

Malešev D., Kuntić V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10): 921-939.

Mansouri A., Embarek G ., Kokkalou E., Kefala P. (2005). Profil phénolique et activité antioxydante du fruit mûr du palmier dattier d'Algérie (*Phoenix dactylifera*) 89(3):411-420.

Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides (Doctoral dissertation, Faculté de Pharmacie, Université de Limoges), Pp : 24-42.

N

Nahdi A., Annie J., Raza H. (2018) Effets cytoprotecteurs de la N-acétylcystéine sur le stress oxydatif induit par la streptozotocine et l'apoptose dans les cellules β pancréatiques, 51(1): 201–216.

Nauciel C. (2000). Bactériologie médicale. P 55-64 .Ed Masson.

O

OMS : Organisation mondiale de la Santé, 2012. Médecine traditionnelle : des textes anciens aux nouveaux médicaments, 90 (8), pp 557-632.

Orban, J. C. (2010). Oxygène, stress oxydant. Chapitre : Désordres métaboliques et réanimation, p, 427-437.

Orhan, D.D., Özçelik, B. Özgen, S. & Ergun, F. (2010). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. Microbiological Research, 165 (6): 496-504.

P

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme, 16(4) :233-239.

Q

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (New Flora of Algeria and the Southern Desert Regions). (Editions CNRS: Paris.)

R

Raven H., Evert R.F., Eichhorn S.E. (2000). Biologie végétale. 6ème. traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université Paris. pp.944.

Rice-evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free radical research, 22(4):375-383.

Richard S., Steel-Moor L., Goodwin A.C., (2007). Antimicrobial susceptibility testing protocols Ed Goodwin Boca Raton: CRC Press, pp77

Roberts R et al, (2010). Vieillesse des radicaux libres et stress cellulaire, 22 : 266–272.

Rosine et Momo, (2009). Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*acalyphamma hirtum* (melastomataceae). Université de Dschang– Master en biochimie clinique et pharmacologie.

S

Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G. (2008). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2): 143- 164.

Small E., Catling P.M., (2000). Les cultures médicinales canadiennes. Presses scientifiques du CNRC, Ottawa (Ontario), Canada. p 281.

Sofiane M. (2018). Contribution à l'étude phytochimique et antibactérienne du myrte *Myrtus communis*. L., 1753 de la région de Collo. Région ouest de la wilaya de Skikda, Algérie.

Sokmen A., Gulluce M., Askin Akpulat H., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15: 627-634

Soualeh N., Soulimani R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1) :44-57.

Souilah N., Bendif H., Ullah Z., Miara M.D., Laib M., Öztürk M., Akkal S., Medjroubi K., Mustafa A.M. (2020). LC-MS/MS profiling of 37 fingerprint phytochemicals in *Oenanthe fistulosa* L. and its biological activities. *Natural Products Journal*, 10: 1-11.

Souilah N., Bendif H., Ullah Z., Hamel T., Djarri L., Öztürk M., Ertas A., Akkal S., Medjroubi K., Mustafa A.M. (2021). LC-MS/MS simultaneous determination of 37 bioactive compounds in *Bunium crassifolium* Batt. And its biological activities. *J Res Pharm*, 25(4): 450-463.

Stalikas, C.D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoïds. *Journal of Separation science* 30:3268-3295

Stephen R. D., Deborah S. K. Krzysztof S., (2000). A Phylogeny of Apiaceae tribe *Scanadiceae* evidence from nuclear ribosomal and internal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany* 87(1): 76–95.

Serge K., (2012). Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs Université de : Joseph Fourier.

T

Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne J.O., Dommes J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry, 113(4): 1226-1233.

Toul F., Meryem S., Farid B. (2022). Algerian *Bunium incrassatum* Seeds: Effects of extraction solvent polarity on phenolic and antioxidant activity. 9(2):415-422.

Tiwari and Kakkar H.P.A. (1990). Phytochemical examination of *Spilanthus acemella* (Murr.). Journal of the Indian Chemical Society, 67 (9):784–785.

U

Urquiaga I., Leighton F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Resrch, 33(22): 55-64

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-biological interactions. 160:1-40.

Vermerius W., Nicholson R, (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht. ISBN, 101: 4020-5163.

W

Woo J.H., Kitamura E., Myouga H., Kanei Y. (2002). An antifungal protein from the marine bacterium *Streptomyces* sp. Strain Ap77 is specific for *Pytium porphyrae*, a causative agent of red rad disease in *porphyra SPP*. Applied and Environmental Microbiology, 68(6): 2660–2665.

Y

Yazdani, D., Zainal Abidin, M.A., Tan, Y.H., amaruzaman, S., Jaganath, I.B. (2012). Screening of phytochemical from ethno medicinal plants in Malaysia for use against toxigenic *Aspergillus flavus*. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 5464-5468

Z

Zellagui A., Said N. L., Gherraf N., Rhouati, S. (2012). Phytochemical screening of five Algerian plants and the assessment of the antibacterial activity of two *Euphorbia guyoniana* extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 4(5): 1438-1444.

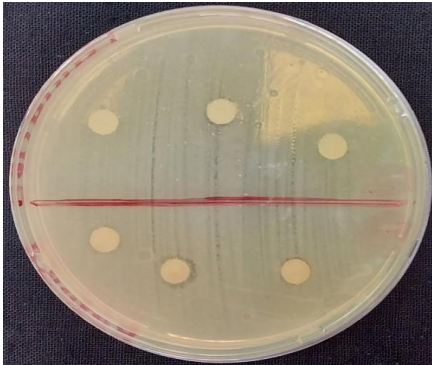
Zengin G., Paksoy M.Y., Aumeeruddy M.Z., Glamocilja J., Sokovic M., Diuzheva A., Jekó J., Cziáky Z., Rodrigues M.J., Custodio M., Mahomoodally M.F. (2019). New insights into the chemical profiling, cytotoxicity and bioactivity of four *Bunium* species. *Food Res Int*, 123: 414-424.



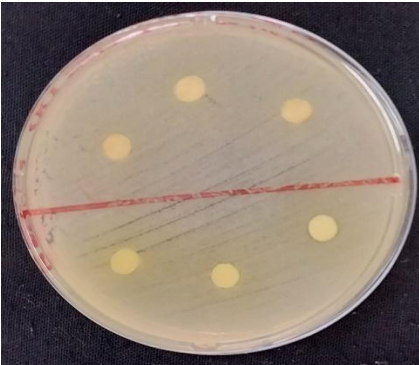
Annexes

Les annexes

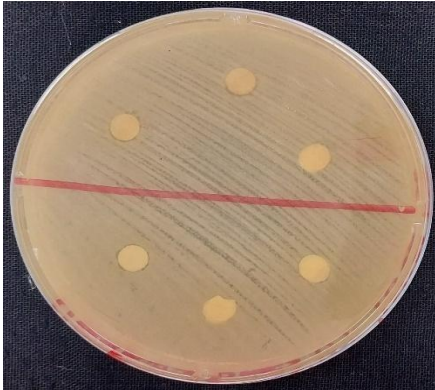
ANNEXE 1 : Résultats de l'activité antibactérienne



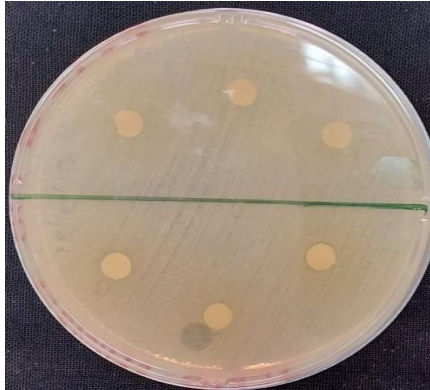
Pseudomonas aeruginosa
ATCC27853



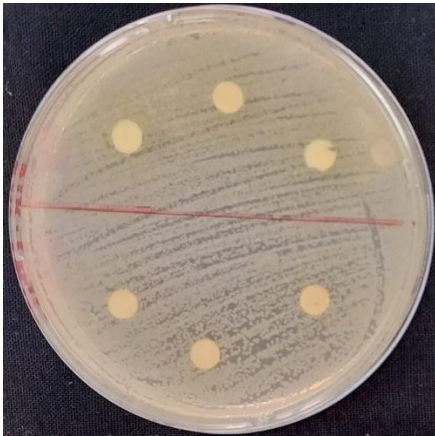
Bacillus Creus ATCC 11778



Klebsiella pneumoniae ATCC
4352



Staphylococcus aureus clinique



Escherichia coli ATCC 2592



Staphylococcus aureus TCC25923