

# CONTENU PHENOLIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES FEUILLES DE L'ESPÈCE *Bunium mauritanicum*

KAROUCHE S.<sup>1</sup>, BENBOTT A.<sup>1</sup>, HENOUDA S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Université larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi-Faculté des sciences exactes, sciences de la nature et de la vie-Algerie

<sup>2</sup>Université Ahmed Draia Adrar- Faculté des sciences et technologie- Laboratoire des Ressources Naturelles Sahariennes- Algerie

## Résumé :

La médecine moderne utilise de nombreux composés dérivés de plantes comme matière première essentielle dans l'industrie pharmaceutique. *Bunium mauritanicum* c'est l'une des nombreuses plantes qui, à travers l'histoire, ont eu une réputation dans le domaine médical. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les substances bioactives particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes ainsi qu'une évaluation de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire d'extrait des feuilles de cette espèce. L'échantillon a été soumis à une macération dans le méthanol, et le rendement obtenu de la partie aérienne est de l'ordre de 3.1%. L'analyse quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes, a révélé la présence des quantités importantes respectivement  $123.80 \pm 1.99$  µg EAG/mg et  $76.79 \pm 9.039$  µg EQ/mg d'extrait. Par ailleurs, l'extrait méthanoïque des feuilles renferme un fort pouvoir réducteur et des capacités anti-oxydantes vis-à-vis le radical DPPH avec un IC50 de 19.36 mg/ml. L'évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire d'extraits des feuilles présentent un pourcentage d'inhibition de 40.11%. Nos résultats démontrent que le potentiel remarquable de cette plante en tant que source précieuse d'antioxydants présentant des effets remarquable sur le plan biologique.

**Mots clés:** Stress oxydatif ; molécules bioactives ; activité anti-oxydante ; activité anti-inflammatoire.

## PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE LEAVES OF THE BUNIAM MAURITANICUM SPECIES

### Abstract:

Modern medicine uses many compounds derived from plants as an essential raw material in the pharmaceutical industry. *Bunium mauritanicum* is one of the many plants which, throughout history, have had a reputation in the medical field. The main objective of this study was to evaluate bioactive substances, particularly polyphenols and flavonoids, as well as an evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts from the leaves of this species. The sample was subjected to maceration in methanol, and the yield obtained from the aerial part is of the order of 3.1%. The quantitative analysis of total phenols and flavonoids revealed the presence of significant amounts respectively  $123.80 \pm 1.99$  µg EAG / mg and  $76.79 \pm 9.039$  µg EQ / mg of extract. Moreover, the methanoic extract of the leaves contains a strong reducing power and antioxidant capacities with respect to the DPPH radical with an IC50 of 19.36 mg / ml. The in vitro evaluation of the anti-inflammatory activity of extracts from the leaves showed a percentage inhibition of 40.11%. Our results demonstrate the remarkable potential of this plant as a valuable source of antioxidants exhibiting remarkable effects biologically.

**Keywords:** Oxidative stress, bioactive molecules; antioxidant activity; anti-inflammatory activity.

## Introduction

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [1]. Dans ce contexte, le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions usages, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national, *Bunium mauritanicum* est une plante médicinale très répondeuse dans l'Est Algérien surtout dans la région d'Oum El Bouaghi. Elle appartient à la famille des Apiaceae [2].

Les plantes médicinales contiennent un grand nombre de molécules actives d'intérêt multiple mis à profit dans

## Matériel et méthodes

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la plante *Bunium mauritanicum* qui a été récolté au mois d'avril 2020 de la région Oum El-Bouaghi. Les feuilles sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré et à température ambiante. Puis le

### Préparation de l'extrait méthanolique (MeOH)

50g de la poudre subit une macération dans 500 ml de méthanol à 80%. Après une période d'incubation de 48 heures à température ambiante, le mélange hétérogène est filtré par papier filtre ; ainsi, l'extrait récupéré est soumis à une

l'industrie, alimentation, cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces molécules, on retrouve, les coumarines, alcaloïdes, acides phénoliques, tannins, lignines, terpènes et flavonoïdes [3]. Les flavonoïdes possèdent potentiellement des activités biologiques, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, antimicrobiennes et anti-oxydantes [4]. L'objectif de cette étude était la mise en évidence des composés phytochimique présent dans les feuilles de la plante *Bunium mauritanicum* et d'estimer la teneur de cette espèce végétale en ces composés phénoliques et d'évaluer leurs pouvoirs anti-oxydant et anti-inflammatoire.

matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique et pesé. La poudre obtenue est conservée dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.

évaporation à basse pression à 60°C avec un rotavapeur de type Heidolph [5, 6].

### Dosage des polyphénols totaux des extraits

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par [7].

### Dosage des flavonoïdes totaux des extraits

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) citée par [8] est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

### **L'activité anti-oxydante**

Piégeage du radical libre par DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de nos extraits, nous avons utilisé la méthode

### **Réduction du fer : test FRAP**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir anti-radicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer

### **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits in vitro**

L'activité anti-inflammatoire d'extrait méthanoïque des feuilles de *Bunium mauritanicum* est évaluée par la méthode de dénaturation des protéines décrite par [12], avec quelques modifications. Par cette méthode, acide 2-[2-(2,6 dichlorophenyl) aminophényl] éthanoïque (Diclofénac sodium) est un anti-inflammatoire utilisé comme contrôle positive. Le test consiste en deux expériences. Dans la première expérience, le mélange réactionnel est constitué de 2 ml d'extrait méthanoïque à différentes concentrations et 2.8ml d'eau bi-distillée ajustée à pH=6.76, puis on mélange avec 2 ml d'albumine de l'œuf. On incube à 37°C pendant 15 minutes. Dans la deuxième expérience, l'extrait méthanoïque est remplacé par l'acide 2-

basée sur le DPPH, selon le protocole de [9]. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100.$$

ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) [10]. Le protocole expérimental suivi est celui de [11].

éthanoïque. Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait méthanoïque et l'acide 2-éthanoïque sont remplacés par le méthanol.

La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain marie chauffé à 72°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660nm en utilisant l'eau bi-distillée comme blanc. Les expériences sont répétées trois fois. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est exprimée en pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine et calculée par la formule suivante

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{absorbance du témoin} - \text{absorbance de l'échantillon traité}) / \text{absorbance du témoin} * 100.$$

## Résultats

### Screening phytochimique

La technique de screening phytochimique permet de rechercher systématique des produits naturels, nous avons mis en évidence l'existence de métabolismes secondaire dans la partie aérienne de *Bunium mauritanicum* en utilisant trois extraits (n-hexane, le méthanol, l'eau

chaude), qui peuvent être observés sous forme de précipitation, changement de couleur spécifique, un examen sous la lumière ultra violette. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques sont consignés dans le (tableau1).

**Tableau 1-** Les composés phytochimique détectés dans les feuilles de *B. mauritanicum*

Composants phytochimiques	Résultats
Huiles essentielles	+
Stérols et triterpenes	+
Flavones aglycone	+
Les coumarines	+
Polyuronides	+
Tanins	+
Saponosides	±
Alcaloïdes	+
Anthracenosides	+

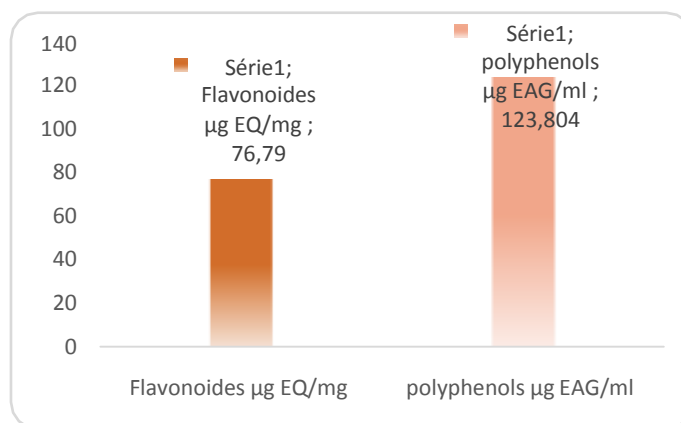
(+) : test positif, (-) : test négatif, (±) : trace

**Tableau 2** - La couleur, l'aspect et le rendement d'extrait MeOH de la plante *Bunium mauritanicum*

<i>Matériel Végétal</i>	<b>Extrait</b>	<b>Aspect</b>	<b>Couleur</b>	<b>M (g)</b>	<b>Rendement (%)</b>
<i>B. Mauritanicum</i>	MeOH	Pâteux	Marron foncé	50	3.1

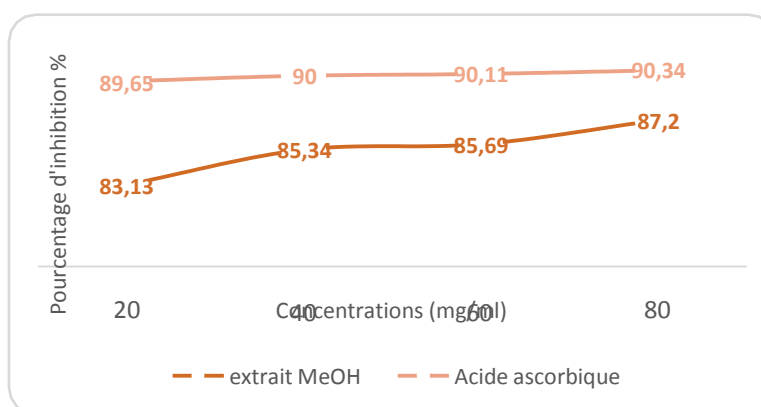
### Résultats de dosage des composés phénoliques

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de *B. mauritanicum* sont représentées dans (la figure1) :



**Figure 1**-teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des feuilles de *B. mauritanicum*.

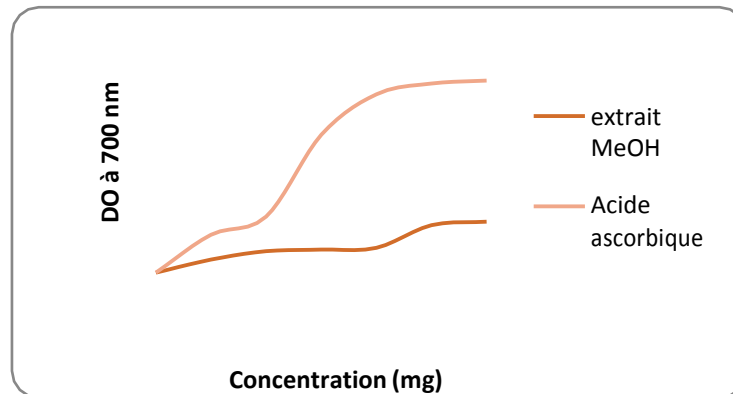
### Test de piégeage du radical libre DPPH



**Figure 2**- Pourcentage d'inhibition de l'extrait MeOH et de l'acide ascorbique

Le pouvoir réducteur (FRAP) c'est l'une de plusieurs méthodes utilisées pour estimer l'activité anti-oxydante d'un extrait d'une plante. Les résultats de la mesure du

pouvoir réducteur des feuilles de notre plante en utilisant l'extrait méthanolique, sont représentés dans la (figure 3) ci-dessous

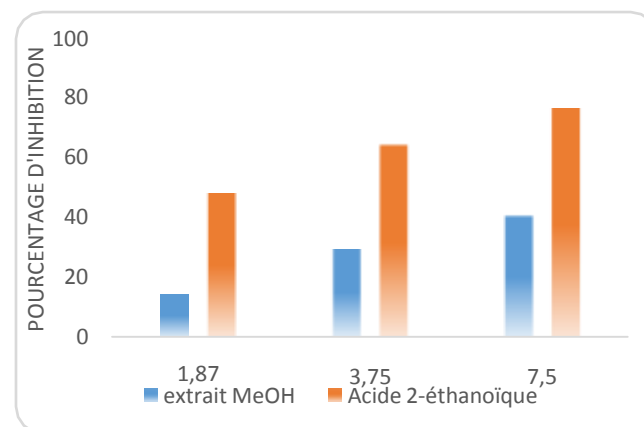


**Figure 3-** Le pouvoir réducteur de l'extrait MeOH de *Bunium mauritanicum* et de l'acide ascorbique

### L'activité anti-inflammatoire

Les résultats de l'effet inhibiteur de la dénaturation d'albumine de l'œuf en fonction des différentes concentrations

d'extrait de feuilles de *B. mauritanicum* sont résumés dans la (figure 4).



**Figure 4-** Pourcentage d'inhibition d'extrait MeOH et de Diclofénac sodium

### Discussion

Au vu des résultats obtenus lors de la présente étude, nous déduisons que les

feuilles de notre plante renferment toutes les grandes familles des

métabolites secondaires. Alors que les travaux effectués par [13] sur les tubercules de la même variété, ont démontré la présence des huiles volatiles, stérols et triterpènes, des saponines, des tanins et des alcaloïdes, et l'absence totale d'anthracenosides, des flavones aglycones et des coumarines comparées à nos résultats. En effet, des rendements supérieurs ont été trouvés dans l'étude menée par [13] avec un pourcentage de l'ordre de 7,81% de l'extrait méthanolique et 6,79% de l'extrait aqueux obtenus à partir des tubercules de *Bunium mauritanicum* récoltés de la région Aïn Dis de la wilaya d'Oum El-Bouaghi.

Cette différence entre les résultats de rendement d'extraits d'une même plante réside dans plusieurs facteurs, dont le choix du matériel, l'origine de la plante, le temps d'extraction, la nature des solvants, la différence de la masse moléculaire ainsi que des facteurs climatiques.

Concernant les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, [13] ont trouvé des valeurs significativement inférieures de nos résultats avec des teneurs de l'ordre de  $89,442 \pm 5,951 \mu\text{g EAG/mg}$  et  $4,031 \pm 0,141 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait méthanoïque des tubercules respectivement. Ceci indique que les

feuilles sont très riches en polyphénols que les tubercules de *B. mauritanicum*.

Cette différence dans les teneurs trouve probablement son explication dans la méthode d'extraction ainsi que les conditions environnementales, climatiques, période de collecte, les facteurs génétiques et les conditions expérimentales [14]. Il a été prouvé que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre [15].

En effet, la distribution des métabolites secondaires peut fluctuer entre les différents organes de la plante [16, 17].

Les courbes comparatives illustrées dans la (figure 2), montre que le pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de la partie aérienne (83.13%, 85.34%, 85.69%, 87.20%) est inférieur à celui du standard (89.65%, 90%, 90.11%, 90.34%) pour toutes les concentrations étudiées. On peut déduire que l'extrait MeOH des feuilles de *B. mauritanicum* présente un fort pouvoir antioxydant. En effet, l'acide ascorbique représente un IC50 de l'ordre de 15.70 mg/ml suivi par l'extrait méthanolique des feuilles avec un IC50 de 19.36 mg/ml,

on peut déduire que notre extrait de *B. mauritanicum* a montré une activité proche du standard à piéger les radicaux libres DPPH. Nous avons trouvé que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour l'extrait méthanoïque de notre plante. En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols [18]. Si nous comparons nos résultats, nous constatons que l'extrait MeOH des feuilles de *Bunium mauritanicum* renferme un fort pouvoir réducteur.

Pour l'activité anti-inflammatoire, les structures spatiales des protéines sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme : dénaturation. L'albumine de l'œuf est une protéine de réserve, globulaire, soluble dans

### **Conclusion**

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives, ayant montré leurs efficacités dans le traitement de diverses pathologies, *Bunium*

l'eau. Elle est sensible à l'élévation de la température (coagulation thermique). La formation de ponts disulfures inter ou intramoléculaires au cours du chauffage par échanges irréversibles et la polymérisation désordonnées qui en résulte conduit à une diminution de sa solubilité. Lors des syndromes inflammatoires, une hypoalbuminémie est aperçue, ce qui suppose sa dénaturation au cours de l'inflammation[19].

D'après les résultats obtenus, on remarque que le pourcentage d'activité anti-inflammatoire augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide 2-éthanoïque ou pour les extraits méthanoliques de la partie étudiée (feuilles). Il semble que l'activité anti-inflammatoire est fortement dépendante aux concentrations d'extrait, plus l'extrait est concentré, plus le pourcentage d'activité est élevé. Celle-ci pourrait être due à la richesse de l'extrait des feuilles de *B.mauritanicum* en composés bioactifs.

*mauritanicum* c'est l'une de ces dernières. Le screening phytochimique avait mis en évidence la présence de nombreux métabolites secondaires. En effet, quantitativement, l'évaluation du



contenu des polyphénols totaux et des flavonoïdes, révèle la présence des quantités importantes dans l'extrait méthanolique des feuilles. Ainsi, l'étude du pouvoir antiradicalaire des extraits vis-à-vis le DPPH a confirmé les propriétés puissantes des extraits à piéger les radicaux libres.

### Remerciements

Mes remerciements vont également à mes étudiantes Lebouazid Roufaïda

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Bunium mauritanicum* montre que cette plante présente un pouvoir anti-inflammatoire, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

et Meziani Rahmat Allah pour leur participation dans ce travail.

### Références bibliographiques

- [1] Djahra, AB. 2014: « Etude phytochimique et activité antimicrobienne antioxydante antihépatotoxique de Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L ». [2] CHENTOUH, S, S BOULAHBEL, F ADJAL, M TOLBA, N ALLOUA, Y MOUMEN, et Y BENTAYEB. 2018: « EFFETS DES EXTRAITS ORGANIQUES DE *Bunium incrassatum* SUR QUELQUES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES CHEZ LES LAPINES DE POPULATION LA RACE LOCALE ». *Revue des Bioressources* 8 (2): 34-42. [3] Bahorun, T. 1997: « Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and agricultural research council ». Reudit. Mauritius. [4] Bekkara, F Atik, L Bousmaha, SA Taleb Bendiab, JB Boti, et J Casanova. 2007: « Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen ». *Biologie & Santé* 7 (1). [5] Thiaw, Cheikh, Emile Victor Coly, Saliou Djiba, Mbaye Diop, Ousmane Ndoye, Ndiaga Cisse, et Mbacké Sembene. 2015: « *Senna occidentalis* L., une plante prometteuse dans la lutte contre *Caryedon serratus* Ol.(Coleoptera, Bruchidae), insecte ravageur des stocks d'arachide au Sénégal ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (3): 1399- 1418. [6] Andualem, Gizachew, Shemsu Umar, Fentabil Getnet, Alemu Tekewe, Haile Alemayehu, et Nigatu Kebede. 2014: « Antimicrobial and phytochemical screening of methanol extracts of three medicinal plants in Ethiopia ». *Advan Biol Res* 8 (3): 101- 6. [7] Singleton, Vernon L, et Joseph A Rossi. 1965: « Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents ». *American journal of Enology and Viticulture* 16 (3): 144- 58. [8] Djeridane A ., Yous M., Nadjemi B ., Boutassouna D ., Stocker P ., Vidal N . 2006: Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts

containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654-660.

[9] Brand-Williams, Wendy, Marie-Elisabeth Cuvelier, et CLWT Berset. 1995: « Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity ». *LWT-Food science and Technology* 28 (1): 25- 30.

[10] Oyaizu, Makoto. 1986: « Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine ». *The Japanese journal of nutrition and dietetics* 44 (6): 307- 15.

[11] Karagözler, Arife Alev, Bengi Erdağ, Yelda Çalmaz Emek, et Deniz Aktaş Uygun. 2008: « Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata* ». *Food Chemistry* 111 (2): 400- 407.

[12] Alhakmani, Fatma, Sokindra Kumar, et Shah Alam Khan. 2013: « Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera* ». *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 3 (8): 623- 27.

[13] Karouche, S, A Benbott, S Henouda, S Malki, et I Boudchicha. 2020: « EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *BUNIAM MAURITANICUM TUBERSS* ». *Journal of Fundamental and Applied Sciences* 12 (2): 916- 930.

[14] Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D. 2009:

Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112(2): 303-309.

[15] Apak R., Guçlu K, Demirata B, Ozyurek M, Celic S. E, Bectasoglu B, Berker K. I., & Özyurt, D. 2007: Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compound with the CUPRAC assay. *Molecules* 12(7), 1496-1547.

[16] Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. 2008: Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (5): 372-379.

[17] Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. 2008: Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(11): 865-873.

[18] Ferreira, V, J Barbosa, J Silva, S Vendeiroa, A Mota, F Silva, MJ Monteiro, T Hogga, BP Gibbs, et P Teixeira. 2007: « Chemical and microbiological characterisation of “Salpicao de Vinhas” and “Chourica de Vinhas”»: Traditional dry sausages produced in the North of Portugal ». *Food Microbiol* 24: 618- 23.

[19] Cuq, JL. 2006: « Biochimie des protéines ». Polytech'Montpellier Université Montpellier 2