



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCEN



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire de recherche: LAPRONA



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Sciences Biologiques

Option: Biochimie

Thème

Dosages des composés phénoliques et évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits des racines de *Daucus crinitus* Desf.

Présenté par

Zaouali Sarrah

Soutenu le, 26/06/2023 devant le jury composé de:

Dr CHAUCHE Tarik Mohammed	Président	MCA à l'Université de Tlemcen
Dr BELAID-MEDJDOUB Houria	Examinatrice	MCB à l'Université de Tlemcen
Dr CHAUCHE- HADDOUCHI Farah	Encadrante	MCA à l'Université de Tlemcen

Année Universitaire: 2022/2023

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, qui m'a donné la force et le courage d'aller jusqu'au bout de mes études.

Un remerciement spécial pour mon encadrante **Dr CHAUCHE Farah**, Maitre de conférences « A » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen). Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines qui resteront à jamais pour moi l'exemple.

J'exprime ma vive reconnaissance au **Dr. CHAUCHE Tarik Mohammed**, Maitre de conférences « A » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), d'avoir accepté de me faire l'honneur de présider le jury de ce travail.

Je remercie **Dr BELAID-MEDJDOUB Houria**, Maitre de conférences « B » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), je vous suis reconnaissante d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également de tout mon cœur *M^{elle} GUELLAI Imène*, Doctorante à l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse au laboratoire des Produits naturels, sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils.

En fin, un grand merci à tous mes amis et collègues pour leur soutien moral et matériel.

Dédicace

Avec joie, fierté et respect, Je dédie ce travail :

A mon cher père qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A ma chère mère qui a fait beaucoup des sacrifices et toujours été là pour moi.

A mes frères **Abbes et Mohammed** et à mes sœurs **Rachida et Rabea** qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études, que dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

A toute ma famille pour son soutien et son encouragement, je cite mes tantes,
Mes ancies ainsi que mes cousins et cousines.

A tous mes amis : **Yousra, Chifa, Ikram et Samah** qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

Sans oublier la promotion de master en Biochimie (2018/2023) sans exception.

Table des matières

ملخص

Résumé

Abstract

Liste de figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction générale

Partie bibliographique

CHAPITRE I : La plante étudiée *Daucus crinitus* Desf.

1	Famille des Apiacées	5
1.1	Généralités sur la famille des Apiacées	5
1.2	Distribution de la famille des Apiacées à travers le monde.....	5
2	Genre <i>Daucus</i>	6
3	<i>Daucus crinitus</i> Desf. :	7
3.1	Description botanique :	7
3.2	Classification systématique :	9
3.3	Domaines d'application et intérêt en phytothérapie :	10
3.4	Composition et activités biologiques :	10

Chapitre II : Les composés phénoliques

1	Définition :	13
2	Biosynthèse :	13
3	Classes de composés phénoliques :	15
3.1	Composés phénoliques simples:	15
3.1.1	Acides phénoliques:	15
3.1.2	Flavonoïdes :	17

3.2	Polyphénols complexes ou Tanins :	21
3.2.1	Tanins condensés ou Proanthocyanidines :	22
3.2.2	Tanins hydrolysables :	23
4	Activités biologiques des composés phénoliques :	23

Chapitre III: Le stress oxydatif et les antioxydants

1	Introduction :	25
2	Les radicaux libres :	25
3	Le stress oxydant :	27
4	Systèmes de défense antioxydants:	28
4.1	Les antioxydants endogènes enzymatiques:	28
4.1.1	La superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1):	28
4.1.2	La catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) :	29
4.1.3	La glutathion peroxidase(GPx) :	29
5	Les antioxydants exogènes, non enzymatique :	30
5.1	La vitamine C ou acide ascorbique:	30
5.2	La vitamine E :	30
5.3	Les caroténoïdes :	31
6	Méthodes de détermination de l'activité antioxydante :	31
6.1	Test de piégeage de 2,2-diphenyl picrylhydrazyl(DPPH') :	31
6.2	Test de 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS) :	32

Partie expérimentale

CHAPITRE I: Matériel et Méthodes

1	Produits chimiques et matériel utilisé :	34
2	Récolte de la plante étudiée :	35

3	Extraction hydro-méthanolique par soxhlet :.....	36
3.1	Principe :.....	37
3.2	Mode opératoire :.....	38
4	Extraction liquide-liquide par l'hexane :	38
5	Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits :	40
5.1	Polyphénols totaux :	40
5.1.1	Principe :	40
5.1.2	Mode opératoire :	41
5.2	Flavonoïdes totaux :.....	41
5.2.1	Principe:	41
5.2.2	Mode opératoire :	41
5.3	Tanins condensés :.....	42
5.3.1	Principe :	42
5.3.2	Mode opératoire :	42
6	Détermination de l'activité antioxydant, in vitro	42
6.1	Piégeage du radical DPPH[•] :.....	42
6.1.1	principe :.....	42
6.1.2	Mode opératoire:	43
6.2	Piégeage du radical ABTS³⁺ :	44
6.2.1	Principe :	44
6.2.2	Mode opératoire:	44
7	Analyses statistiques :	44

CHAPITRE II: Résultats et discussion

1	Les rendements en extraits obtenus :	46
---	--	----

2	Les teneurs en composés phénoliques :	47
2.1	Teneurs en polyphénols :	47
2.2	Teneurs en flavonoïdes :	48
2.3	Teneurs en tanins condensés :	49
3	Evaluation de l'activité antioxydante:.....	51
3.1	Piégeage du radical libre DPPH :	51
3.2	Piégeage du radical ABTS :	55

Conclusion générale et Perspectives

Références bibliographiques

ملخص

في إطار اكتشاف مضادات الأكسدة الجديدة من المصادر الطبيعية ، ركزت دراستنا على تقييم محتويات المركب الفينولي وكذلك على الخصائص المضادة للجذور لمستخلصات جزأين من جذور *Daucus crinitus* Desf من منطقة تلمسان (الجزائر) : القشرة والجزء الأبيض.

تم تقدير محتويات البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف بالطرق الطيفية. النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى ثراء قشرة *D. crinitus* في البوليفينول (7.16 ± 49.28 مجم EAG / جم ES) وفي الفلافونويد (0.78 ± 12.82 مجم EC / جم ES). محتويات العفص منخفضة ولكنها متقاربة في كلا الجزأين.

تم تقييم النشاط المضاد للجذور في القشرة والجزء الأبيض من خلال طريقتين لمحاصرة الجذور DPPH و ABTS ، تم إجراؤها في المختبر. يعتبر مستخلص القشرة أكثر فعالية (IC_{50} من 0.138 ± 0.004 مجم / مل لـ DPPH و 0.193 ± 0.001 مجم / مل لـ ABTS) من الجزء الأبيض. هذا النشاط أقل من نشاط المعايير.

تشير هذه النتائج إلى أن قشرة الجذر لـ *D. crinitus* هي مصدر معتدل للمركبات الفينولية ذات الإمكانيات المضادة للأكسدة.

كلمات المفتاحية : *Daucus crinitus* Desf ، المركبات الفينولية ، النشاط المضاد للجذور ، محاصرة الجذور ، DPPH ، ABTS

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, notre étude s'est concentrée sur l'évaluation des teneurs en composés phénoliques ainsi que sur les propriétés anti-radicalaire des extraits des deux parties de racines de *Daucus crinitus* Desf. de la région de Tlemcen (Algérie) : la croûte et la partie blanche.

L'estimation des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés a été réalisée par des méthodes spectrophotométriques. Les résultats obtenus indiquent la richesse de la croûte de *D. crinitus* en polyphénols ($49,28 \pm 7,16$ mg EAG/g ES) et en flavonoïdes (12.82 ± 0.78 mg/EC/g ES). Les teneurs en tanins sont faibles mais proches dans les deux parties.

L'activité anti-radicalaire dans la croûte et la partie blanche a été évaluée par deux méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS, réalisées *in vitro*. L'extrait de la croûte est plus puissant (CI_{50} de 0.138 ± 0.004 mg/ml pour le DPPH et de 0.193 ± 0.001 mg/ml pour l'ABTS) que celui de la partie blanche. Cette activité est inférieure à celle des standards.

Ces résultats suggèrent que la croûte des racines de *D. crinitus* est une source modérée de composés phénoliques à potentiel antioxydant.

Mots clés : *Daucus crinitus* Desf., composés phénoliques, activité anti-radicalaire, piégeage des radicaux, DPPH, ABTS.

Abstract

In the context of discovering new antioxidants from natural sources, our study focused on the evaluation of phenolic compound contents and the free radical scavenging properties of extracts from the two root parts of *Daucus crinitus* Desf. from Tlemcen (Algeria) : The rind and the white part.

Spectrophotometric methods were used to estimate polyphenol, flavonoid, and condensed tannin content. The results obtained indicate the richness of *D. crinitus* rind in polyphenols (49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES) and flavonoids (12.82 ± 0.78 mg/EC/g ES). Tannin levels are low but close in both parts.

Anti-radical activity in the rind and white part was assessed by two radical scavenging methods, DPPH and ABTS, performed in vitro. The rind extract is more potent (IC₅₀ of 0.138 ± 0.004 mg/ml for DPPH and 0.193 ± 0.001 mg/ml for ABTS) than the white part extract. This activity is lower than that of the standards.

These results suggest that *D. crinitus* root rind is a moderate source of phenolic compounds with antioxidant potential.

Keywords: *Daucus crinitus* Desf. Phenolic compounds, antiradical activity, radical scavenging, DPPH, ABTS.

Liste des figures:

Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiacées.....	6
Figure 02: Structure du noyau phénol.....	13
Figure 03 : Grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques	14
Figure 04: Structure chimique de base des flavonoïdes.....	18
Figure 05: Structure chimique des flavonols.....	19
Figure 06: Structure chimique des flavones.....	19
Figure 07: Structure chimique des flavanones.....	20
Figure 08: Structure chimique des anthocyanidines.....	21
Figure 9: Structures chimiques des monomères (a) et (b) des polymères flavan-3-ol.....	22
Figure 10: Structure de l'acide gallique (à gauche) et de l'acide ellagique (à droite).....	23
Figure 11: Déséquilibre entre pro-oxydants et les antioxydants.....	27
Figure 12: Structure de l'acide ascorbique.....	30
Figure 13 : Structure chimique du radical libre <i>DPPH</i> [•]	32
Figure 14: Structure de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) <i>ABTS</i> ^{•+}	32
Figure 15: Situation géographique de la région Béni Mester (Tlemcen).....	35
Figure 16: Appareil type soxhlet.....	37
Figure 17 : Schéma du protocole expérimental.....	40
Figure 18: Forme réduite du radical <i>DPPH</i> [•]	42
Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	48
Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	49
Figure 21: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	50
Figure 22: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de la croûte.....	52
Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de La partie blanche.....	52
Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de BHA.....	53

Figure 25: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait de la croûte.....	55
Figure 26: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait de la partie blanche	55
Figure 27: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations du Trolox	56

Liste des photos

Photo 01 : Racine de <i>Daucus crinitus</i> Desf.....	8
Photo 02: Fruits de <i>D. crinitus</i> Desf.....	8
Photo 0 3: Fleurs de <i>D. crinitus</i> Desf.....	9
Photo 0 4: Etapes de préparation des deux échantillons	36
Photo 05: Extrait d'hexane (huile)	47
Photo 06: Test DPPH de l'extrait de la croûte.....	54

Liste des tableaux:

Tableau 01: Principaux acides hydroxybenzoïques	16
Tableau 02 : Principaux acides hydroxycinnamiques	17
Tableau 3: Rendements en extraits.....	46
Tableau 4: Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les deux parties de <i>D. crinitus</i> Desf.....	50
Tableau 5: Valeurs de CI ₅₀ des extraits et du BHA.....	53
Tableau 6: Valeurs de CI ₅₀ des extraits et du Trolox.....	56

Introduction générale

L'utilisation des plantes médicinales remonte à des milliers d'années et constitue une pratique répandue dans de nombreuses cultures à travers le monde. Les plantes médicinales sont connues pour leur richesse en métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, qui possèdent des propriétés bioactives importantes. Ils sont largement étudiés pour leur activité antioxydante (**Selka et al., 2021**), qui joue un rôle essentiel dans la prévention des maladies chroniques liées au stress oxydatif qui est un phénomène biologique résultant d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité des systèmes de défense de l'organisme à les neutraliser. Ces radicaux libres sont des molécules très réactives qui peuvent endommager les cellules et les tissus, contribuant ainsi au développement de diverses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement prématuré (**Favier, 2003**).

Les antioxydants naturels sont des composés d'intérêt, largement étudiés dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires. L'objectif de ces études est de trouver des molécules capables de protéger l'organisme contre les effets néfastes du stress oxydant, tout en remplaçant les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Ces derniers sont couramment utilisés pour empêcher ou retarder l'oxydation mais présentent une certaine toxicité pour les consommateurs (**Lisu et al., 2003**). Il est donc intéressant d'étudier les propriétés antioxydantes des composés phénoliques, face aux obstacles que présente l'utilisation de ces additifs de synthèse.

C'est dans ce contexte que le présent travail a pris naissance, sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante d'une plante de l'Algérie qui, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Il s'agit de *Daucus crinitus* Desf., une plante médicinale traditionnellement utilisée pour traiter diverses affections. C'est une espèce qui a suscité un intérêt croissant en raison de ses propriétés médicinales. Ce document est divisé en trois parties :

- La première aborde une étude bibliographique qui donne des approches sur : les composés phénoliques, les oxydants et antioxydants et la plante étudiée ;
- La deuxième illustre le matériel et les méthodes utilisés pour les dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins et pour l'activité anti-radicalaire par piégeage des radicaux DPPH et ABTS ;
- La troisième est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Enfin, notre étude s'achève par une conclusion générale et des perspectives pour le futur.

Partie bibliographique

CHAPITRE I

La plante étudiée

Daucus crinitus Desf.

1 Famille des Apiacées:

1.1 Généralités sur la famille des Apiacées :

La famille des Apiacées, anciennement connue sous le nom d'Ombellifères, regroupe près de 3820 espèces réparties en 466 genres (**Plunkett et al., 2018**), principalement présentes dans les régions tempérées du monde. Cette famille est relativement homogène et se distingue notamment par son inflorescence caractéristique, l'ombelle. Elle comprend une grande diversité de plantes, allant des herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, aux arbustes occasionnels (**Moreau, 1960**).

Elles se caractérisent par leurs tiges creuses et leurs feuilles divisées en segments fins et allongés. Les fleurs sont petites et regroupées en ombelles avec des rayons partant d'un point central (**Loret, 1892 ; Plunkett et al. 2018**).

Les Apiacées jouent un rôle écologique important en tant que sources de nourriture pour de nombreux insectes pollinisateurs, tels que les abeilles et les papillons (**Ozenda, 1958**). Les ombelles fournissent un endroit idéal pour les insectes qui se posent et se nourrissent du nectar des fleurs (**Moreau, 1960**).

1.2 Distribution de la famille des Apiacées à travers le monde :

La répartition de cette famille est clairement illustrée dans la **figure 01**. Elle est plus fréquente dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale. Les différents genres de cette famille se répartissent sur les différents continents, avec une prédominance en Asie, qui compte 265 genres, suivie de l'Amérique avec 197 genres, de l'Europe avec 139 genres, de l'Afrique avec 126 genres, et enfin de l'Australie avec 36 genres (**Pimenov et Leonov, 1993**).

En Algérie, la famille des Apiacées joue un rôle majeur dans la composition de la flore. On y dénombre 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) ainsi que 26 sous-espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

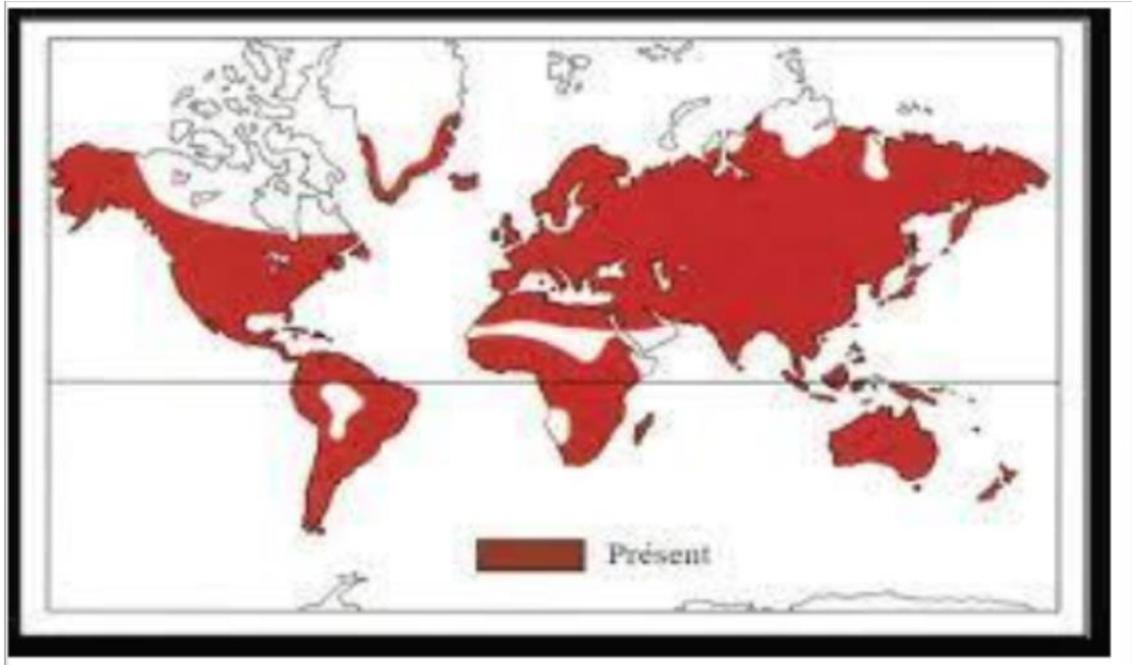


Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiacées

2 Genre *Daucus* :

Parmi les quelques 3000 espèces de la famille des Apiacées, le *Daucus* est considéré comme étant le genre le plus difficile à définir. Ce genre comprend environ 30 espèces de plantes herbacées, comprenant des plantes annuelles, bisannuelles et vivaces.

Il est largement répandu à travers le monde, avec son centre de dispersion présumé dans la région méditerranéenne, en particulier en Afrique du Nord. Il convient de noter que la répartition exacte des espèces du genre *Daucus* peut varier en fonction de chaque espèce spécifique. Certaines espèces peuvent être plus répandues dans certaines régions, tandis que d'autres peuvent être plus localisées (Mazzoni et Tomi, 1999).

En Algérie, le genre *Daucus* est représenté par des espèces qui se trouvent dans des zones arides et incultes, le long de la côte ouest algérienne (Mazzoni et Tomi, 1999). La carotte cultivée, connue sous le nom scientifique de *D. carota*, est l'espèce la plus connue de ce genre. Elle est appréciée non seulement pour ses racines comestibles, mais aussi pour ses propriétés médicinales. En effet, les racines des carottes sont réputées pour avoir des effets bénéfiques tels que des propriétés hypotensives, diurétiques, carminatives, stomachiques et hypolipémiantes (SáenzLáin, 1981).

3 *Daucus crinitus* Desf. :

3.1 Description botanique :

D. crinitus Desf. est l'une des 11 espèces du genre *Daucus* qui poussent en Algérie. Elle est présente en Afrique du Nord, notamment au Maroc, et dans la péninsule ibérique, en Espagne et au Portugal (**Dash et mohanty, 2001 ; Bendiabdellah et al., 2012**). En Algérie, on peut la trouver sur les monts Atlas ainsi que sur les collines non cultivées près de Mascara et de Tlemcen (**Bendiabdellah et al., 2012**).

Cette plante présente des tiges dressées qui peuvent dépasser les 50 cm de longueur, ainsi que des feuilles divisées en de nombreux segments linéaires pseudoverticillaires, mesurant généralement entre 10 et 20 cm. Les feuilles basales sont poilues, nombreuses et subérectes. Les ombelles de cette plante sont convexes ou plates, avec des rayons inégaux. Les racines de cette espèce sont pivotantes, non nébuleuses, et mesurent environ 6 cm de long (**Photo 01**). Les fruits sont de petite taille, avec un poids moyen de 3,25 g pour 1000 graines (**Photo 02**). Sa période de floraison se situe au début du printemps (**Photo 03**) (**Bendiabdellah et al., 2012**).

D. crinitus Desf. se caractérise par la présence de nombreuses sous-espèces qui colonisent les sables et les falaises. En Algérie, cette plante est localement connue sous le nom de « **Fassoukh** » et « **Eurq Sidi Messaoud** ». Dans la région de Tlemcen, les habitants la connaissent sous le nom commun de « **Bouzeffour** » (**Lanfranchi et al., 2010 ; Bendiabdellah et al., 2012**).



Photo 01 : Racine de *Daucus crinitus* Desf. (photo prise par nous même)



Photo 02: Fruits de *D. crinitus* Desf. (Bendiabdellah et al., 2012)



Photo 0 3: Fleurs de *D. crinitus* Desf. (Bendiabdellah et al., 2012).

3.2 Classification systématique :

La systématique de cette espèce est la suivante (Brands, 2000 ; Botineau, 2010) :

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement :** Tracheophyta
- **Sous-embranchement :** Euphyllophytina
- **Infra-embranchement :** Radiatopses
- **Sous-règne :** Viridaeplantae
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Sous- classe :** Cornidae
- **Superordre :** Aralianae
- **Ordre :** Araliales
- **Famille :** Apiaceae
- **Sous- famille :** Apioideae
- **Tribu :** Caucalideae
- **Genre :** *Daucus*
- **Espèce :** *D. crinitus* Desf.
- **Synonyme :** *D. meifolius*

3.3 Domaines d'application et intérêt en phytothérapie :

Une enquête réalisée par des herboristes a révélé que les racines de *D. crinitus* est traditionnellement utilisée depuis longtemps de différentes manières (**Lanfranchi et al., 2010**):

- Les racines étaient utilisées pour préparer une boisson sous forme de décoction, destinée à faciliter l'expulsion du placenta après l'accouchement. Cette boisson était également prise comme tonique.
- Les racines broyées étaient ajoutées aux aliments comme épices, notamment dans les plats de pâtes alimentaires.
- Les racines étaient parfois coupées et utilisées pour confectionner des bracelets portés autour des bras des enfants qui avaient du mal à dormir, car il était supposé que l'odeur de la plante avait un effet apaisant.
- Les racines étaient également utilisées comme ingrédient dans la fabrication d'un colloïde au miel.

3.4 Composition et activités biologiques :

Quelques études ont été réalisées sur la composition et les activités de *Daucus crinitus* d'Algérie. Il s'agit de :

- Analyses chimiques des extraits des tiges et des feuilles, a permis d'identifier la présence de divers groupes chimiques, notamment des tanins (**Abdoune et al., 2013**), des flavonoïdes, des acides phénoliques (**Bendiabdellah et al., 2012 ; Abdoune et al., 2013**), des coumarines, des sucres réducteurs, des stéroïdes et des terpènes (**Abdoune et al., 2013**).
- Les huiles essentielles des racines et de la partie aérienne de la plante ont été analysées par CG-IR et CG-SM, révélant la présence de 72 et 79 composés, respectivement. L'huile des racines était principalement composée de substances aliphatiques (87,0%-90,1%), telles que le dodécyl acétate (30,3%-48,2%), l'undécane (14,4%-34,1%) et le dodécanal (16,7%-26,3%). En revanche, l'huile de la partie aérienne était principalement composée de phénylpropanoïdes (43,1%-88,6%), notamment l'isochavicolisobutyrate (39,0%), l'acétate d'octyle (12,3%) et l'isochavicol (29,6 à 34,7%)(**Dib et al., 2010**).
- L'extrait méthanolique a montré une forte capacité à neutraliser les radicaux libres grâce à son activité antioxydante élevée, testée par la méthode de DPPH (**Bendiabdellah et al.,**

2012). En augmentant la concentration des extraits, nous avons observé une augmentation de leur capacité à réduire le fer (**Dib et al., 2010**).

- L'huile essentielle de *D. crinitus* présente une activité antimicrobienne et antifongique modeste contre les champignons nuisibles aux plantes (**Lanfranchi et al., 2010**). Des extraits organiques dérivés des tiges et des graines ont également démontré un effet antimicrobien significatif (CMI = 0,31-0,83 mg/ml) contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Candida albicans*. Ces extraits contiennent diverses familles de composés phytochimiques tels que les coumarines, flavonoïdes, sucres réducteurs, stéroïdes, tanins et terpènes (**Abdoune et al., 2013**). De plus, la fraction insaponifiable de *D. crinitus* présente des propriétés antimicrobiennes contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans* (**Dib et al., 2010**).

Chapitre II
Les composés phénoliques

1 Définition :

Le terme «composés phénoliques» concerne à la fois les mono-, les di-et les polyphénols, dont les molécules contiennent une, deux ou plusieurs fonctions phénolique, une structure chimique composée d'un cycle benzénique (un noyau phénol) lié à un ou plusieurs groupe hydroxyle—*OH*) (**figure 02**) (**Macheix et al., 2005**). Ce sont les métabolites secondaires les plus abondants dans le règne végétal avec plus 8000 structures phénoliques connues. Ces molécules sont aussi les plus omniprésents dans notre vie (**Xu cong-cong et al., 2017 ; kabran et al., 2014**) et ont des vertus thérapeutiques et protectrices bien connues contre plusieurs maladies (cancers, Alzheimer, troubles cardiovasculaires,). Elle sont très connues par leurs propriétés antioxydantes (**kabran et al., 2014**).

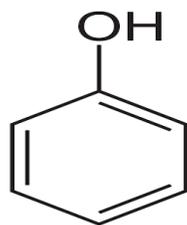


Figure 02: Structure du noyau phénol

2 Biosynthèse :

La voie de l'acide shikimique est responsable de la formation de la phénylalanine et de la tyrosine. La désamination de ces derniers conduit aux acides hydroxycinnamiques dont leurs esters avec COA sont à leur tour à l'origine de la plupart des classes de composés phénoliques. On peut indiquer quelques orientations majeures (**figure 03**) (**Machiex et al., 2006**):

- Les acides de la série benzoïque, et qui conduisent aux tanins hydrolysable par combinaison des sucres avec l'acide gallique ;
- Esters hydroxycinnamiques par estérification avec un acide alcool exemple d'acide quinique ;
- Coumarines, par cyclisation interne des molécules suivie par leur modification (glycosylations, prénylation...);
- Lignine par deux réductions successives conduisant aux monolignols, suivie d'une polymérisation oxydative par la présence de la peroxydase et la laccase ;

- Flavonoïdes par la condensation chimique des chalcones. Ils sont d'origine mixte, d'une part une molécule de p-coumaryl CoA pour le cycle B et l'hétérocycle, d'autre part trois maillon acétate (apportés sous forme de malonyl CoA) pour le cycle A.

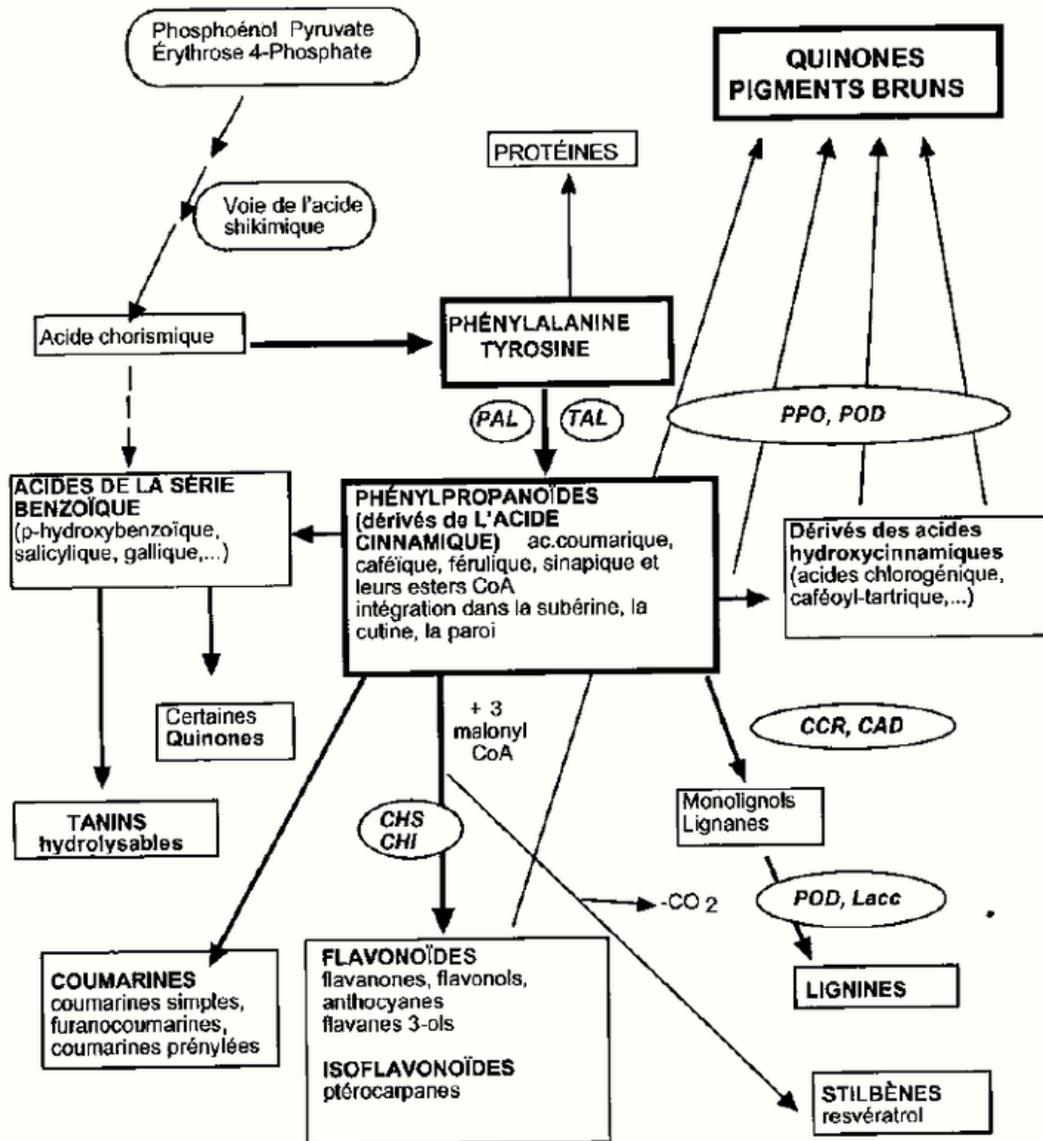


Figure 03 : Grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques (Macheix, 1996).

PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : cinnamate CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS : chalconesynthase ; CHI : chalconeflavanone isomérase ; PPO : polyphénoloxydases ; POD : peroxydases ; Lacc : laccases

3 Classes de composés phénoliques :

Une classification simple tente de diviser les composés phénoliques en composés phénoliques simples et en polyphénols complexe (polymérisée) (Goleniowski et al., 2013) qui différencient entre ces classes par le nombre d'atome de carbone constitutif et la degré de la modification de la structure de base du squelette carbone (degré d'oxydation, d'hydroxylation et méthylation ...) (Macheix, 1996).

3.1 Composés phénoliques simples:

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches. On les trouve dans de nombreux aliments, plantes et produits dérivés (Macheix et al., 2005). Parmi ces composés, on donne quelques détails sur les acides phénoliques et les flavonoïdes.

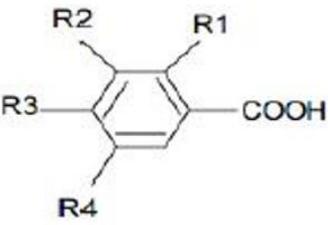
3.1.1 Acides phénoliques:

Ces composés contiennent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique et sont représentés par deux sous classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et celles de l'acide hydroxycinnamique (Bruneton, 2008).

a) Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque:

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base C₆-C₁ qui existent souvent sous forme d'ester ou de glucosides. Ils sont présents chez gymnospermes et les angiospermes et ils sont libérés suite à une hydrolyse alcaline de la lignine et de certains tanins (Machiexet al., 2005). Les principaux acides hydroxybenzoïques sont répertoriés dans le tableau 01.

Tableau 01: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni et Cheynier, 2006).

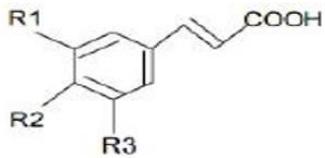
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy Benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide Protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

b) Les dériver des acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques sont dérivés de l'acides cinnamique et ont un structure de base C₆-C₃. Le degré d'hydroxylation et la modification du cycle benzénique conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules (Machiex et al., 2005).

Ces acides sont rarement présents à la forme libre et sont abondants dans le café, la pomme, les épinards et le chou. Les principaux acides hydroxycinnamiques sont représentés dans tableau 02.

Tableau 02: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

3.1.2 Flavonoïdes :

Le terme « flavonoïdes », nommé d'après leur couleur jaune dans la nature (Flavus en latin = jaune). Ces composés sont considérés comme des pigments universels des végétaux, souvent responsables de la conférés la couleur aux fleurs et aux feuilles (Ono et al., 2006). Ils sont impliqués dans des processus divers comme la protection UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de la fixation d'azote et la résistance aux maladies (crozier, 2003).

Les flavonoïdes sont localisés dans une grande variété d'aliment (les fruits, les légumes, les herbes, les boissons et les huiles) et l'apport en flavonoïdes peut varier entre 80 à 500mg, en fonction de la consommation alimentaire (Pier, 2000).

Ils représentent une très large gamme de composés naturels et se présentent sous forme libre (aglycones), liés aux glucides (glycosylés) ainsi qu'aux dérivés méthylés (Bouakaz, 2006 ; Kristýna et al., 2018).

a) Structure chimique et classification :

On dénombre près de 6500 structures de flavonoïdes différentes, décrites chez les végétaux (Belkhiri et Belghiani , 2017).

Tous les flavonoïdes possèdent un squelette de base de flavone (figure 04) à 15 carbones (C₆-C₃-C₃) avec deux cycles benzénique (A et B), reliés par une chaîne linéaire à trois carbones pour former un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Kutaiba et Mohamed, 2012).

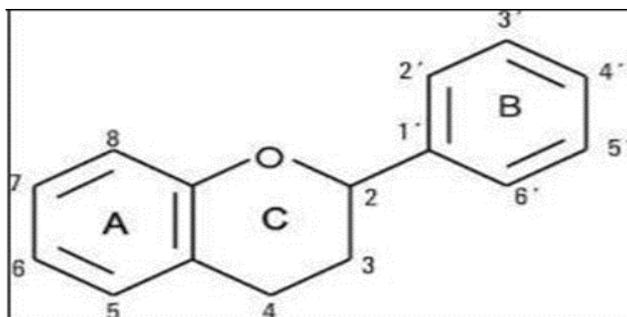


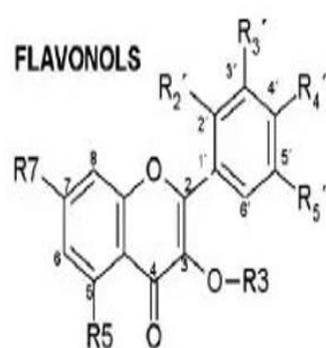
Figure 04: Structure chimique de base des flavonoïdes

Ils peuvent être subdivisés en différentes classes, selon le degré d'insaturation, le carbone de cycle C auquel le cycle B est attaché et aussi le degré d'hydroxylation et d'oxydation. On distingue (**karak, 2019**):

- **Les néo-flavonoïdes** : le cycle B est lié en position 4 d'anneau C ;
- **Les iso-flavonoïdes** : le cycle B est lié en position 3 d'anneau C ;
- **Les bio-flavonoïdes** : le cycle B est lié en position 2 d'anneau C. Cette classe se divise en différents sous-groupes sur la base de caractéristiques structurales d'anneau C. Il s'agit des flavones, flavonols, flavonones et anthocyanidines.

Les flavonols sont largement répandus et colorent les fleurs et les fruits en jaune. Ils se caractérisent par la présence d'un groupement hydroxyle en C₃ d'un cycle C et double liaison entre C₂ et C₃. Ils contiennent en plus des groupements hydroxyles en position 6 ou 8 du cycle A (**Machiex et al., 2005 ; Teng et Chen, 2019**).

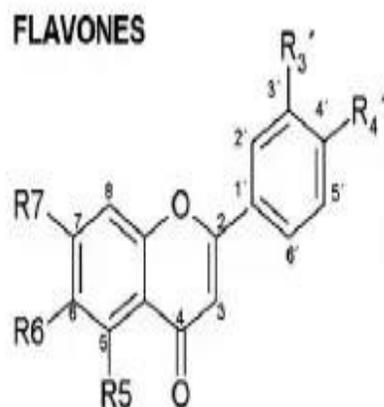
Parmi les flavonols les plus répandus, nous trouvons la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol (**figure 05**). Ces flavonols sont la plupart du temps présents sous forme d'O-glycosides. La conjugaison de ces flavonols est le plus souvent en position 3 du noyau aromatique C, bien que des substitutions en positions 5, 7, 4', 3' et 5' soient possibles (**Chira, 2008**).



<i>flavonol</i>	R ₃	R ₅	R ₇	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '
3-hydroxyflavone	H	H	H	H	H	H	H
kaempferol	H	OH	OH	H	H	OH	H
quercetin	H	OH	OH	H	OH	OH	H
morin	H	OH	OH	OH	H	OH	H
myricetin	H	OH	OH	H	OH	OH	OH
rutin	-Glc-Rha	OH	OH	H	OH	OH	H
troxerutin	-Glc-Rha	OH	O-C ₂ H ₄ -OH	H	O-C ₂ H ₄ -OH	O-C ₂ H ₄ -OH	H

Figure 05: Structure chimique des flavonols (Přemysl et al., 2011)

Les flavones sont structurellement très similaires aux flavonols, sauf qu'il n'y a pas de groupe hydroxyle en C₃. Il existe également de nombreuses substitutions de flavones, telles que l'hydroxylation, la méthylation, l'O- et C-alkylation et la glycosylation. Les flavonoïdes existent principalement sous forme de glycosides (**figure 06**) (Chira et al., 2008).



<i>flavone</i>	R ₅	R ₆	R ₇	R ₃ '	R ₄ '
flavone	H	H	H	H	H
5-hydroxyflavone	OH	H	H	H	H
7-hydroxyflavone	H	H	OH	H	H
chrysin	OH	H	OH	H	H
apigenin	OH	H	OH	H	OH
luteolin	OH	H	OH	OH	OH
negletein	OH	OH	OCH ₃	H	H
baicalein	OH	OH	OH	H	H
mosloflavone	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	H
diosmin	OH	H	O-Glc-Rha	OH	OCH ₃

Figure 06: Structure chimique des flavones (Přemysl et al., 2011)

Dans les flavanones, le cycle C est caractérisé par la présence d'un groupe pyrane saturé (pas de double liaison entre C₂ et C₃). Ils contiennent également une fonction carbonyle en C₄(**figure 07**)(**Laura et al., 2019**). Ce sont les principaux flavonoïdes des agrumes (sous forme d'hespéritine dans les oranges, d'ériodictyol dans les citrons et d'aglycone de naringénine dans le pamplemousse). Ils sont généralement glycosylés en position 7 par des disaccharides (**Oluwaseun et al., 2021**).

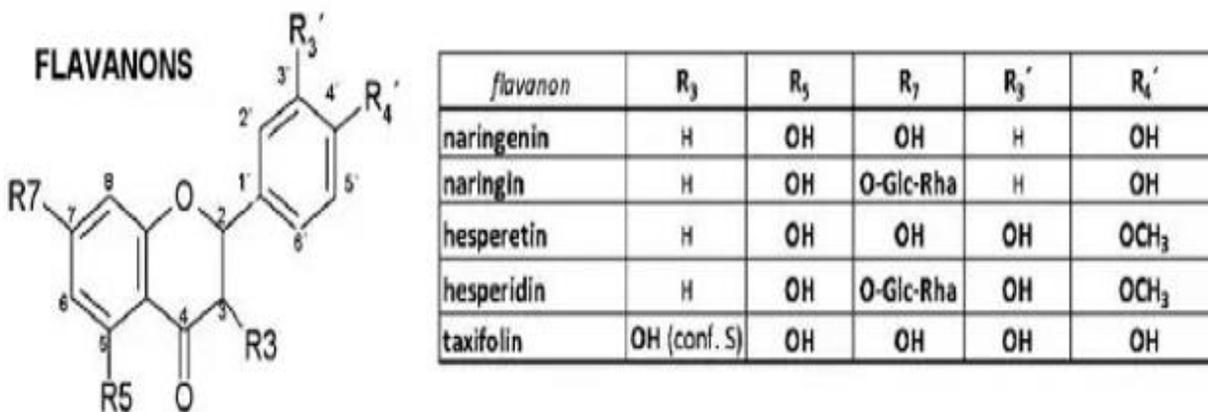
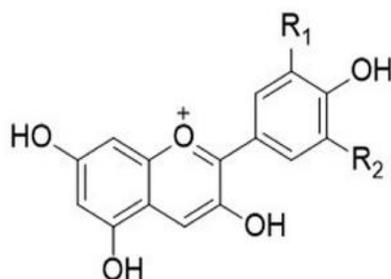


Figure 07: Structure chimique des flavanones (**Přemysl et al ., 2011**)

Les anthocyanes existent largement dans le règne végétal et principalement sous la forme de glycosides en position C₃. Ils ont une structure de base de « cation flavylum ». On les trouve dans les vacuoles des tissus végétaux colorés tels que les feuilles ou les pétales de fleurs. La couleur du pigment rouge, bleu et violet dépend du pH (rouge en milieu acide, bleu en milieu alcalin) (**Vermerris et Ralph, 2009**). Ces composés sont impliqués dans la protection des plantes contre une influence excessive des rayons solaires. Les anthocyanes les plus courantes sont la pelargonidine, la cyanidine, la delphinidine, la peonidine, la petunidine et la malvidine (**figure 08**) (**Chira et al., 2008**).



Cyanidin: $R_1=OH, R_2=H$
Pelargonidin: $R_1=H, R_2=H$
Delphinidin: $R_1=OH, R_2=OH$
Peonidin: $R_1=OMe, R_2=H$
Petunidin: $R_1=OMe, R_2=OH$
Malvidin: $R_1=OMe, R_2=OMe$

Figure 08: Structure chimique des anthocyanidines (Qianqian et al., 2022)

3.2 Polyphénols complexes ou Tanins :

Le mot « tanin » est très ancien et reflète une technologie traditionnelle le « Tannage » qui signifie « imperméabilisation et conservation ». Ce mot est utilisé dans la littérature scientifique pour décrire le processus de transformation des cuirs ou peaux d'animaux bruts en cuirs durables et non putrescibles à l'aide d'extraits de plantes de différentes parties de la plante (Shahat et Marzouk, 2013).

En 1957, Bate-Smith et Swain ont défini les tanins végétaux comme des composés phénoliques solubles dans l'eau avec un poids moléculaire entre 500 et 3000 Daltons et qui ont des propriétés spéciales telles que la capacité de précipiter des alcaloïdes, de la gélatine et d'autres protéines (Koleckar et al., 2008)

Les tanins des différentes espèces végétales ont des propriétés physiques et chimiques différentes, et donc ils ont des propriétés biologiques très diverses (Frutos et al., 2004). Ils peuvent être divisés soit par leur structure chimique, soit par leur solubilité et leur extractibilité. Selon la structure chimique, deux types de tanins sont distingués :

3.2.1 Tanins condensés ou Proanthocyanidines :

Les tanins condensés, également connus sous le nom de proanthocyanidines, sont des flavan-3-ols oligomères et polymères, qui sont liés par des liaisons C₄-C₈ ou C₄-C₆. La diversité des tanins condensés est donnée par la variabilité structurale des unités monomères (différents schémas d'hydroxylation des cycles aromatiques A et B, et différentes configurations au niveau des centres chiraux C₂ et C₃) (**figure 09**), et la taille des molécules peut être décrite par leurs degrés de polymérisation.

Ils présentent un grand intérêt en nutrition et en médecine en raison de leur puissante capacité antioxydante et de leurs possibles effets protecteurs sur la santé humaine (**Zhang et Lin, 2008**).

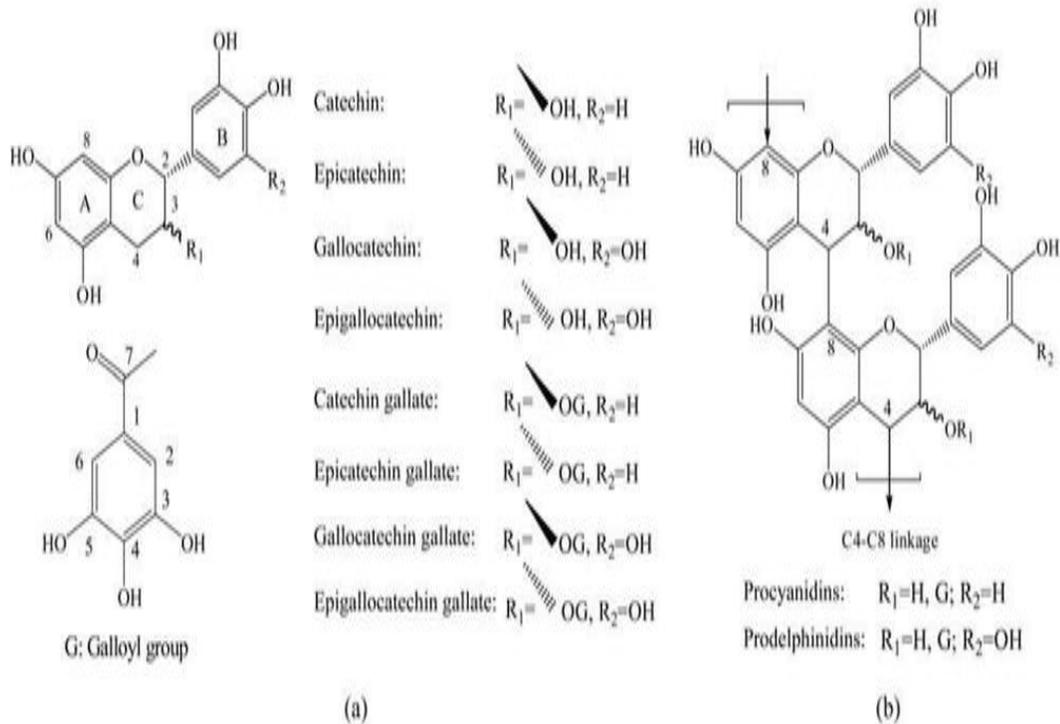


Figure 9: Structures chimiques des monomères (a) et (b) des polymères flavan-3-ol
(Zhang et Lin, 2008)

3.2.2 Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des composés contenant un noyau central de glucose ou d'un autre polyol estérifié avec de l'acide gallique (tanins galliques), ou avec l'acide hexahydroxydiphénique (ellagitanins ou tanins ellagiques) (**figure 10**) (**Serrano et al., 2009**).

Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables en pyrogallol par les acides et les enzymes (tannase). Les tanins hydrolysables sont caractéristiques des Angiospermes dicotylédones. Au niveau cellulaire, les tanins hydrolysables se trouvent principalement dans les parois et les espaces intracellulaires (**Rira, 2019**).

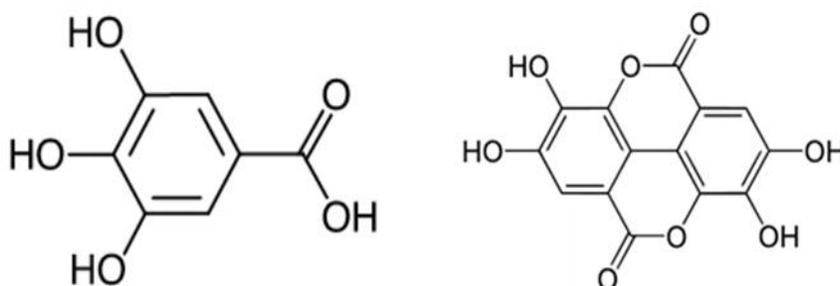


Figure 10: Structure de l'acide gallique (à gauche) et de l'acide ellagique (à droite)

4 Activités biologiques des composés phénoliques :

Des travaux antérieurs ont révélé que les acides phénoliques ont des effets antimicrobien, antioxydants, anti-inflammatoires (**Psoťová et al., 2003**) et anticancéreux (**Hale, 2003**). Les flavonoïdes et les tanins ont des activités antivirale, antitumorale, antioxydante, anti-inflammatoire, hypoglycémiant (**Bahorun, 1997**) et antimicrobienne (**Stern et al., 1996 ; Cowan, 1999**).

Chapitre III

Le stress oxydatif et les antioxydants

1 Introduction :

Les radicaux libres (RL), espèces réactives de l'oxygène (ERO), espèces oxygénées réactives (EOR), stress oxydatif et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical et le grand public (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

2 Les radicaux libres :

Par définition, les radicaux libres sont des espèces chimiques (atome ou molécule) qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés «célibataire» sur l'orbitale externe. Cet électron naît suite à un apport d'énergie susceptible et suffisant pour se réappairier, qui a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (**Fontaine, 2017**).

Ces ERO proviennent de différents compartiments cellulaires. Ils sont produits au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules (organisme aérobies), du réticulum endoplasmique (mono-oxygénases), de la membrane plasmique (oxydases), des peroxysomes et du cytoplasme. Ils peuvent être produits directement par des rayonnements, des molécules endogènes ou des xénobiotiques. Ils ont des effets sur les acides nucléiques, l'ARN, l'ADN nucléaire et mitochondrial (génotoxicité), sur les lipides membranaires, les protéines à différents niveaux (jusqu'à la carbonylation et la dénaturation) et sur d'autres composants cellulaires (**Bonnefont, 2007**).

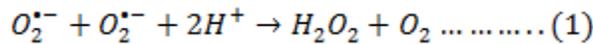
Cependant, Ils ne sont pas entièrement destructeurs. Certains sont bénéfiques pour l'organisme. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions, ils sont des régulateurs des voies de signalisation, de l'expression des gènes au niveau des cellules vasculaires, et ils jouent un rôle important dans le bon déroulement de la réponse immunitaire (phagocytose) (**Bonnefont et al., 2002 ; Favier, 2003**).

Parmi toutes les espèces de radicaux libres susceptibles de se former dans les cellules, il est nécessaire de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle spécial en physiologie, que nous appellerons radicaux primaires (**Favier, 2003**) qui dérivent directement de l'oxygène par réduction, Il s'agit de :

- L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) : formé par l'ajout d'un électron à la molécule d'oxygène, Cette espèce chimique est stable, peu réactif avec un pouvoir oxydant faible (**Martfnez, 1995**). Il est produit dans toutes les cellules aérobies (en particulier les mitochondries). De même, l'anion superoxide est généré par la NADPH oxydase présente au niveau des cellules des

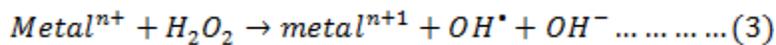
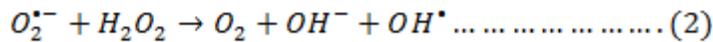
vaisseaux endothéliaux L'apparition de ces radicaux libres peut être causée par l'auto oxydation (oxydation par l'oxygène) des composés tels que des neuromédiateurs (dopamine, adrénaline, noradrénaline,..), des thiols (cystéine), des coenzymes réduits (FMNH₂, FADH₂) (Noichri, 2016).

- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) : Il est produit en grande partie à partir du radical superoxyde en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction (Equation 1).

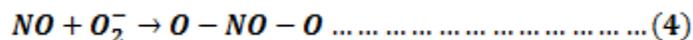


C'est un produit liposoluble qui se diffuse facilement à travers les membranes cellulaires et il est plus stable que les radicaux superoxydes car il est capable d'accepter deux électrons supplémentaires. Donc, c'est un oxydant puissant et est potentiellement toxique pour la cellule (Kohen et al., 2002).

- Radical hydroxyle (OH[•]):C'est la forme neutre de l'ion hydroxyde. C'est un radical réactif, très dangereux avec une demi-vie, *in vivo*, très courte d'environ (10⁻⁹ s) (Valko et al., 2007). Ce radical peut être également généré à partir de O₂^{•-} et de H₂O₂, soit par la réaction Haber-Weiss (Equation2), ou par la réaction de Fenton (Equation3) qui nécessite des catalyseurs métalliques (Martfnez, 1995).



Les autres radicaux libres, appelés radicaux secondaires, se forment par réaction des radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines) (Favier, 2003).C'est le cas par exemple du radical peroxyde (ROO[•]) formé après réaction de O₂^{•-} ou OH[•] avec un acide gras insaturé (peroxydation lipidique). Le radical superoxyde peut réagir aussi avec l'oxyde d'azote (NO[•]), et produisent le peroxyde nitrite (NOO^{•-}), qui peut inhiber la chaîne respiratoire et endommager divers composants mitochondriaux et ferme selon la réaction suivante (Equation4) (Opara, 2006).



3 Le stress oxydant :

Le stress oxydatif est généralement défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme (**figure 11**), d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2006**). Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (**Morena et al., 2002**).

Lors d'un stress oxydatif, les EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN (**Kœchlin, 2006**).

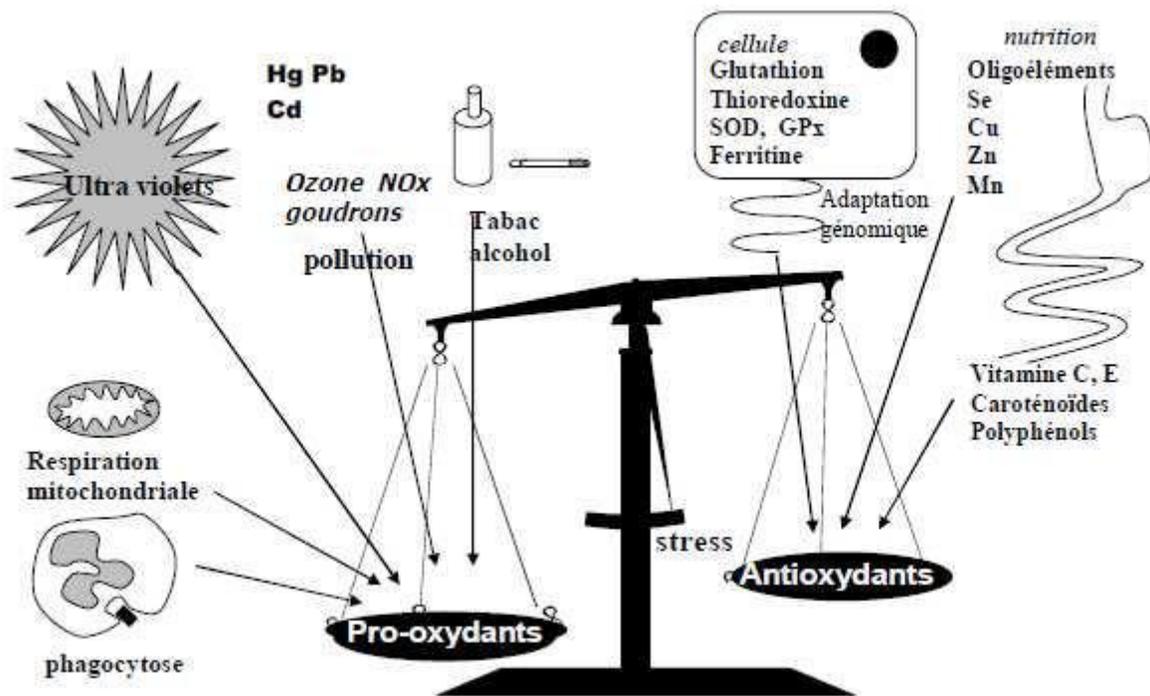


Figure 11: Déséquilibre entre pro-oxydants et les antioxydants (**Favier, 2006**)

Ce processus physiologique peut avoir des effets négatifs sur la santé si les niveaux d'ERO dépassent les capacités de l'organisme à les neutraliser (Sies, 2015). Des études ont montré que le stress oxydatif peut contribuer au développement de diverses maladies en endommageant les cellules et les tissus de l'organisme tels que les maladies cardiovasculaires (endommagement des cellules endothéliales), les maladies neurodégénératives (comme la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson) et les maladies inflammatoires et le cancer (endommagement de l'ADN des cellules) (Pacher et al., 2007 ;Alain et al., 2011). La plupart de ces maladies apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (Alain et al., 2011).

4 Systèmes de défense antioxydants:

La capacité d'un organisme à se défendre contre les radicaux libres est définie par son activité antioxydante. D'un point de vue chimique, un antioxydant est un agent réducteur défini comme une molécule qui peut accepter des électrons et/ou donner de l'hydrogène. C'est toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, qui est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (Griffiths, 2016). Cette définition s'applique à un grand nombre de substances, y compris les enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles (Fontaine, 2017).

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (Morena et al., 2002).

4.1 Les antioxydants endogènes enzymatiques:

Les trois principaux représentants de l'équipement enzymatique antioxydant sont la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase (Tessier et Marconnet, 1995).

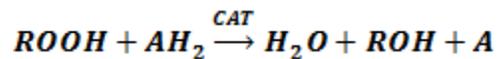
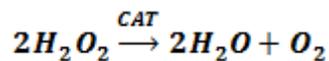
4.1.1 La superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1):

C'est l'enzyme antioxydante qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde hautement réactif en O_2 et en H_2O_2 , une espèce moins réactive (Matés et al., 1999). Le rôle déterminant de cette enzyme dans les systèmes de défenses antioxydantes de l'organisme est connu depuis 1968 (Menvielle-Bourg, 2005).

Chez l'homme, trois isoformes de l'enzyme SOD qui diffèrent par leur structure et leur localisation cellulaire ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La Cu/Zn-SOD ou SOD1 cytosolique, et la EC-SOD ou SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, tandis que la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse (Afonso et al., 2007).

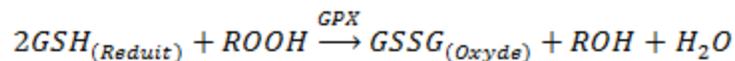
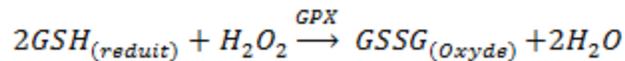
4.1.2 La catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) :

C'est une enzyme tétramérique composée de quatre sous-unités identiques de 60 kDa, chaque sous-unité contient un seul groupe de ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de *NADPH* (Delattre et al., 2005). C'est un composant important du système de défense antioxydant endogène du poumon et est responsable de la détoxification du H_2O_2 produit dans des conditions physiologiques. La CAT réagit très efficacement avec H_2O_2 pour former de l'oxygène moléculaire avec de l'eau et avec des donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, formiate ou phénol) à activité peroxydase (Matés et al., 1999) :



4.1.3 La glutathion peroxydase (GPx) :

C'est une enzyme tétramérique à sélénium et se localise dans le cytoplasme et la mitochondrie. Elle peut réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant le pouvoir réducteur du couple glutathion / glutathion disulfite (GSH-GSSG) selon les réactions suivantes :



5 Les antioxydants exogènes, non enzymatique :

Ces antioxydants sont divisés en antioxydants métaboliques et en antioxydants nutritif. Ce dernier fait partie des antioxydants exogènes, qui sont des substances présentes dans notre alimentation ou qui peuvent être ingérées sous forme de suppléments. Ils jouent un rôle important dans la protection contre les dommages causés par les radicaux libre dans notre corps (**Lien et al., 2008**).Voici quelques exemples courants d'antioxydants non enzymatiques exogènes :

5.1 La vitamine C ou acide ascorbique:

C'est une vitamine hydrosoluble (**figure 12**)essentielle au fonctionnement normal de l'organisme. C'est un puissant antioxydant qui aide à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (**Sebastian et al., 2003 ; Lien et al.,2008 ; Carr et Silvia,2017**). On la trouve dans les agrumes, les baies, les poivrons rouges et verts, les épinards, les tomates et le brocoli. Elle agit en synergie avec la vitamine E pour neutraliser les radicaux libres et régénère également la forme réduite de la vitamine E (**lien et al.,2008**).

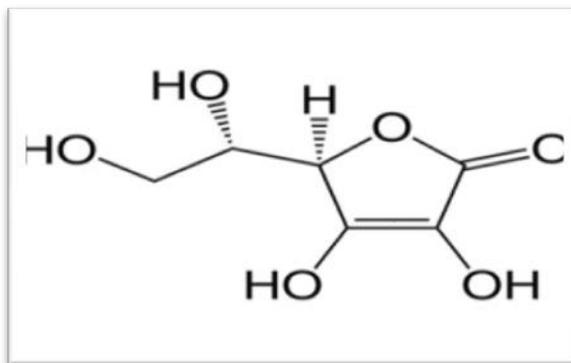


Figure 12:Structure de l'acide ascorbique

5.2 La vitamine E :

Ce terme fait une partie de la famille des tocophérols (α , β , γ). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol. Leur nature hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO^{\bullet}) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al., 2007**). On trouve la vitamine E dans divers aliment tels que les noix et noisetteetles huiles végétales (soja, maïs, olive) (**Haleng et al., 2007**).

5.3 Les caroténoïdes :

Ce sont des pigments présents dans les plantes et les micro-organismes. Il existe plus de 600 caroténoïdes dans la nature. Diverses études ont montré que les caroténoïdes peuvent prévenir ou inhiber certains types de cancer, l'athérosclérose et la dégénérescence. Ils doivent leurs pouvoirs antioxydants à leurs structures polyène riche en double liaisons conjuguées. Ceci est principalement responsable de la réactivité chimique du carotène avec les radicaux libres tels que ROO^{\bullet} , $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} et de leur excellente capacité à neutraliser l'oxygène singulet sans dégradation (Valko et al., 2006).

6 Méthodes de détermination de l'activité antioxydante :

L'une des méthodes permettant d'évaluer la qualité biologique et nutritionnelle d'un extrait consiste à déterminer son activité antioxydante. Pour quantifier rapidement et facilement cette capacité, nous avons recours à diverses méthodes, *in vitro*, qui sont divisées en deux catégories : Les analyses basées sur une réaction de transfert d'atomes d'hydrogène, où l'antioxydant et le substrat entrent en compétition pour fixer les radicaux libres, comme le DPPH, l'ABTS, etc., et les analyses basées sur une réaction de transfert d'électrons, détectée par un changement de couleur lorsque l'oxydant est réduit, comme la réduction du fer. C'est le cas du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) par, qui évalue la capacité d'un composé à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) du réactif TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) en ions ferreux (Fe^{2+}) par l'extrait testé. Cette réduction est mesurée de manière spectrophotométrique à 593 nm (Prior et al., 2005 ; Huang et al., 2005).

De plus, il y a des techniques employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique. La quantification de cette propriété est déterminée à partir de la mesure de l'inhibition de cette oxydation (Saidat et al., 2015). La chélation des métaux est aussi parmi les méthodes utilisées à cet effet (Hider et al., 2001).

Parmi ces méthodes, nous définissons les deux méthodes anti-radicalaires utilisées dans ce travail.

6.1 Test de piégeage de 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH[•]) :

Le DPPH est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il a un électron non apparié sur l'atome du pont d'azote (Figure 13) (Cristina et al., 2009). Dans ce test, le DPPH est un radical libre violet qui

réagit avec des composés antioxydants en donnant un changement de la couleur violette en une couleur jaune pâle. La perte de couleur du DPPH est mesurée par un spectromètre à 515 nm après réaction avec le composé à tester (Prior et al., 2005).

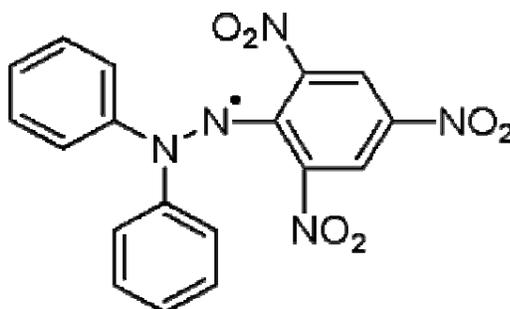


Figure 13 : Structure chimique du radical libre *DPPH*[•]

6.2 Test de 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS) :

Le test ABTS a été rapporté pour la première fois par Miller et Rice-Evan et est basé sur la capacité de piégeage des antioxydants de l'anion radical à longue durée de vie *ABTS*^{•+} (figure 14). La perte de *ABTS*^{•+} est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm. La solution de *ABTS*^{•+} est générée par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le $K_2S_2O_8$, qui est intensément coloré. L'*ABTS*^{•+} est soluble dans l'eau et les solvants organiques et n'est pas affecté par la force ionique, il peut donc être utilisé dans une variété de milieux pour déterminer la capacité antioxydante hydrophile et lipophile des extraits (Prior et al., 2005).

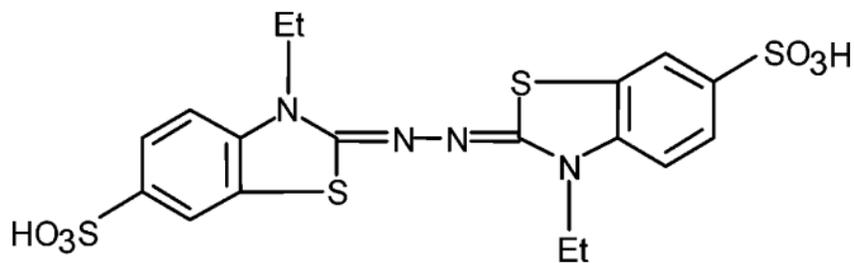


Figure 14: Structure de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) *ABTS*^{•+}

Partie expérimentale

CHAPITRE I
Matériel et Méthodes

Notre étude expérimentale a été menée au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) dans le but principal de déterminer les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins, ainsi que d'évaluer l'activité antioxydante de *Daucus crinitis* Desf. Le travail pratique est divisé en quatre parties distinctes :

- ✚ Récolte et préparation des échantillons à partir des racines de *Daucus crinitis* Desf. (la croûte et la partie interne blanche);
- ✚ Préparation des extraits ;
- ✚ Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les différents extraits ;
- ✚ Évaluation de l'activité antioxydante par deux techniques : le Piégeage du radical libre *DPPH* et le Piégeage du radical *ABTS*^{•+}

1 Produits chimiques et matériel utilisé :

- Acide gallique ($C_7H_6O_5$)(acide 3, 4, 5-trihydroxy-benzoïque)
- 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique($C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$) (ABTS)
- Acide phosphotungstique($H_3PW_{12}O_{40}$)
- Acide phosphomolybdique($H_3POM_{12}O_{40}$)
- Nitrite de sodium($NaNO_2$)
- Carbonate de sodium(Na_2CO_3)
- Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$)
- Vanilline ($C_8H_8O_3$)(3-méthoxy-4-hydroxybenzaldéhyde)
- Méthanol(CH_3OH)
- 2,2 diphenyle-1-picrylhydrazyl($C_{18}H_{12}N_5O_6$)(*DPPH*)
- Trolox($C_{14}H_{18}O_4$)
- Hydroxy anisolebutylé($C_{11}H_{16}O_2$)(*BHA*)
- L'acide chlorhydrique(*HCL*),
- Ethanol(C_2H_6O)
- Persulfate de potassium($K_2S_2O_8$)
- Folin-ciocalteu (1N)

- Catéchine ($C_{15}H_{14}O_6$)
- Soude ($NaOH$)
- Le matériel utilisé dans notre travail est le suivant: Spectrophotomètre, Agitateur magnétique, Balance de précision 0,001g, un extracteur type soxhlet, Micropipettes, Etuve, Cuves, Verrerie de laboratoire (Tubes à essai et portoirs, entonnoir, béchers, erlenmeyers, ampoules à décanter...).

2 Récolte de la plante étudiée :

La plante *Daucus crinitus* Desf. a été récoltée au mois de Février 2023 dans la région de Béni Mester, situé au centre de la wilaya de Tlemcen (Latitude : $34^{\circ} 52' 13.62'' N$, Longitude : $-1^{\circ} 25' 23.48'' W$) (**figure 15**). La plante a été identifiée au laboratoire de botanique à l'université de Tlemcen.

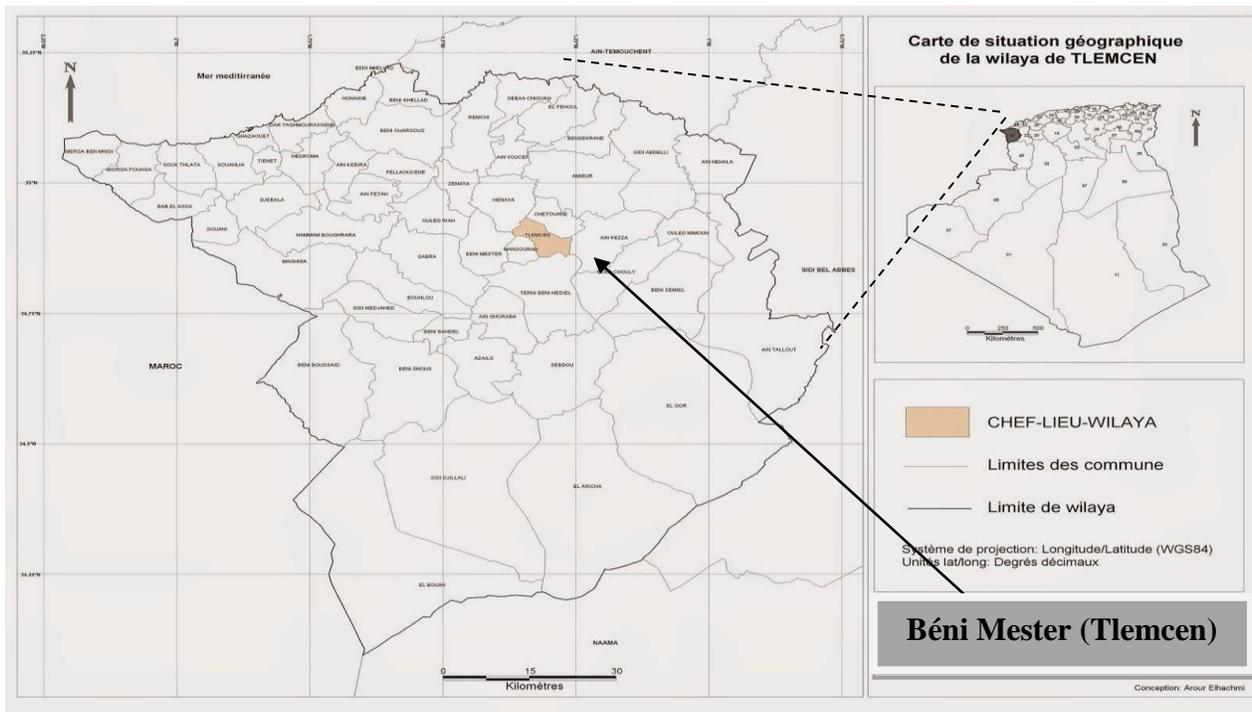


Figure 15: Situation géographique de la région Béni Mester (Tlemcen)
(<https://www.bing.com/maps>)

Les racines de la plante ont été nettoyées et séparées en deux parties, la croûte externe et la partie blanche interne (**photo 4**). Les deux parties ont été séchées à la température ambiante, à l'abri de la lumière pendant 10 jours, puis chaque partie a été broyée et stockée dans des bocaux en verre fermés jusqu'à l'utilisation.

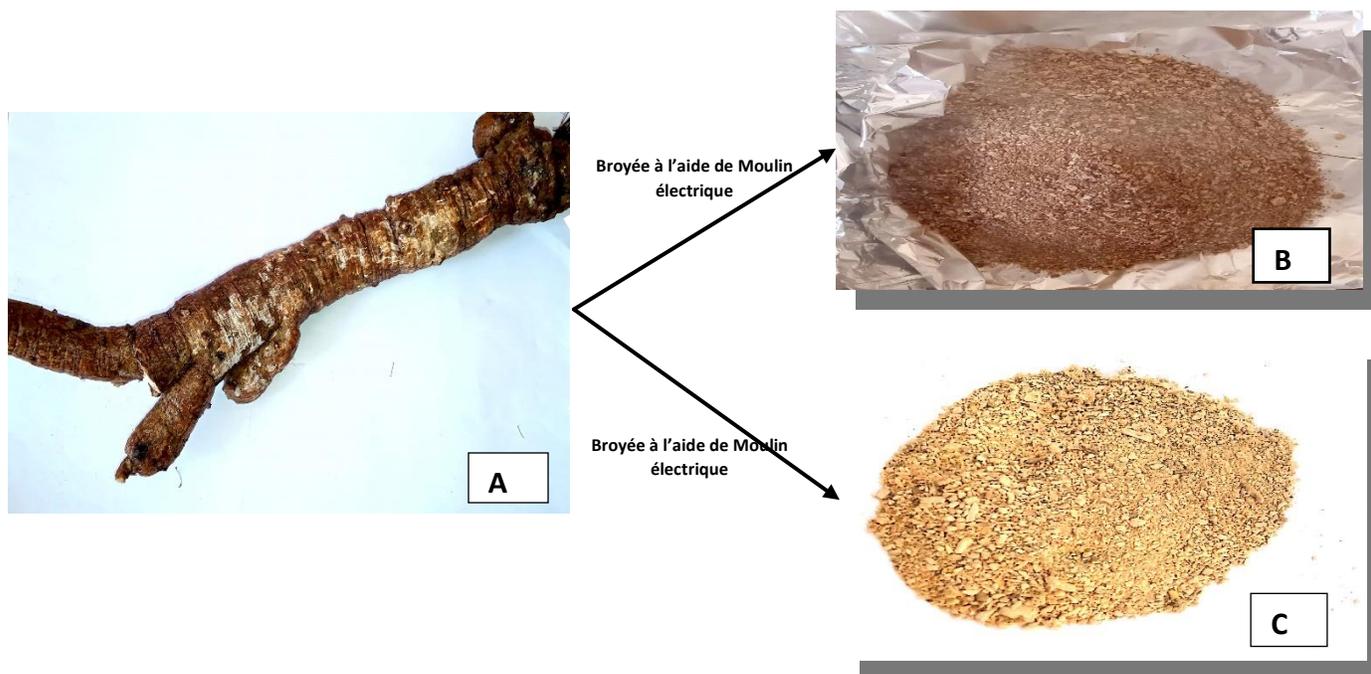


Photo 0 4: Etapes de préparation des deux échantillons (**photo prise par nous même**)

A : La racine, B : poudre de la croûte externe, C : poudre de la partie blanche interne

3 Extraction hydro-méthanolique par soxhlet :

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'extraction des composés phénoliques doués d'activité antioxydante et solubles dans des solvants polaires comme le méthanol. Le choix du mélange méthanol/eau, considéré comme un mélange à polarité élevée, est basé sur les résultats de plusieurs travaux antérieurs qui ont montré que la nature du solvant exerce un grand pouvoir dans les capacités d'extraction phénoliques chez de nombreuses espèces (**Vazquez et al., 2008 ; Mussatto et al., 2011**). Plus précisément, l'addition d'eau à 20% aux solvants polaires améliore cette extraction (**Trabelsi et al., 2010**). Nous avons choisi d'utiliser un appareil de Soxhlet déjà utilisé sur des problématiques similaires pour extraire les polyphénols (**Vazquez et al., 2008**).

3.1 Principe :

La méthode de Soxhlet est l'une des méthodes d'extraction solide-liquide qui présente l'avantage de permettre une extraction efficace des composés solubles dans un solvant, même à partir d'échantillons complexes. Cependant, elle nécessite un temps de traitement relativement long et une grande quantité de solvant par rapport à d'autres méthodes d'extraction (**Luque-Garcia et Luque de castro, 2004**).

L'extracteur Soxhlet (**figure 16**) est un dispositif composé d'un ballon contenant le solvant d'extraction, sur lequel est placé un réfrigérant, et d'un tube de distillation. Le processus d'extraction commence par le chauffage du ballon, ce qui provoque l'ébullition du solvant. Les vapeurs du solvant s'élèvent à travers le tube de distillation et entrent dans le réfrigérant, où elles sont refroidies et liquéfiées. Le condensat ainsi formé retombe dans le corps de l'extracteur, où il entre en contact avec la cartouche contenant le solide à extraire, permettant ainsi la macération du solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le niveau du sommet du tube-siphon. À ce stade, le liquide de l'extracteur, qui contient les substances extraites, retourne dans le ballon, enrichissant progressivement le solvant en composants solubles. Ce processus d'extraction se poursuit jusqu'à ce que toute la matière solide chargée dans la cartouche soit épuisée (**Luque-Garcia et Luque de castro, 2004**).

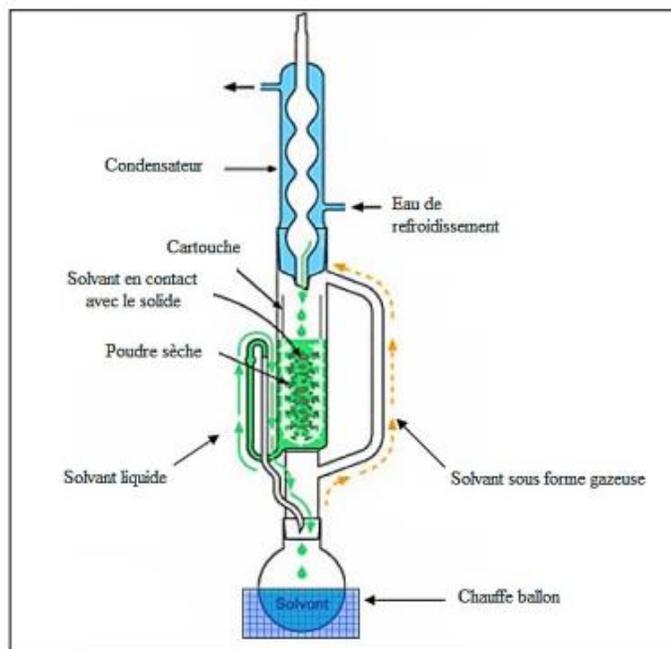


Figure 16: Appareil type Soxhlet

3.2 Mode opératoire :

Pour l'obtention des extraits, les étapes suivantes ont été suivies (**Figure17**) :

- Placer dans l'appareil à extraction, type Soxhlet, la cartouche contenant 40g de la poudre des deux parties des racines, séparément ;
- Verser dans le ballon 400 ml de mélange méthanol/eau distillée (80/20 : V/V) et poser le dans un chauffe- ballon électrique ;
- Adapter le ballon de manière à le connecter à l'appareil d'extraction ;
- Après une extraction à chaud, d'une durée de 3 heures, éteindre l'appareil et laisser le se refroidir ;
- Les deux extraits sont évaporés à sec au rotavapor ;

Calcul du rendement: L'extrait sec est pesé et nous avons calculé le rendement selon l'équation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

P₁ : Poids en gramme du ballon après évaporation.

P₂ : Poids en gramme du ballon avant évaporation (ballon vide).

P₃ : Poids en gramme de la matière végétale sèche de départ.

Les deux extraits obtenus ont un aspect huileux, se qui a nécessité une extraction liquide/liquide en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction.

4 Extraction liquide-liquide par l'hexane :

Dans le but d'obtenir une meilleure sélectivité dans l'extraction, nous avons choisi d'éliminer les molécules apolaires responsables de l'aspect huileux des deux extraits par l'hexane en regard des classes de substances potentiellement extractibles par ce solvant apolaire (lipides, stérols, essences, cires, caroténoïdes,...) (**Wichtl et Anton, 2003**).

A cet effet et pour les deux parties de racines, les extraits obtenus dans la première extraction sont solubilisés, séparément, dans 50 ml du mélange méthanol- eau (40/10- V/V). Chaque solution est transférée dans une ampoule à décanter. L'extraction liquide-liquide est réalisée comme suit :

- 50 ml d'hexane sont ajoutés pour éliminer les composés solubles dans ce solvant apolaire à savoir, les huiles essentielles et les acides gras. L'opération est répétée 3 fois ;
- La phase hydro-méthanolique est séparée de celle d'hexane;
- Chaque phase est évaporée au rotavapor jusqu'à l'obtention d'un extrait sec pour la solution hydro-méthanolique et d'une huile pour l'extrait d'hexane (**Figure17**).

Calcul du rendement: L'extrait obtenu est pesé et nous avons calculé le rendement selon l'équation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

P₁ : Poids en gramme du ballon après évaporation.

P₂ : Poids en gramme du ballon avant évaporation (ballon vide).

P₃ : Poids en gramme de la matière végétale sèche de départ.

Les dosages des composés phénoliques et les activités anti-radicalaires sont par la suite réalisés pour les deux extraits secs hydro-méthanoliques (**Figure17**). Cependant, les huiles obtenues feront l'objet d'une autre étude ultérieure.

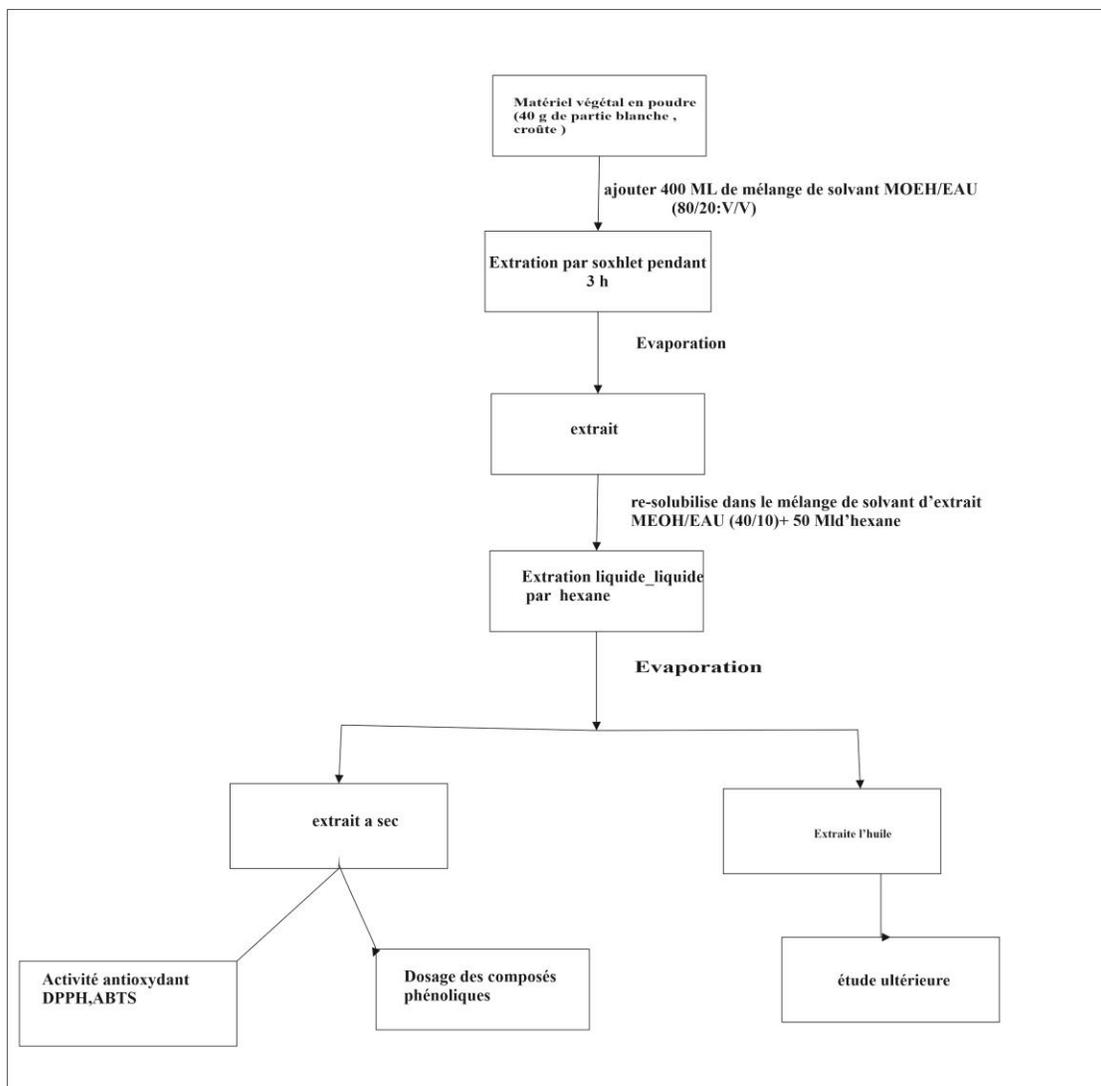


Figure 17 : Schéma du protocole expérimental

5 Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits :

5.1 Polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et al., (2006)** :

5.1.1 Principe :

Le réactif utilisé, le «Folin-Ciocalteu», est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette

oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm.

5.1.2 Mode opératoire :

Une prise de 100 µl de l'extrait est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue. Pour cela, Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500µg/ml. Les teneurs en Polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

5.2 Flavonoïdes totaux :

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al., 2002 :**

5.2.1 Principe:

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm.

5.2.2 Mode opératoire :

Une prise de 250 µL d'extrait est additionnée de 75 µL d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µL d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 mn de repos à température ambiante, 500 µL de soude (NaOH , 1M) sont apportés au mélange, et le volume final est porté à 2.5 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée contre un blanc à 510 nm. La comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes. Pour cela, Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500µg/mL. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

5.3 Tanins condensés :

La quantité de tanins condensés a été estimée selon la méthode décrite par **Sun et al., 1998** :

5.3.1 Principe :

En présence d'acide chlorhydrique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm.

5.3.2 Mode opératoire :

Une prise de 50 µl d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1.5 ml d'acide chlorhydrique HCL concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 mn. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 1000µg/mL), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

6 Détermination de l'activité antioxydant, in vitro

6.1 Piégeage du radical $DPPH^\bullet$:

Le protocole expérimental suivi est celui d'**Atoui et al. (2005)**:

6.1.1 principe :

$DPPH^\bullet$ (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. La méthode de $DPPH^\bullet$ présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical $DPPH^\bullet$ (de couleur violette), en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (**figure18**). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

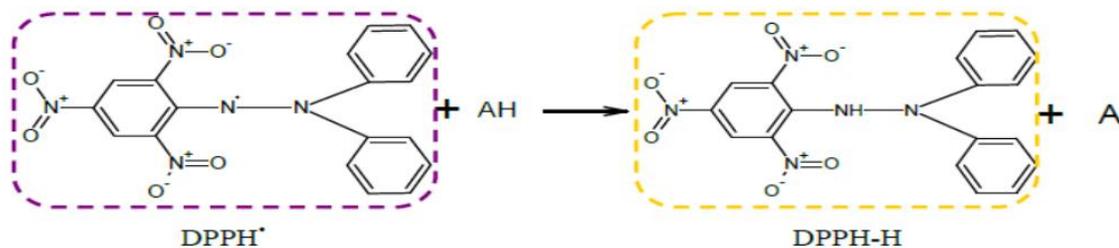


Figure 18: Forme réduite du radical $DPPH^\bullet$

6.1.2 Mode opératoire:

À différentes concentrations, 50 µl de chaque extrait, sont ajoutés à 1950 µl d'une solution méthanolique de *DPPH*[•] à 6.34×10^{-5} M (0.0025 g dans 100 ml méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de à la même concentration utilisée. Un contrôle positif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique de *DPPH* à 6.34×10^{-5} M.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du *DPPH*[•] s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le témoin positif utilisé est le hydroxy anisole butylé (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$PI = (D.O_{\text{contrôle}} - D.O_{\text{extrait}} / D.O_{\text{contrôle}}) \times 100$$

PI: pourcentage d'inhibition.

D.O témoin : absorbance du témoin négatif.

D.O extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité anti-radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI_{50}). Une valeur de CI_{50} faible correspond à une grande efficacité de l'extrait.

6.2 Piégeage du radical $ABTS^{\circ+}$:

La méthode réalisée est celle décrite par **Re et al., 1999**:

6.2.1 Principe :

Le radical $ABTS^{\circ+}$ est produit par réaction entre l'ABTS à 14 mM et une solution à 4.9 mM de persulfate de potassium. Ce mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de 0.700 ± 0.02 . Le test consiste à mettre ce radical en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical.

6.2.2 Mode opératoire:

Une prise (950 μ l) de cette solution d' $ABTS^{\circ+}$ est ensuite mélangée avec 50 μ l d'extrait à différentes concentrations. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μ l du méthanol avec 950 μ l d'une solution d' $ABTS^{\circ+}$. Un contrôle positif est préparé en mélangeant 50 μ l de méthanol avec 950 μ l de la solution éthanolique d' $ABTS^{\circ+}$.

Les résultats permettent de calculer le pourcentage d'inhibition et exprimer cette activité anti-radicalaire en CI_{50} comme décrit précédemment pour le $DPPH^{\circ}$

Les valeurs de CI_{50} sont comparées avec celles des standards de référence : le Trolox (acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tétraméthyl-chroman-2-carboxylique).

7 Analyses statistiques :

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des moyennes \pm écarts-types des trois mesures parallèles en utilisant EXCEL (2013). Les valeurs des concentrations d' IC_{50} (Piégeage du radical $ABTS^{\circ+}$, $DPPH^{\circ}$) ont été calculées à partir des équations logarithmiques et linéaires des courbes tracées sur EXCEL.

CHAPITRE II
Résultats et discussion

1 Les rendements en extraits obtenus :

La préparation des extraits hydro-méthanoliques des deux parties de racines de *D. crinitus* Desf., croûte et partie blanche interne, a été réalisée en utilisant la méthode Soxhlet suivie par une extraction liquide/liquide pour éliminer les molécules solubles dans l'hexane. Les différents rendements obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Rendements en extraits

Type d'extraction		Rendements (%)	
		La croûte	La partie blanche interne
Extraction hydro-méthanolique par Soxhlet		10.1	18.88
Extraction liquide/liquide	Fraction hydro-méthanolique	6.18	16.01
	Fraction d'hexane (huile)	3.25	2.25

Selon les résultats obtenus, on observe que le rendement en extrait hydro-méthanolique par Soxhlet est plus important dans la partie blanche interne (18.88%). On constate aussi que les rendements en fractions hydro-méthanoliques ont diminué après passage par une extraction à l'hexane. Donc ce solvant entraîne une perte de rendement dans la croûte et dans la partie blanche interne bien que la diminution est moins importante pour la partie blanche (16.01%). Les fractions d'hexane, liquides de couleur jaune, ont un aspect huileux lié à la richesse des racines de cette espèce en lipides et en huiles essentielles (**photo 5**). Les rendements en ces extraits (3.25% pour la croûte et 2.25% pour la partie blanche interne) sont représentatifs des rendements espérés pour une étude ultérieure.



Photo 05: Extrait d'hexane (huile)

L'étude bibliographique rédigée dans ce travail a révélé qu'il existe peu d'études réalisées sur l'espèce *D. crinitus* d'Algérie, et que les études biologiques sur cette espèce sont rares.

Pour les deux parties (crouste et partie blanche) de la racine de *D. crinitus* étudiée, les rendements en extraits obtenus sont largement supérieurs par rapport aux rendements obtenus dans des travaux antérieurs réalisés sur des extraits de racines entières de la même espèce, préparés par des solvants organiques et par Soxhlet. Il s'agit d'un extrait méthanoliques (1.8%) et d'un extrait de l'éther de pétrole (1.5 %), obtenus séparément (**Dib et al., 2010**) et des extraits aqueux (5.51%), chloroformique (1.34%) et éthanolique (2,16%), obtenus successivement (**Abdoune et al.,2013**).

2 Les teneurs en composés phénoliques :

2.1 Teneurs en polyphénols :

Les teneurs en polyphénols totaux (PPT), par la méthode de Folin-Ciocalteu, ont été déterminées en utilisant la courbe de la gamme étalon établie en utilisant différentes concentrations d'acide gallique (**figure19**). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

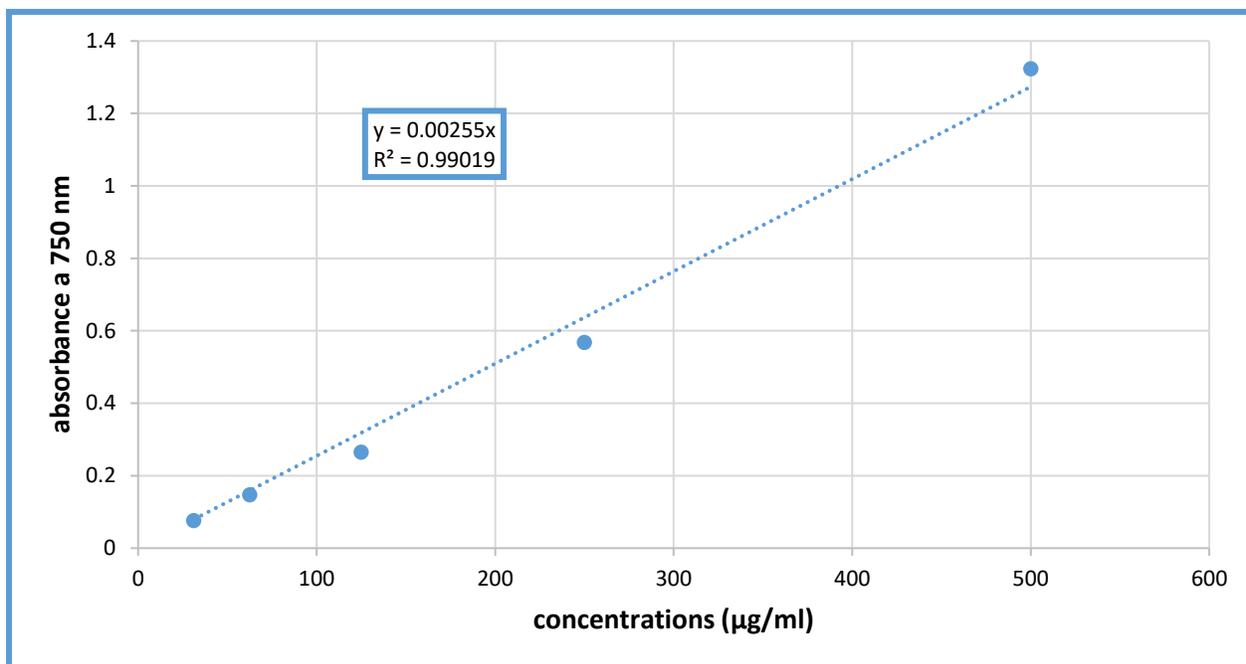


Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

2.2 Teneurs en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes (Fv) a été réalisé en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium. La courbe d'étalonnage de la catéchine est tracée (**figure 20**). La quantité en flavonoïde est rapportée en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

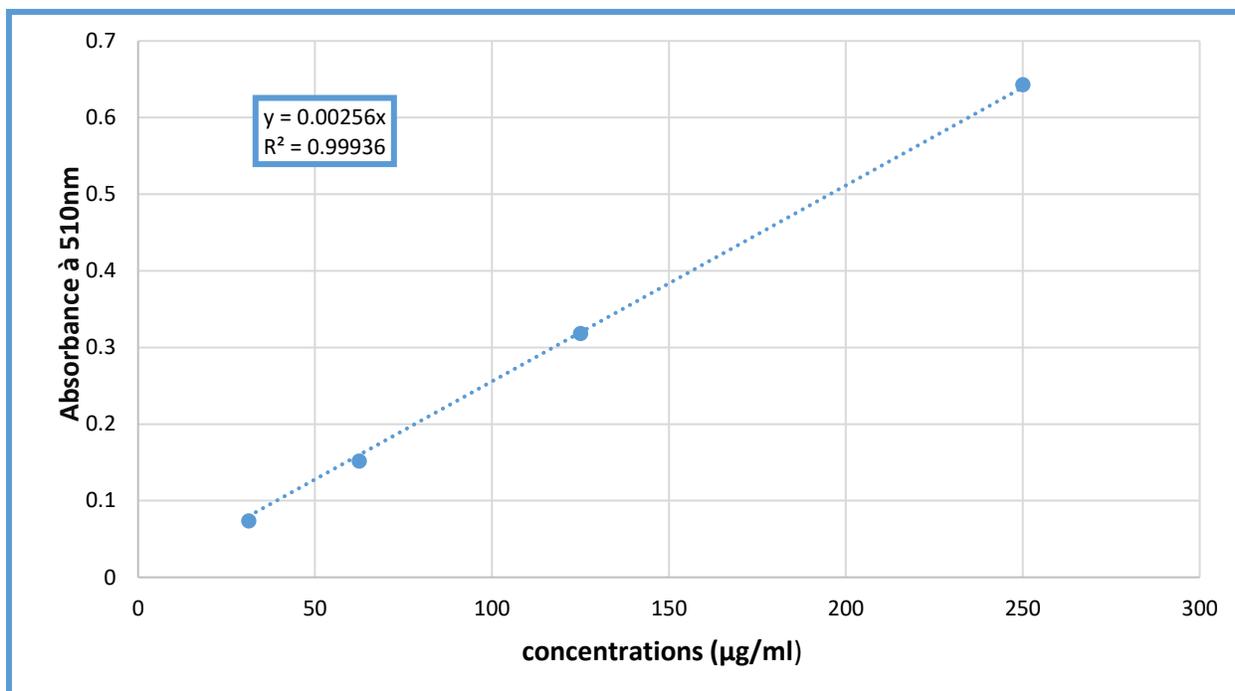


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux

2.3 Teneurs en tanins condensés :

L'estimation des teneurs (Tn) en tanins condensés a été réalisée en utilisant la méthode de la vanilline et la catéchine est utilisée comme standard (**figure 21**). La quantité en tanins a été exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

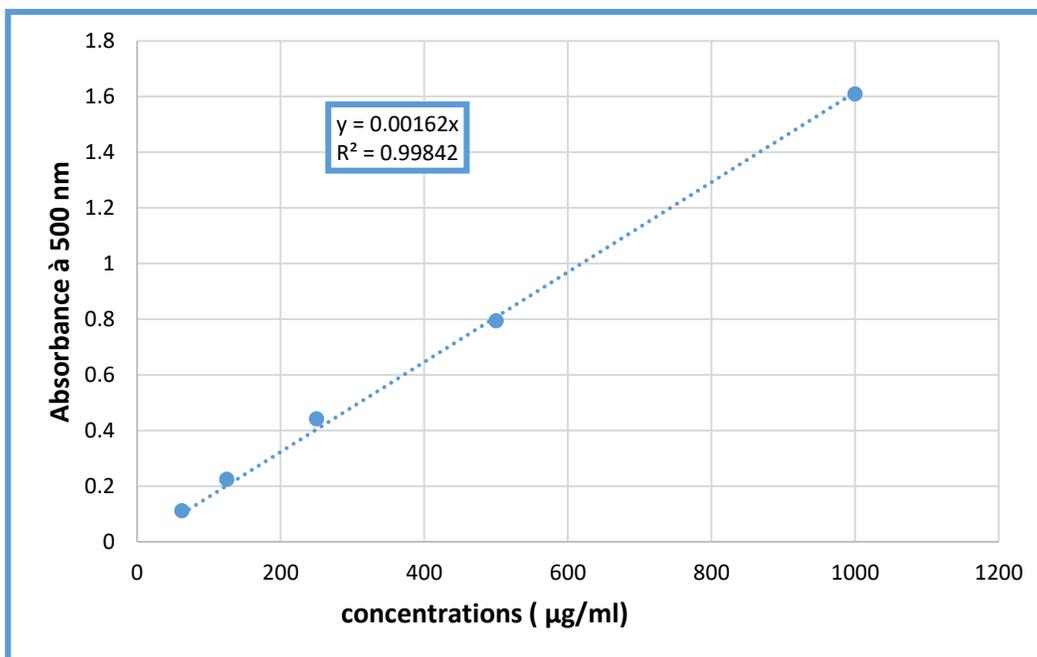


Figure 21: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins dans les deux parties, croûte et partie blanche, sont représentées dans le **tableau 04**. Les résultats indiquent que l'extrait de la croûte a une teneur en PPT de 49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES, supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Sa teneur en FV de 12.82 ± 0.78 mg/EC/g ES, presque deux fois supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Cependant, les teneurs en Tn sont proches dans les deux parties, avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES).

Tableau 4: Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les deux parties de *D. crinitus* Desf.

Teneurs en	Extraits de <i>D. crinitus</i>	
	La croûte	La partie blanche
PPT (mg EAG/g ES)	49.28 ± 7.16	16.99 ± 1.07
Flavonoïdes (mg EC/g ES)	12.82 ± 0.78	6.90 ± 3.62
Tanins (mg EC/g ES)	1.91 ± 0.06	1.68 ± 0.41

Ces résultats montrent que la partie croûte est riche en composés phénoliques, comparée à la partie blanche. Les teneurs en tanins, proches dans les deux parties, sont faibles en comparaison avec celles des polyphénols et des flavonoïdes.

D'après nos connaissances, aucun travail antérieur n'a été trouvé sur les composés phénoliques des racines de *D. crinitus*. Cependant, un travail antérieur a été réalisé dans ce contexte mais sur les extraits méthanoliques et aqueux de la partie aérienne (tiges et feuilles) de cette espèce. L'extrait méthanolique s'est révélé plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes que l'extrait aqueux (PPT : 130 ± 5 et $89,80 \pm 3$ $\mu\text{g EAG/mg d'extract}$; FV : $86,72 \pm 4$ et $49,77 \pm 2$ $\mu\text{g EC/mg d'extract}$) (**Bendiabdellah et al., 2012**). Ces résultats peuvent indiquer que la localisation des composés phénoliques au sein de la plante n'est pas homogène entre tiges, feuilles et racines et que la partie aérienne est peut être plus riche en ces composés, raison pour laquelle elle a suscité plus d'intérêt dans les recherches antérieures.

3 Evaluation de l'activité antioxydante:

3.1 Piégeage du radical libre DPPH :

L'activité anti-radicalaire des deux parties de racines de *D. crinitus* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical, accompagnée par son passage de la couleur violette (*DPPH**) à la couleur jaune (*DPPH – H*) mesurable à 517nm. Cette capacité est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires. L'activité des extraits est comparée avec celle du BHA.

Les courbes des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de concentration des BHA et des deux extraits sont illustrées dans les **figures 22, 23 et 24**.

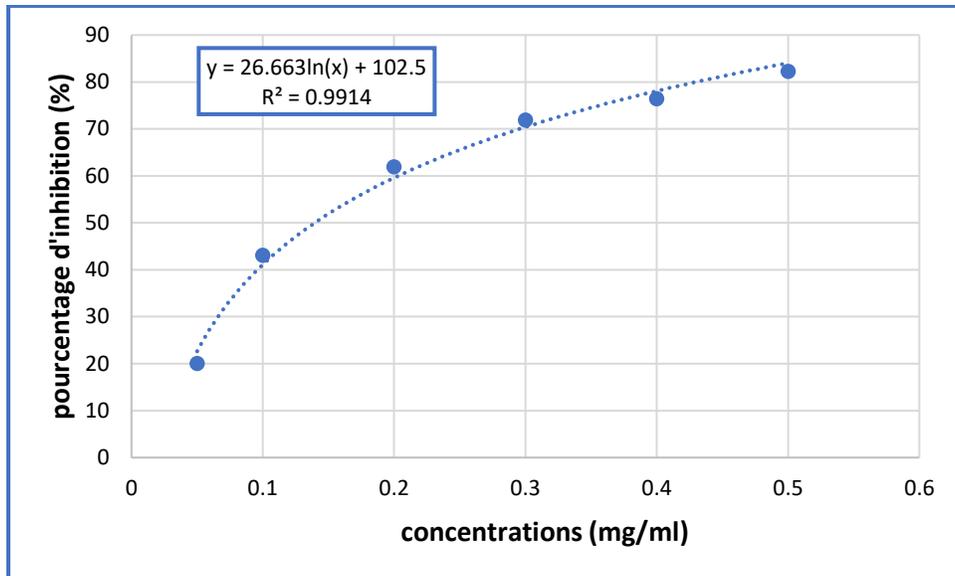


Figure 22: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de la croûte

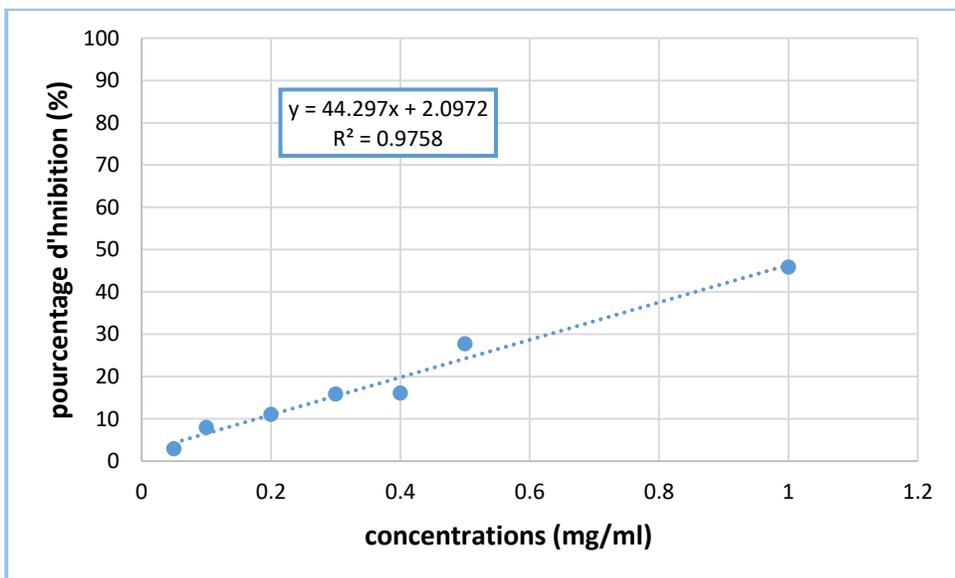


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de la partie blanche

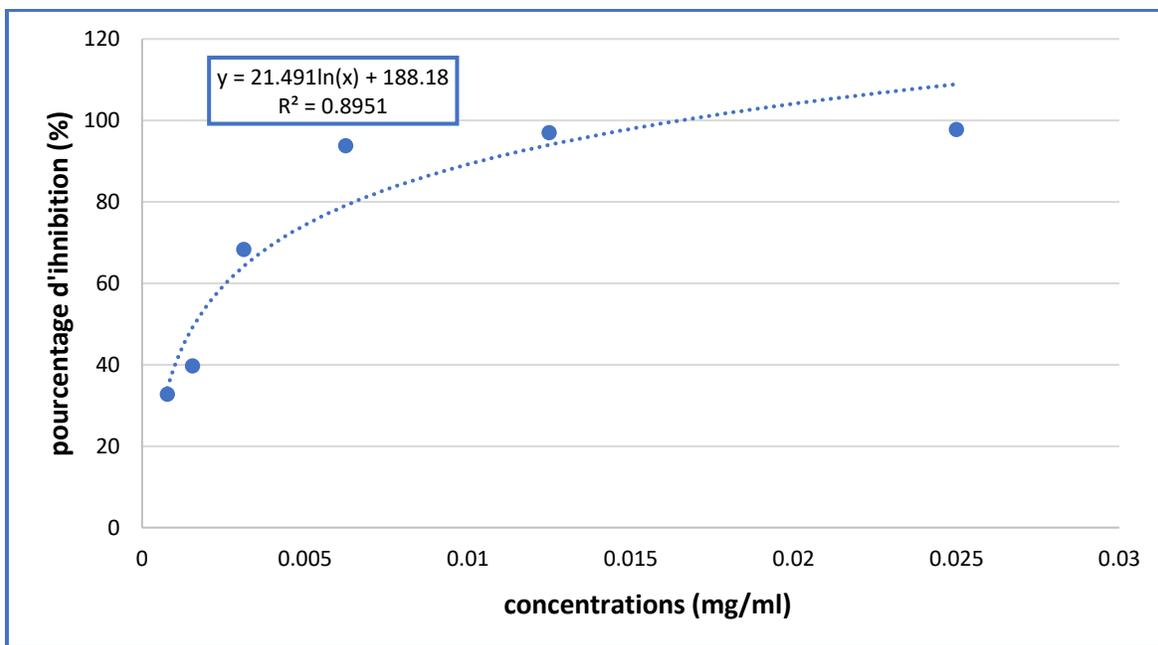


Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de BHA

Les valeurs des CI_{50} sont présentées dans le **tableau 5**. On constate que l'extrait de la croûte a une valeur de CI_{50} de 0.1381 mg/ml, largement supérieure à celle du BHA, ce qui démontre une activité faible par rapport au BHA. On constate aussi que l'extrait de la croûte est plus puissant (**photo 6**) que celui de la partie blanche, dont on n'a pas pu calculer la CI_{50} parce que 50% d'inhibition n'a pas été atteinte même à une concentration dans le volume final de 1 mg/ml (concentration initiale de 40mg/ml).

Tableau 5: Valeurs de CI_{50} des extraits et du BHA

	Extraits de <i>D. crinitus</i>		BHA
	La croûte	La partie blanche	
CI_{50} (mg/ml)	0.1381±0.004	Non atteinte	0.0016±0.0001

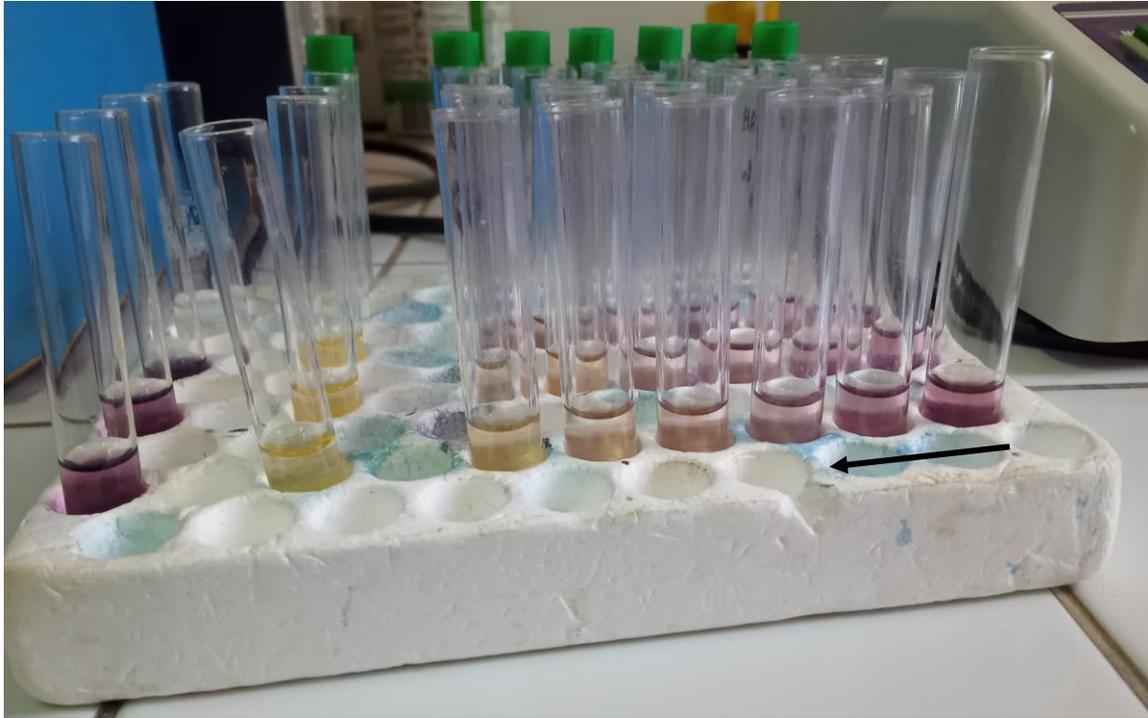


Photo 06: Test DPPH de l'extrait de la croûte

Quelques travaux antérieurs ont été réalisés sur l'activité du piégeage du radical libre DPPH de l'huile essentielle des racines (**Lanfranchi et al., 2010**) et des extraits de la partie aérienne (tiges et feuilles) de *D. crinitus* obtenus par Soxhlet. Il s'agit des extraits bruts méthanolique ($CI_{50} = 0,068$ mg/ml) (**Bendiabdellah et al., 2012**), éthanolique ($CI_{50} = 0.65$ mg/ml) et aqueux ($CI_{50} = 0.64$ mg/ml (**Bendiabdellah et al., 2012**) et $CI_{50} = 1.83$ mg/ml (**Djabou et al ., 2013**)).

Un autre travail a été réalisé sur des extraits de la partie aérienne, obtenus par macération, de *D. muricatus*. Il s'agit des extraits d'acétate d'éthyle ($CI_{50} = 12,33 \pm 0,69$ μ g/ml) et de méthanol ($CI_{50} = 81,96 \pm 2.1$ μ g/ml) (**Noui, 2018**).

3.2 Piégeage du radical ABTS :

L'ABTS est un autre radical plus réactif que le DPPH. Il est produit par une réaction entre l'ABTS et une solution de persulfate de potassium. Les figures 25, 26 et 27 présentent les pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les extraits des deux parties de racines de *D. crinitus* et par le standard, le Trolox.

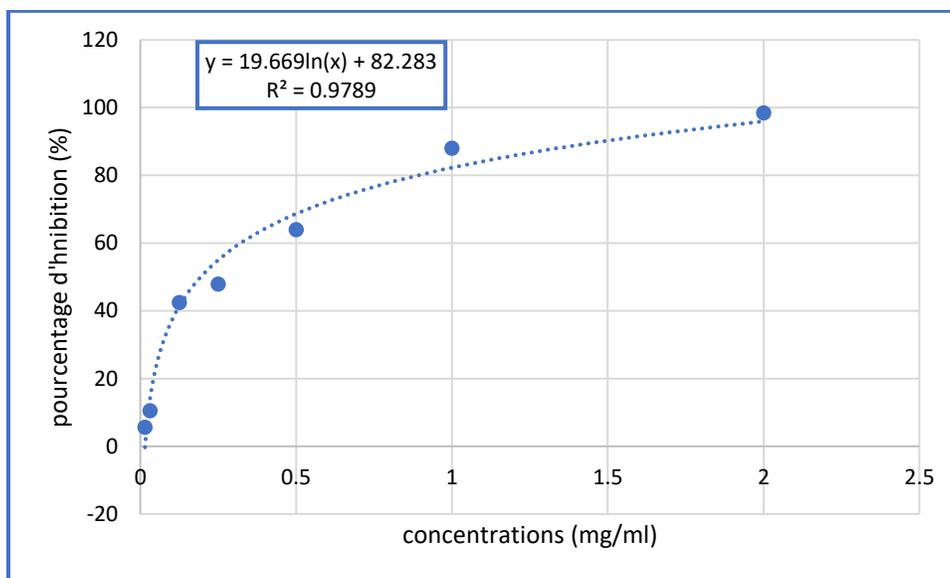


Figure 25: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait de la croûte

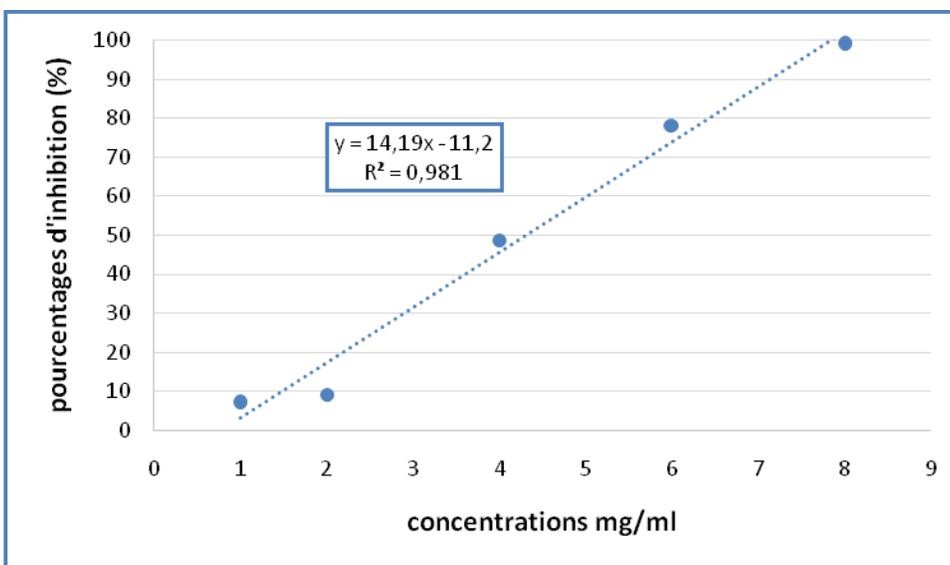


Figure 26: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait de la partie blanche

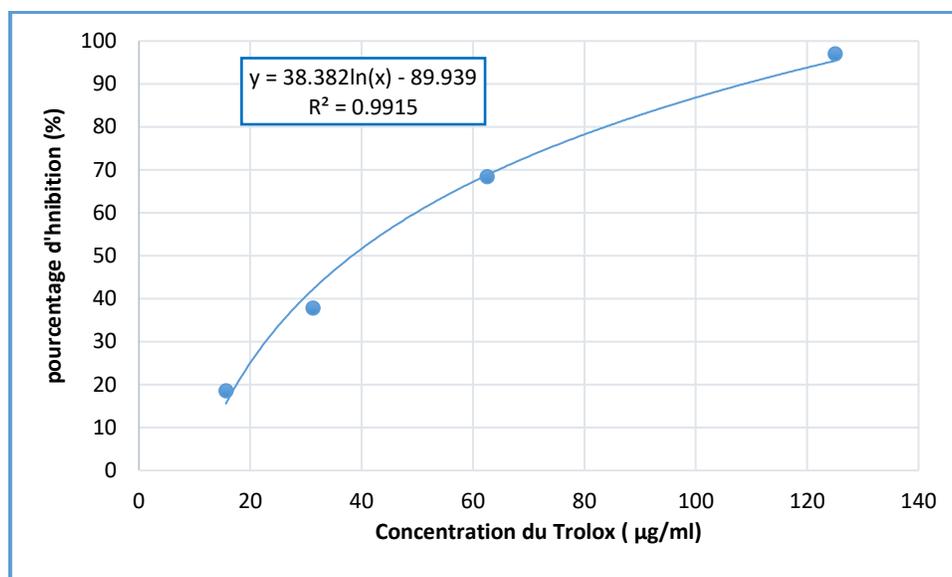


Figure 27: Courbe des pourcentages d’inhibition de l’ABTS en fonction des concentrations du Trolox

Les valeurs des CI_{50} sont présentées dans le **tableau 06**. L’extrait de la croûte a une activité antioxydante plus importante que celle de la partie blanche avec une valeur de CI_{50} de 0.193 ± 0.001 mg/ml. Cependant, cette activité reste faible comparée à celle du trolox.

Tableau 6: Valeurs de CI_{50} des extraits et du Trolox.

	Extraits de <i>D. crinitus</i>		Trolox
	La croûte	La partie blanche	
CI_{50}(mg/ml)	0.193 ± 0.001	4.4 ± 0.20	0.0383 ± 1.86

Le seul travail trouvé sur l’activité du piégeage du radical libre ABTS a été réalisé sur des extraits de la partie aérienne, obtenus par macération, de *D. muricatus*. Il s’agit des extraits d’acétate d’éthyle ($CI_{50} = 36,05 \pm 2,28 \mu\text{g/ml}$) et de méthanol ($CI_{50} = 51.90 \pm 0.59 \mu\text{g/ml}$) (**Noui, 2018**).

Nos résultats et les résultats des recherches antérieures nous mène à dire que la variation des teneurs en composés phénoliques et de l’activité anti-radicalaires d’une espèce à l’autre et d’une même espèce peuvent être influencées par la partie de la plante, la méthode extraction, les facteurs environnementaux et les conditions expérimentales (**Khajeh et al., 2005 ; Sefidkon, 2007**).

Conclusion générale
et Perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Leurs utilisations est en progression constante, étant donné le besoin établi à développer de nouveaux agents antioxydants pour résoudre les problèmes de l'implication du stress oxydatif dans plusieurs maladies et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse.

L'objectif de ce travail est d'estimer les teneurs en composés phénoliques et d'étudier les activités anti-radicalaires des extraits de la croûte et de la partie blanche de racines de la plante *Daucus crinitus* Desf.

Les résultats obtenus révèlent des rendements importants comparés aux travaux antérieurs. Le rendement en extrait hydro-méthanolique par Soxhlet est plus important dans la partie blanche interne (18.88%) par rapport à celui de la croûte. Ces rendements ont diminué après passage par une extraction à l'hexane, choisi pour éliminer les molécules apolaires responsables de l'aspect huileux des deux extraits, à savoir les lipides et les huiles essentielles. Cette diminution est moins importante pour la partie blanche (16.01%) avec un rendement de l'extrait d'hexane de 2.25%.

Les résultats des dosages des polyphénols totaux (PPT), des flavonoïdes (Fv) et des tanins (Tn) dans les deux parties, montrent que la partie croûte est riche en composés phénoliques, comparée à la partie blanche. L'extrait de la croûte a une teneur en PPT de 49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES, supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Sa teneur en FV de 12.82 ± 0.78 mg/EC/g ES, presque deux fois supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Cependant, les teneurs en tanins, proches dans les deux parties avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES), sont faibles en comparaison avec celles des PPT et des Fv. Les teneurs en composés phénoliques dans cette étude sont plus faibles que celles de la partie aérienne de la même plante, étudiée antérieurement et qui a suscité plus d'intérêt dans la recherche que les racines.

Concernant l'activité anti-radicalaire par l'inhibition du piégeage des radicaux DPPH et ABTS, l'extrait de la croûte (CI_{50} de 0.138 ± 0.004 mg/ml pour le DPPH et de 0.193 ± 0.001 mg/ml pour l'ABTS) est plus puissant que celui de la partie blanche. Cette activité est inférieure à celle des standards.

En comparant avec les recherches antérieures nous constatons une variation des teneurs en composés phénoliques et de l'activité anti-radicalaire d'une espèce à l'autre et d'une même espèce.

Sur la base des résultats obtenus dans cette étude, on peut conclure que la croûte de la plante *Daucus crinitus* Desf. peut être considérée comme une source naturelle modérée de polyphénols qui présente une capacité antioxydante dans les domaines de l'industrie pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Cependant, il est nécessaire de mener d'autres études afin de :

- Tester l'activité antioxydante par d'autres méthodes, *in vivo* et *in vitro* ;
- Séparation et identification de principes actifs par des techniques chromatographiques et spectrales :
- Tester leurs composés séparément, pour mettre en évidence le principe actif et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés phénoliques.

Références bibliographiques

Abdoune Mohamed Amine, FethiBenbelaïd, Abdelmounaïm Khadir, Mourad Bendahou (2013). “Evaluation of antimicrobial activity of solvent extracts from different parts of *Daucus crinitus*Desf.”*Journal of AppliedPharmaceutical Science. 11*, 117-121.

Afonso,V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., &Lomri, A. (2007).Radicaux libre dérivés de l’oxygène et superoxydesdismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74, 636 – 643.

Alain dit Philippe Bidie, Banga B. N’guessan , Adou F. Yapo , Jean David N’guessan , Allico Joseph Djaman (2011). Activités antioxydantes de dix plantesmedicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences, Nature*, 8(1) : 1 – 11

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27-36.

Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*.83-94.

Barouki Robert (2006). Stress oxydant et vieillissement Ageing free radicals and cellular stress. *M/S : médecine sciences*, 22(3), 266–272.

Belkhiri Farida, BaghianiAbderhmane(2017). Plantes médicinales Activités antioxydantes et antibactériennes, Edition : *universitaire européennes*

BendiabdellahAmel, Mohammed El Amine Dib, NawelMeliani, Nassim Djabou, HocineAllali et BoufeldjaTabti (2012).“Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of solvent extracts from *Daucus crinitus*Desf, from Algeria”. *Journal of Applied Pharmaceutical Science. 07*; 92-95

Bonnefont Dominique - Rousselot (2007)Stress oxydant et vieillissement, Edition :*spectra biologie* n° 157

Bonnefont Dominique -Rousselot, Jacqueline Peynet, Jean-Louis Beaudeux, Patrice Thérond, Alain Legrand, Jacques Delattre(2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose, *Nutrition clinique et métabolisme* 16, 260–267.

BotineauM(2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Edition *Tec & Doc, lavoisier Paris*, 1335 pp.

Bouakaz I., (2006). Etude phytochimique de la plante *GenistaMicrocephala*. *Mémoire de magister, Batna*.

Brands S J (2000) .SystemaNaturae , Amsterdam,TheNetherlands, 1989-2005.

Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Edition : *Tec & Doc. Lavoisier*, Paris. pp 198-260.

Carr .AnitraC,and Silvia Maggini(2017).Vitamin C and Immune Function, *Nutrients* 9, 2-25; doi:10.3390/nu9111211

Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C., &Teissèdre, P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytonutrition fondamentale*, 6 (2), 75–82. Doi : 10.1007 / s10298-008-0293-3

Cowan MM. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *ClinicalMicrobiologyReviews*, 12(4), 564-582.

Cristina Popovici ,IlonkaSaykova , BartekTylkowski (2009) .Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH,*Revue de génie industriel*, 4, 25-39

Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants" Diet and Health"*. Edition: *Goldberg*. pp: 27- 48.

Dash.S, Mohanty.N. J. (2001). Thermolotolerance in plants: potential physio-biochemical and molecular markers for crop improvement .*journal of Plant Physiol.*, 158, 1153

Defraigne.J.O ,Pincemail.J (2008). Stress oxydant et antioxydant : mythes et réalités, *Revue Medicalde Liège* ; 63: 10-19

Delattre, J., Beaudoux, J. L., &Bonfont-Rousselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant:aspects biologiques et pathologiques. Edition *Lavoisier TEC &DOC éditions Médicales Internationales, Paris*, p 14 , 93 , 94.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014

Dib A. M. Bendahou, A. Bendiabdellah, N. Djabou, H. Allali, B. Tabti, J. Paolini,j,Costa (2010). « Partial chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus crinitus*Desf. Extracts. *Grasas y Aceites* .61, 271-278.

Djabou Nassim, Nawel Meliani, Mohammed El Amine Dib, Amel Bendiabdellah, HocineAllali, Boufeldja Tabti(2013). Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of solvent extracts from *Daucus aureus* Desf., from Algeria, *International Journal of Traditional and Herbal Medicine*. Vol., 1 (2), 41-44.

Favier Alain. (2003).Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115

Fontaine E. (2007). Radicaux libres; in:« Traité de nutrition artificielle de l'adulte». © Springer-Verlag France, Paris 2007

Fruto, P., Hervas, G., Giraldez, F.J., &Mantecon, A.R. (2004). Tannins and Ruminant Nutrition : *Review. revue espagnole de recherche agricole* 2, 191-202.
<http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2004022-73>

Goleniowski Marta, Mercedes Bonfill, Rosa Cusido et Javier Palazon(2013).Natural products 1951-1973.*Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. DOI 10.1007/978-3-642-22144-6_64.

Griffiths, H.R.(2016). Antioxidants: Characterization and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 221-226 .<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00037-4>

Hale A.L. (2003). Screening potato genotypes for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using aflep and microsatellite marker analysis. *Office of graduate studies of texas A&M university*. Genetics, 260.

Haleng,J,Pincemail .J, Defraigne .J.O, Charlier.C, Chapelle .J.P (2007). Le stress oxydant. *Revue Medical Liege*; 62: 10 : 628-638

Hider RC, Liu ZD, Khodr HH (2001). Metal chelation of polyphenols. *Methods inEnzymology*, 335:190-203.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005).The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 53(6), 1841-1856.

Kabran Guy Roger, JanatAkhanovnaMamyrbekova-Bekro, Jean-Luc Pirat, Yves-Alain Bekro, Nicolas Sommerer, ArnaudVerbaere, Emmanuelle Meudec (2014) .Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne.*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* 038 ; 57 – 63

Karak Prithviraj (2019). Activités Biologique des flavonoïdes : *Journal international des sciences et de la recherche pharmaceutiques* 10(4): 1567-1574

Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F. and Pirmoradei M.R., (2005). Comparison of essential oil composition of *Ferulaaassa. foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. *Food Chemistry*, 91: 639-644.

Koechlin Christelle-Ramonatxo(2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20,165–177. doi:10.1016/j.nupar.2006.10.178

Kohen Ron and Abraham nyska (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *journal of Toxicologic pathology* , 30(6). pp 620–650, 2002

Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., & Opletal, L. (2008). Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 8(5), 436–447. <https://doi.org/10.2174/138955708784223486>

KristýnaSlámová, Jana Kapešová and KaterinaValentová(2018). “SweetFlavonoids”: Glycosidase-Catalyzed Modification. *International journal of Molecular sciences*.19, 2126; doi: 10.3390/ijms19072126

Kutaiba Ibrahim Alzandun et Mohamed AbdalkarimMohamed(2012). Flavonoïdes :chimie, biochimie et activitéantioxydante , *journal of pharmacy* 5(8),4013-4020.

Lanfranchi DA, Laouer H, El Kolli M, Prado S, Maulay-Bailly C, Baldovini N (2010). Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitusDesf.* from Algeria. *Journal of agricultural and food.chemistry*. 58, 2174–2179 DOI: 10.1021/j f903760b

Laura. A. del Rosa, Jesus Omar Moreno-Escamilla,Rodrigo García Joaquín,Emilio Alvarez Parrilla (2019): postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, 253-271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>.

Lien Ai Pham-Huy, Hua He, Chuong Pham-Huy(2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *Iternationale journal of Biomed Sci*; 4 (2): 89-96. www.ijbs.org

Lisu W, Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L, Ming-Juan W (2003).Antioxydant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule* and Blossom (*Nelumbo nucifecaGertn*), *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66

- Loret. V(1892)** La flore pharaonique d'après les documents hiéroglyphiques et les spécimens découverts dans les tombes, Edition : *Ernest le roux. Paris.*
- Luque-Garcia, J. L. M. D. Luque de Castro** (2004). "Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds." *Journal of Chromatography A* 1034: 237-242.
- Macheix J.J., Fleurie A., Jay-Allemand C., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique
- Macheix J.J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2006).** Composés Phénoliques dans la Plante-Structure, Biosynthèse, Répartition et Rôles ; in : « Les Polyphénols en Agroalimentaire ». Techniques & Documentation, *Lavoisier, Paris.* 1-27
- Macheix J.J (1996).** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XX^{ème} siècle, *Acta botanica. Gallica, 143 (6), 473-479.*
- Martinez M-Cayuela(1995).** Oxygen free radicals and human disease: *Biochimie, 77.* 147-161
- Mate S. Jose M., Cristina Pe Rez-Go Mez , Ignacio Nu, Castro (1999).** Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry, 32(8), 595–603.*
- Mazzoni, V., Tomi , F., Casanova, J. (1999).** A daucane-type sesquiterpene from *Daucus Carota* seed oil . *Journal of Flavour and Fragrance .14:* 268-272
- Menvielle Joanny .F–Bourg(2005).** La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale, *Phytothérapie ,3:* 118-121. DOI 10.1007/s10298-005-0087-9
- Moreau F (1960):** Botanique: Procaryotes (cyanophytes et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu." Edition *.Paris, Gallimard.*
- Morena.M , M. Martin-Mateo , J.-P. Cristol et B. Cnaud (2002).** Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Journal de Néphrologie ,23 (5),pp.* 201-208
- Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA.(2011).** Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology, 83,* 173-179.
- Noichri Yosri (2016).** Stress oxydant et Infarctus du Myocarde. Thèse de doctorat, *l'université paris sud*

Noui A., (2018). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de la plante *Daucus muricatus (Apiaceae)*. Thèse de Doctorat en Sciences en Chimie organique. *Université des FrèresMentouri .Constantine*.p: 104.

Oluwaseun Ruth Alara, Nour Hamid Abdurahman, ChinonsoIshamelUkaegbu(2021) : Extraction des composés phénoliques : un bilan. *Recherché actuelle en science alimentaire* 4 ,200–214

Ono E., Fukuchi-Mizutani M., Nakamura N., Fukui Y., Yonekura-Sakakibara K., Yamaguchi M., Nakayama T., Tanaka T., Kusumi T. et Tanaka Y. 2006- Yellow flowersgenerated by expression of the aurone biosyntheticpathway. *l'Académie nationale des sciences des États-Unis*103(29): 11075-11080.

Opara .Emmanuel C(2006). Description and Definition of Oxidative Stress, *Dis Mon* ; 52:183-198. doi:10.1016/j.disamonth.2006.05.003

OzendaP(1958). Flore du sahara septentrional et central. Editions *du Centre National de la Recherche Scientifique*, Paris. p. 356.

Pacher,p.Beckman,j.s ,liaudet,l.(2007).nitric oxide and peroxynitrite reviews ,87(1),315-424

Pimenov MG, Leonov MV (1993). The genera of the Umbelliferae Nomenclator. *RoyalBotanic Gardens, Kew, United Kingdom*, 156 pp

Pier-Giorgio Pietta, (2000). Flavonoids as Antioxidants. *journal of Natural Products*,63(7) 1035-104

PřemyslMladěnka, Katerina Macáková, TomášFilipický, LibušeZatloukalová, LuděkJahodář, Paolo Bovicelli, IlariaProietti Silvestri, RadomírHrdina, Luciano Saso(2011) : In vitro analysis of ironchelatingactivity of flavonoids. *Journal of Inorganic Biochemistry* 105, 693–701

Prior.R.L, Wu.X, Schaich.K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290–4302.

Pstová J. Lasousky J. Vičar J. (2003). Metal-chelating properties. Electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six naturel phenolics. *Biomed.papers*, 147, 147-153.

Qianqian Qi, Meijun Chu, Xiuting Yu, Yanning Xie, Yali Li, Yongmei Du, Xinmin Liu, Zhongfeng Zhang, John Shi & Ning Yan (2022) . Anthocyanins and Proanthocyanidins: Chemical Structures, Food Sources, Bioactivities, and Product Development. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2029479>

Quezel P, Santa S (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.

Re, R., Pellegrini, N., A. Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 26, 1231-1237

Rira Moufida, 2019. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *université Clermont Auvergne . Thèse de doctorat*.

SáenzLáin, C. (1981). Research on *Daucus L.* (Umbelliferae). Actas III Congreso Óptima. *Anales Jardín botánico de Madrid* 37(2): 481-534.

SaidatBoubakeur, Asmaa Nouredine ,BoulanouarBakchiche, and Mohamed Maatallah (2015). Etude comparative des indices d'activité antioxydante des extraits du Cérium et du DPPH: Application sur trois plantes médicinales locales, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(3). 681-690

Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006- Les polyphénols en agroalimentaire. Edition. *Tec & Doc, lavoisier Paris*, 130p.

Sebastian J. Padayatty, Arie Katz, Yaohui Wang, Peter Eck, Oran Kwon, Je Hyuk Lee, Shenglin Chen, Christopher Corpe, Anand Dutta, Sudhir K Dutta & Mark Levine (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention, *Journal of the American College of Nutrition*, 22 (1), 18–35

Sefidkon F., Abbasi K., Jamzad Z. and Ahmadi S., (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja Rechingerijamzad*. *Food chemistry*. 100: 1054-1058. 143. Singh K., Dhangade H., Singh N., Kashyap P., Sarkar SR., (2010).

Selka Mohammed Adil, Mohammed Yacine Achouki ,Amel Chenafa (2021) Antioxidant and antimicrobial activities of Algerian *Vitis vinifera L. leaves* *Algerian journal of pharmacy*. 4(1). 2602–975

- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009).** Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research*, 535(2), 310–329. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900039>
- Shahat, A.A, Marzouk, M.S. (2013).** Tannins and Related Compounds from Medicinal Plants of Africa Abdelaaty, *Medicinal Plant Research in Africa*. 449- 555. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00013-811>
- sies,H.(2015).**Oxidative stress :a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*.4,180-183
- Stern JL, Hagerman AE, Steinberg PD, Winter FC, Estes JA. 1996.** A new assay for quantifying brown algal phlorotannins and comparisons to previous methods. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 1273-1293.
- Sun. B, Richardo-da-Silvia, J.M., Spranger, I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274.
- Teng Hui , Chen Lei (2019) :** Polyphénols et biodisponibilité : An update .*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(13), 2040-2051. DOI: 10.1080/10408398.2018.1437023
- Tessier.F, Marconnet.P (1995).** Radicaux libres, systkmes antioxydants et exercice, *Science, Sports*, 10.1-13
- Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Bourgou S, Hajlaoui H, Abdelly C, (2010).**Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT, Food Science and Technology*, 43, 632-639.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin T.D, Mazur M et al(2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease: *international journal of Biochemie*, 39: 44-84.
- Valko.M , C.J. Rhodes b, J. Moncol , M. Izakovic , M. Mazur (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *journal of Chemico-Biological Interactions* 160,1–40
- Vazquez G, Fontenla E, Santos J, Freire MS, Gonzalez-Alvarez J, Antorrena G. (2008).** Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*, 28, 279-285.

Vermerris Wilfred. Ralph Nicholson (2009). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN, 10 (1): 4020-5163

Vermerris Wilfred , Ralph Nicholson (2006). Phenolic compound Biochemistry. *Springer Science and Businessmedia*

Wichtl M, Anton R. 2003. Plantesthérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition. *Tec et Doc* et EMI.

Xu cong-cong., Wang Bing., Pu Yi-Qiong., Tao Jian-Sheng., Zhang Tong 2017. Advance in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials .*Chinese journal of Natural Médecine* 2017, 15(10):0721-0731

Zhang Liang-liang, Lin Yi-Ming (2008). Tannins from *Canarium album* with potent antioxidant activity. *Journal of Zhejiang University Science B* 9(5):407-415 doi:10.1631/jzus.B0820002

ملخص

في إطار اكتشاف مضادات الأكسدة الجديدة من المصادر الطبيعية ، ركزت دراستنا على تقييم محتويات المركب الفينولي وكذلك على الخصائص المضادة للجذور لمستخلصات جزأين من جذور *Daucus crinitus* Desf: القشرة والجزء الأبيض.

تم تقدير محتويات البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف بالطرق الطيفية. النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى ثراء قشرة *D. crinitus* في البوليفينول (7.16 ± 49.28 مجم EAG / جم ES) وفي الفلافونويد (0.78 ± 12.82 مجم EC / جم ES). محتويات العفص منخفضة ولكنها متقاربة في كلا الجزأين.

تم تقييم النشاط المضاد للجذور في القشرة والجزء الأبيض من خلال طريقتين لمحاصرة الجذور DPPH و ABTS ، تم إجراؤها في المختبر. يعتبر مستخلص القشرة أكثر فعالية (IC_{50} من 0.004 ± 0.138 مجم / مل لـ DPPH و 0.001 ± 0.193 مجم / مل لـ ABTS) من الجزء الأبيض. هذا النشاط أقل من نشاط المعايير.

تشير هذه النتائج إلى أن قشرة الجذر لـ *D. crinitus* هي مصدر معتدل للمركبات الفينولية ذات الإمكانيات المضادة للأكسدة.

كلمات المفتاحية: *Daucus crinitus* Desf ، المركبات الفينولية ، النشاط المضاد للجذور ، محاصرة الجذور ، DPPH ، ABTS

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, notre étude s'est concentrée sur l'évaluation des teneurs en composés phénoliques ainsi que sur les propriétés anti-radicalaire des extraits des deux parties de racines de *Daucus crinitus* Desf. de la région de Tlemcen (Algérie) : la croûte et la partie blanche.

L'estimation des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés a été réalisée par des méthodes spectrophotométriques. Les résultats obtenus indiquent la richesse de la croûte de *D. crinitus* en polyphénols ($49,28 \pm 7,16$ mg EAG/g ES) et en flavonoïdes ($12,82 \pm 0,78$ mg/EC/g ES). Les teneurs en tanins sont faibles mais proches dans les deux parties.

L'activité anti-radicalaire dans la croûte et la partie blanche a été évaluée par deux méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS, réalisées *in vitro*. L'extrait de la croûte est plus puissant (IC_{50} de $0,138 \pm 0,004$ mg/ml pour le DPPH et de $0,193 \pm 0,001$ mg/ml pour l'ABTS) que celui de la partie blanche. Cette activité est inférieure à celle des standards.

Ces résultats suggèrent que la croûte des racines de *D. crinitus* est une source modérée de composés phénoliques à potentiel antioxydant.

Mots clés : *Daucus crinitus* Desf., composés phénoliques, activité anti-radicalaire, piégeage des radicaux, DPPH, ABTS.

Abstract

In the context of discovering new antioxidants from natural sources, our study focused on the evaluation of phenolic compound contents and the free radical scavenging properties of extracts from the two root parts of *Daucus crinitus* Desf. from Tlemcen (Algeria) : The rind and the white part.

Spectrophotometric methods were used to estimate polyphenol, flavonoid, and condensed tannin content. The results obtained indicate the richness of *D. crinitus* rind in polyphenols (49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES) and flavonoids (12.82 ± 0.78 mg/EC/g ES). Tannin levels are low but close in both parts.

Anti-radical activity in the rind and white part was assessed by two radical scavenging methods, DPPH and ABTS, performed *in vitro*. The rind extract is more potent (IC_{50} of 0.138 ± 0.004 mg/ml for DPPH and 0.193 ± 0.001 mg/ml for ABTS) than the white part extract. This activity is lower than that of the standards.

These results suggest that *D. crinitus* root rind is a moderate source of phenolic compounds with antioxidant potential.

Keywords: *Daucus crinitus* Desf. Phenolic compounds, antiradical activity, radical scavenging, DPPH, ABTS.