



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et  
de l'univers



**Département de Biologie**

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

# Mémoire de Master En Biologie

Spécialité : **Biochimie : Molécules bioactives**

Présenté et Soutenu le : **22-06-2017** par :

Me<sup>lle</sup> **BENYAHIA Hanane**

Titre

---

## **Etude phytochimique et dosage de quelques composés phénoliques des fruits d'*Elettaria cardamomum* et évaluation de son activité antioxydante**

---

Jury :

Présidente	<b>M<sup>elle</sup> BENARIBA N.</b>	MCA	Université de Tlemcen
Examineur	<b>M<sup>r</sup> AZZI Rachid</b>	MCA	Université de Tlemcen
Promotrice	<b>M<sup>me</sup> BELKACEM N.</b>	MCB	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2016-2017**

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents ; sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant toute ma vie, ce travail n 'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.*

*Mes chères sœurs, mes frères, je vous souhaite une longue vie et bonne santé, j'espère que Dieu vous garde.*

*Toute ma famille*

*Mes Amies*

# **Remerciements**

*En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volanté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Mme BELKACEM N., maitre de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Melle Benariba N., maitre de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.*

*J'exprime également mes remerciements à Mr AZZI R., maitre de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de me fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

*Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tous les doctorants en biochimie pour leurs aides, leurs soutiens, surtout leurs gentillesses.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leur gentillesse et leurs conseils.*

*Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Liste des abréviations*

- A<sub>AR</sub>** : Activité antiradicalaire
- ABTS**: 2, 2'-Azinobis (3-ethylbenzotriazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt
- ADN**: Acide Désoxyribonucléique
- BHA**: Butylhydroxyanisole
- BHT**: Butylhydroxytoluène
- DPPH<sup>•</sup>** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- EAG/gE** : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait
- EQC/gE** : Equivalent catéchine par gramme d'extrait
- ERN** : Espèces réactives de l'azote
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power
- FTC**: Ferric thiocyanate
- GPX** : Glutathion peroxydase
- GSH** : Glutathion réduit
- IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité
- LDL**: Low Density Lipoprotein
- MeOH**: Méthanol
- MS** : Matière sèche
- NADPH** : Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate
- NO**: monoxyde d'azote
- O<sub>2</sub><sup>•-</sup>**: Anion Superoxyde
- OH<sup>•</sup>**: Radical hydroxyle
- ONOO<sup>-</sup>**: Peroxynitrite
- ORAC**: Oxygen Radical Absorbance Capacity
- PG**: Gallate proylée
- Rdt**: Rendement
- RL**: Radical libre
- ROO<sup>•</sup>**: Radical peroxyde
- SOD**: Superoxyde dismutase
- TRAP** : Total Radical Trapping Antioxidant Potentiel
- UV** : Ultra-violet
- v/v** : Volume sur volume

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	03
<b>Tableau 02</b> : Rendements, aspects et couleurs des extraits bruts d' <i>E.cardamomum</i> .....	28
<b>Tableau 03</b> : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts d' <i>E.cardamomum</i> .....	29
<b>Tableau 04</b> : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits des fruits d' <i>E.cardamomum</i> .....	30
<b>Tableau 05</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> et de l'activité antiradicalaire des différents extraits.....	33

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Déséquilibre de la balance des espèces prooxydants et des systèmes de défense antioxydants.....	02
<b>Figure 02 :</b> Principales sources des radicaux libres .....	04
<b>Figure 03 :</b> structure (A) de l'acide Benzoïque et (B) de l'acide cinnamique .....	11
<b>Figure 04 :</b> Structure de base des flavonoïdes.....	12
<b>Figure 05:</b> Structure chimique (A) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (B) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose).....	12
<b>Figure 06 :</b> structure des coumarines.....	13
<b>Figure 07 :</b> Structure de 1,4-benzoquinone (A) et 9,10-antraquinone (B).....	13
<b>Figure 08 :</b> Structure de base d'un anthocyane.....	14
<b>Figure 09 :</b> structure de l'isoprène.....	14
<b>Figure 10 :</b> Structure de la Cocaïne (A) et la morphine (B) .....	15
<b>Figure 11 :</b> La plante <i>E.cardamomum</i> (A), tiges portants des fleurs et des fruits (B) et (C).....	16
<b>Figure 12 :</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	19
<b>Figure 13 :</b> les fruits d' <i>E.cardamomum</i> sèches (A) ; broyées (B).....	20
<b>Figure 14 :</b> Protocole d'extraction des fruits d' <i>Elettaria cardamomum</i> .....	21
<b>Figure 15 :</b> Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	30
<b>Figure 16 :</b> Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	30
<b>Figure 17 :</b> Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	30
<b>Figure 18 :</b> Pouvoir réducteur des extraits bruts eau/MeOH et eau/acétone des <i>fruits d'E. cardamomum</i> selon la méthode de FRAP.....	31
<b>Figure 19 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par l'acide ascorbique, le BHA, le BHT (A), l'extrait brut eau/MeOH (B) et l'extrait brut eau/acétone (C).....	32

# Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

## 1<sup>ère</sup> Partie : Synthèse bibliographique

1. Le stress oxydant.....	02
2. Le radicaux libres.....	02
3. L'origine du stress oxydatif.....	04
4. Les conséquences du stress oxydatif.....	05
4.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN.....	05
4.2. Les dommages oxydatifs aux Lipides.....	05
4.3. Les dommages oxydatifs aux protéines .....	05
5. Les maladies liées au stress oxydatif .....	05
6. Les antioxydants et les systèmes de défense.....	06
6.1. Le système antioxydant endogène enzymatique.....	06
6.2. Le système antioxydant endogène non enzymatique.....	06
6.3. Le système antioxydant exogène .....	07
6.4. Les antioxydants de synthèse.....	07
7. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	08

## Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

1. Définition.....	10
2. Classification des métabolites secondaires .....	10
2.1. Les composés phénoliques .....	10
2.1.1. Les acides phénoliques.....	10
2.1.2. Les flavonoïdes.....	11
2.1.3. Les tanins.....	12
2.1.4. Les coumarines.....	13
2.1.5. Les quinones.....	13
2.1.6. Les anthocyanes.....	13
2.2. Les saponines.....	14
2.3. Les térpénoïdes.....	14
2.4. Les alcaloïdes.....	14

### Chapitre 3 : La plante *Elettaria cardamomum*

1. Description botanique.....	16
2. Classification .....	17
2. Noms communs .....	17
4. Composition chimique .....	17
5. Utilisation traditionnelle .....	17
6. Activités biologiques .....	18

### 2ème Partie : Partie expérimentale

#### Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	20
1.1. Préparation .....	20
1.2. Extraction .....	20
2. Analyse phytochimique.....	21
3. Dosage des composés phénoliques.....	23
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	24
3.3. Dosage des tanins condensés.....	24
4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	25
4.1. Réduction du fer par la méthode FRAP ( <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ).....	25
4.2. Piégeage du radical libre DPPH <sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	26

#### 3ème partie : Résultats et interprétations

1. Rendements en extrait bruts.....	28
2. Analyse phytochimiques.....	28
3. Dosage des composés phénoliques.....	29
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	31
4.1. Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	31
4.2. Piégeage du radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	32
4.2.1. Calcul des IC <sub>50</sub> et de l'activité antiradicalaire ( <i>AAR</i> ).....	35
<b>Discussion</b> .....	35
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Références bibliographiques</b> .....	40



# *Introduction*

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles, environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **(EL Rhaffari et Zaid, 2004)**.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté, cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire, la cosmétologie et la pharmacie, parmi ces composés, on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes **(Bahroun et al., 1996)**.

De plus, les plantes médicinales sont en effet douées de multiples vertus thérapeutiques, elles jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, le diabète, le rhumatisme, les maladies infectieuses, cardiovasculaires et neurodégénératives **(Mata et al., 2007 ; Houessou, 2010)**.

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution **(Favier, 2003)**. Il est caractérisé par la production quotidiennement des radicaux libres par l'organisme. Ces derniers sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. La surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme **(Koechlin, 2006)**.

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. C'est dans cette optique que plusieurs études biologiques ont été effectuées, l'objectif principal de notre étude est basé sur une étude phytochimique ainsi qu'une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des fruits d'*Elettaria cardamomum*. Dans ce but nous allons procéder à une préparation de deux extraits bruts à partir des fruits de cette plante ; une analyse phytochimique avec un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ; ainsi une évaluation de l'effet antioxydant de chaque extrait par la méthode de piégeage du radical libre DPPH<sup>\*</sup> et la méthode de réduction du fer FRAP.

*1<sup>ère</sup> partie : Synthèse  
bibliographique*

*Chapitre 1 : Le stress oxydant*

## 1. Le stress oxydant

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydante, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (Fig. 01) (Belaïch *et al.*, 2015 ; Belaïch et Boujraf, 2016).



**Figure 01** : Déséquilibre de la balance des espèces prooxydants et des systèmes de défense antioxydants (Belaïch et Boujraf, 2016)

## 2. Les Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches périphériques, rendant ainsi ces espèces particulièrement instables (Durand *et al.*, 2013). Ils sont très réactifs et répartis en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en espèces réactives de l'azote (ERN) (Sosa *et al.*, 2013). Les ERO comprennent des dérivées radicalaires comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) ou le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Les ERN sont définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou le monoxyde d'azote (NO) (Tabl. 01) (Pisoschi et Pop, 2015 ; Weidinger et Kozlov, 2015).

Tableau. 01 : Les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

	Réaction de formation	Propriétés
L'anion superoxyde (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> )	Il résulte de la réduction monoélectronique de l'oxygène ( <b>Delattre et al., 2005</b> ). $O_2 + 1e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$	C'est le radical le moins réactif, mais il joue un rôle très important dans la génération d'autre radicaux libres ( <b>Koechlin, 2006</b> )
Le peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Produit à partir de l'O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> , cette réaction est catalysée par le superoxyde dismutase (SOD) ( <b>Orban, 2010</b> ) $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle (OH <sup>•</sup> ) ( <b>Gardès-Albert et Jore, 2003</b> )
Le radical hydroxyle (OH <sup>•</sup> )	Le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> se transforme en OH <sup>•</sup> par la réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + Fe^{3+}$ Ou celle ou cycle de Haber-Weiss : $H_2O_2 + O_2^{\bullet-} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + O_2$ ( <b>Huet et Duranteau, 2008</b> )	C'est l'espèce radicalaire le plus dangereux dans l'organisme, il est très puissant, il attaque toutes les cibles cellulaires (acide nucléique, acides gras et protéines) et crée des dégâts très importants ( <b>Delattre et al., 2005</b> )
Le monoxyde d'azote (NO)	Il est synthétisé par voie enzymatique à partir d'un atome d'azote de l'acide aminé L-arginine, d'une molécule d'oxygène et de cofacteur (NADPH) ( <b>Li et al., 2014</b> ) $L\text{-arginine} + O_2 + NADPH \rightarrow L\text{-citrulline} + NO + NADP^+ + e^-$	Le NO est un radical libre qui est surtout réputée pour ses propriétés physiologiques mais sa surproduction capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma et d'entamer la peroxydation lipidique ( <b>Barouki, 2006</b> )
Le peroxydinitrite (ONOO <sup>-</sup> )	L'O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> peut réagir avec le NO pour former l'ONOO <sup>-</sup> $O_2^{\bullet-} + NO^{\bullet} \rightarrow OONO^-$	L'ONOO <sup>-</sup> très réactif et responsable des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL, il est capable d'oxyder les protéines et les bases azotées des brins d'ADN ( <b>Massion et Balligand, 2007</b> )

### 2.1. Rôle physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres longtemps considérés comme délétères ont en quantité modérée, un rôle physiologique essentiel au niveau de l'homéostasie cellulaire et plus particulièrement dans l'activité de certaines enzymes intracellulaires (Cindrova-Davies *et al*, 2014). La mort cellulaire programmée est l'une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydant ; elle est considérée comme un phénomène naturel qui se produit pendant le développement normal. Des ERO sont impliquées lors du développement comme molécules de signalisation et dans la modulation de la plasticité synaptique. Cependant, lorsque la production de RL est trop élevée et dépasse les capacités de défense antioxydantes des tissus, ces molécules provoquent des altérations irréversibles des fonctions cellulaires de base, de l'intégrité de la membrane cellulaire, et de l'ADN (Belaïch et Boujraf 2016 ; Jauniaux et Burton, 2016).

### 3. L'origine du stress oxydatif

Le stress oxydant peut avoir diverses origines, tel que des facteurs environnementaux comme : l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (Fig. 02) (Thanan *et al.*, 2014).

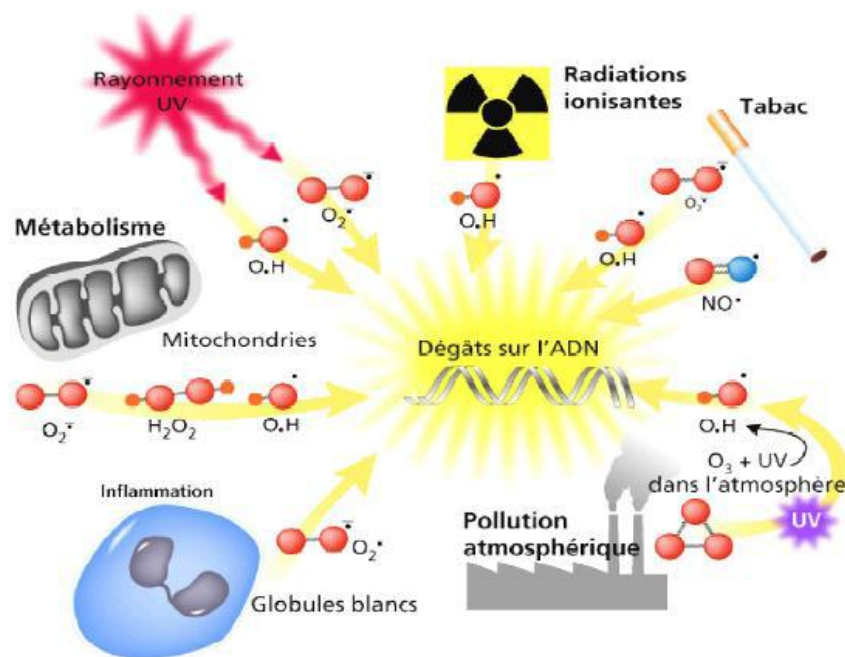


Figure 02 : Principales sources des radicaux libres (Pincimail *et al.*, 2008)

#### 4. Les conséquences du stress oxydatif

##### 4.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres. L'attaque de l'ADN va entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques où des cassures au niveau de la double hélice et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir de graves conséquences sur la synthèse des protéines et sur la transmission de l'intégrité du patrimoine génétique (**Thanan *et al.*, 2014**).

##### 4.2. Les dommages oxydatifs aux Lipides

L'oxydation des lipides, notamment des acides gras polyinsaturés, induit une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages qui transforment en cellules spumeuses, constituant une étape dans la formation de l'athérosclérose (**Nakajima *et al.*, 2006**).

##### 4.3. Les dommages oxydatifs aux protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des radicaux libres. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonyles, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Haleng *et al.*, 2007**).

#### 5. Les maladies liées au stress oxydatif

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

## 6. Les antioxydants et les systèmes de défense

L'homéostasie cellulaire, essentielle au bon fonctionnement du corps humain, est maintenue en partie par le système de défense antioxydant (**Rodrigo, 2009**). Le terme d'antioxydant désigne « toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat » (**Théron et Bonnefont-Rousselot, 2005**). Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des RL alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de protons ou d'électrons (**Durand et al., 2013**).

### 6.1. Le système antioxydant endogène enzymatique

#### 6.1.1. La Catalase

Le peroxyde d'hydrogène produit par les SOD va devoir être dégradé afin de ne pas provoquer des dommages cellulaires. C'est à ce niveau qu'interviennent les catalases qui vont alors dégrader l' $H_2O_2$  en eau et en dioxygène, diminuant ainsi sa demi-vie et atténuant de ce fait la génération des radicaux hydroxyles. Elles se retrouvent préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol (**Yoshimoto et al., 2007 ; Nicholls, 2012**).

#### 6.1.2. La Glutathion Peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase catalyse l'oxydation du glutathion aux dépens du peroxyde d'hydrogène (**Levrault et al., 2003**). Elle peut aussi réagir avec d'autres substrats comme les lipides expliquant son rôle protecteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique. Son site actif contient du sélénium et elle a besoin de glutathion réduit pour fonctionner. Dans la cellule, on la trouve essentiellement dans le cytosol et les mitochondries. C'est une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme (**Orban, 2010**).

### 6.2. Le système antioxydant endogène non enzymatique

#### 6.2.1. Le glutathion

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine, localisé au niveau du cytosol et des mitochondries. C'est le cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes, il joue un rôle important, dans la protection des tissus et la réparation des protéines oxydées (**Zhang et Forman, 2012 ; Carcho et Ferreira, 2013**).



### **6.2.2. L'acide urique**

L'acide urique produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme. Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma, où il contribue à 35-60% de la capacité antioxydante totale. L'acide urique est un puissant réducteur des radicaux libres, il réduit les radicaux peroxydes, hydroxydes et neutralise aussi l'anion superoxyde (**Favier, 1997; Letonturier, 2002**).

## **6.3. Le système antioxydant exogène**

### **6.3.1. L'acide ascorbique (vitamine C)**

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs des ERO. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle), qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Mak et al., 2002**).

### **6.3.2. L' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E)**

Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situés dans les lipoprotéines et dans les membranes (**Delattre et al., 2005**). Lors de la peroxydation lipidique, elle va permettre l'inhibition de l'étape de propagation, et ainsi assurer un rôle de protection des membranes contre l'oxydation lipidique (**Herrera et Barbas, 2001**).

### **6.3.3. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène et le lycopène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet (**Causse, 2008**).

## **6.4. Les Antioxydants de synthèse**

Il existe plusieurs antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (**Lee et al., 2009**). Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), et la gallate propylée (PG) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins coûteux que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée, car ils sont susceptibles de manifester des effets secondaires et même toxiques (**Lisu et al., 2003**).

## 7. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Selon Huang *et al.* (2005), les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : soit les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, Hydrogen Atom transfer), soit les tests basés sur le transfert d'un simple électron (SET, Single Electron transfer).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998).

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le piégeage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle ( $OH^\bullet$ ), des anions superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), du peroxyde ( $ROO^\bullet$ ) et de l'oxyde nitrique ( $NO^\bullet$ ) (Sánchez-Moreno, 2002).

Dont on cite :

### ➤ La méthode de piégeage du peroxyde d'hydrogène

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration du  $H_2O_2$  est diminuée par les composés piègeurs, la valeur de l'absorbance de ce dernier à 230 nm est également diminuée (Magalhães *et al.*, 2008).

### ➤ Test de blanchiment du $\beta$ -carotène

Dans cette analyse la capacité antioxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2006).

### ➤ La capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

Cette méthode est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate /Mo (V) à un pH acide (Sahu et Laloo, 2011).

### ➤ Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Cette technique basée sur la réaction chimique de réduction du  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en  $Fe^{2+}$  (Oyaizu, 1986).

➤ **Test de piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup>**

Le DPPH<sup>•</sup> est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH<sup>•</sup> est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est fondée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH<sup>•</sup> (Parejo *et al.*, 2003).

➤ **Méthode de FTC (Ferric thiocyanate method)**

Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique qui génère la formation des peroxydes qui s'oxyde Fe<sup>2+</sup> en Fe<sup>3+</sup>. Ces derniers ions forment un complexe avec le thiocyanate mesuré à une absorbance maximale de 500 nm (Gülçin *et al.*, 2007).

➤ **Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])**

Dans la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) (Miller et Rice-Evans, 1997).

Cette technique est basée sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de l'oxydation monoélectronique du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 – éthylBenzothiazoline -6-sulfonique acide). Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption (Jiri *et al.*, 2010).

***Chapitre 2 :***  
***Les métabolites secondaires***

## 1. Définition

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

Les métabolites secondaires peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal (**Hanson, 2003**). Les métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV) (**Judd et al., 2002**). Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale. Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Epifano et al., 2007**).

## 2. Classification des métabolites secondaires

On trouve les métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes, on distingue :

### 2.1. Les composés phénoliques

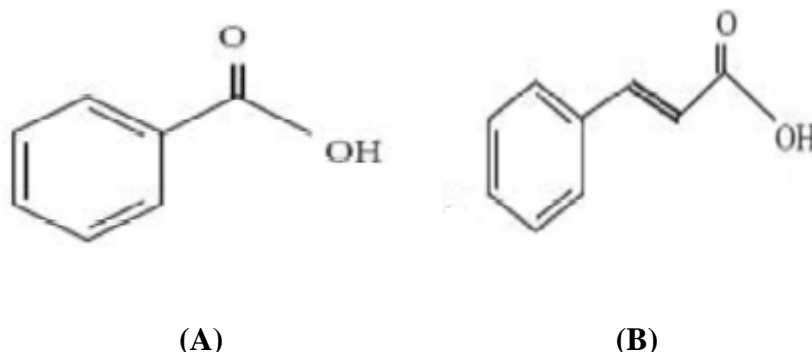
Les composés phénoliques où les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal étant trouvés dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (**Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**), allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Mumper, 2010**).

D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Visioli et al., 2000 ; Macheix et al., 2005**).

### 1.2.2. Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Bruneton, 2008**). Les deux groupes essentiels des acides

phénoliques sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques qui dérivent respectivement de l'acide benzoïque C6-C1 et de l'acide cinnamique C6-C3 (Fig. 03) (**Budic-Leto et Lovric, 2002 ; Wichtel et Anton, 2009**).



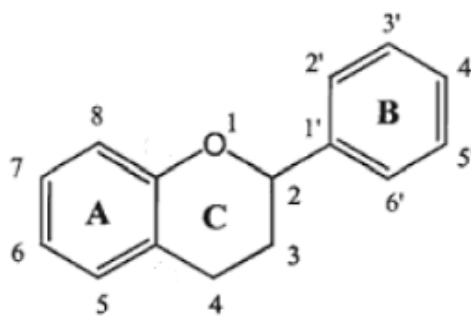
**Figure 03** : structure de l'acide Benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B)  
(**Bruneton, 2008**)

### 2.1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoume et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Ghestem et al., 2001 ; Bruneton, 1999**). Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartit en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne (**Skerget et al., 2005**). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliées par un hétérocycle oxygéné, qui désignent la lettre C (Fig. 04) (**Dacosta, 2003**).

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes telles que l'activité antimicrobienne (**Ulanowska et al., 2006**), antifongique (**Ortuno et al., 2006**), anti-inflammatoire (**Park et al., 2008**) et une activité contre la peroxydation lipidique et l'atteinte hématologique (**Rao et Vijayakumar, 2008**).



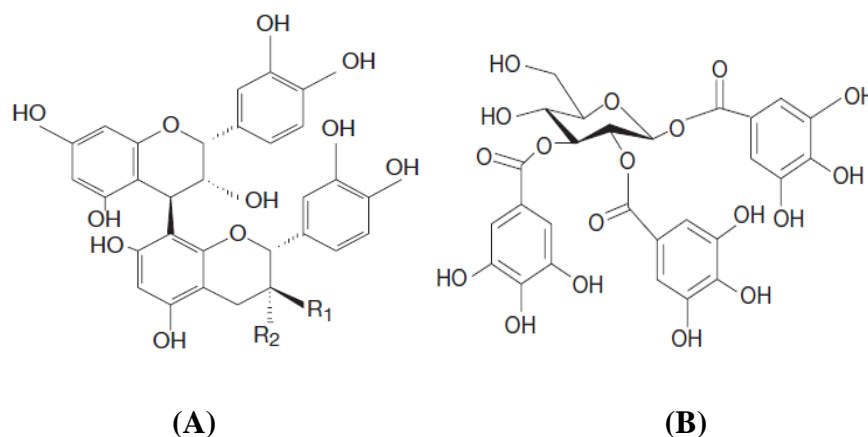
**Figure 04** : Structure de base des flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011).

### 2.1.3. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques en  $(C_{15})_n$ , polaires, de saveur astringente, de structures variées et de haut poids moléculaire ( $>3000$  Da). Ils sont capables de se lier aux protéines en solution et les précipiter ce qui leur confère la propriété de tanner la peau (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont classés en deux groupes distincts (Fig. 05) :

- **Les tanins condensés** : appelés proanthocyanidines ou procyanidines, se sont des composés qui ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 1999).
- **Les tannins hydrolysables** : sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre qui est très généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol qui est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (Khanbaba et Ree, 2001 ; Bruneton 2009).



**Figure 05**: Structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine) (A) et d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose) (B) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

#### 2.1.4. Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Fig. 06) (Vivas de Gaulejac, 2003 ; Bruneton, 2009).

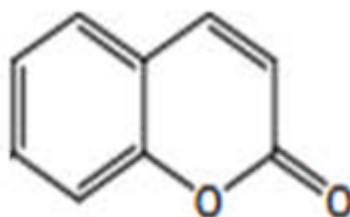


Figure 06 : Structure des coumarines (Crozier *et al.*, 2006)

#### 2.1.5. Les quinones

Les quinones sont des composés oxygénés qui résultent de l'oxydation de dérivées aromatiques caractérisées par un motif 1,4-dicéto-cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou 1,2-dicéto-cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (Fig. 07) (Bruneton, 2009). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont très réactives (Cowan, 1999).

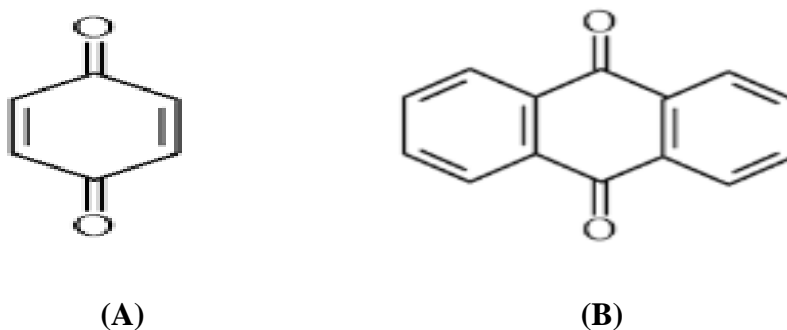


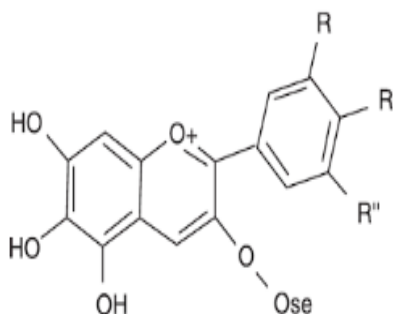
Figure 07 : Structure de 1,4-benzoquinone (A) et 9,10-antraquinone (B) (Socaciu, 2007)

#### 2.1.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont les colorants hydrosolubles responsables de la couleur rouge à la couleur pourpre des plantes (Fig. 08). Ayant un potentiel considérable dans l'industrie alimentaire en tant qu'additifs sûrs et efficaces (Bagchi *et al.*, 2004). Ils sont utilisés comme diurétiques, antiseptiques urinaires et dans les troubles de la fragilité capillaire. Leur plus



grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (**Hennebelle et al., 2004**).



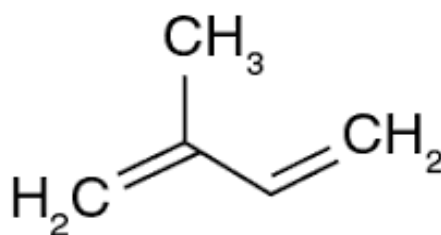
**Figure 08** : Structure de base d'une anthocyane (**Samouelian et al., 2009**)

## 2.2. Les saponines

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux, caractérisés par leurs propriétés tensioactives grâce à leur composition d'aglycones non polaires qui est lié à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Vincken et al., 2007 ; Bruneton, 2009**).

## 2.3. Les terpénoïdes

L'unité de base de leur biosynthèse est l'isopentényldiphosphate (IPP = isopentényl pyrophosphate) et son isomère le diméthylallyl-diphosphate (Fig. 09). En effet, les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (**Christianson, 2008**).

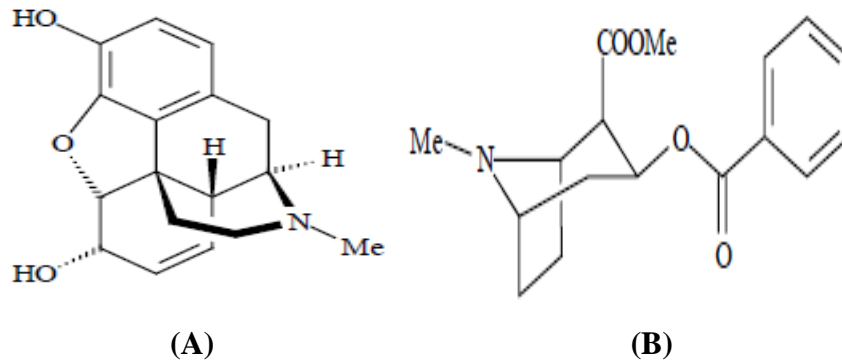


**Figure 09** : structure de l'isoprène (**Morot-Gaudry, 2016**)

## 2.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances azotées, basiques, d'origine naturelle, avec une structure complexe (Fig. 10) et qui possède des activités pharmacologiques significatives. Ils ont joué un rôle important dans la découverte des médicaments (morphines, quinine cocaïne,

atropine...) et dans le développement de l'industrie pharmaceutique (Omulokoli *et al.*, 1997 ; Bruneton 2009). L'étude de leur mécanisme d'action a conduit à les employer comme réactifs biologiques en neurochimie et en chimiothérapie. Ils sont dotés aussi d'un pouvoir antioxydant (Račková *et al.*, 2004).



**Figure 10** : Structure de la Cocaïne (A) et la morphine (B) (Hopkins, 2003)

Il existe trois grandes classes des alcaloïdes selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle (Aniszewskim, 2007 ; Bruneton, 2008) :

- **Les alcaloïdes vrais** : dérivent directement des acides aminés et présentent au moins un hétérocycle de caractère basique dont l'azote est inclus dans l'hétérocycle ;
- **Les pseudo-alcaloïdes** : représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivées des acides aminés ;
- **Les proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocycle : ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir des acides aminés (Bruneton, 2008).

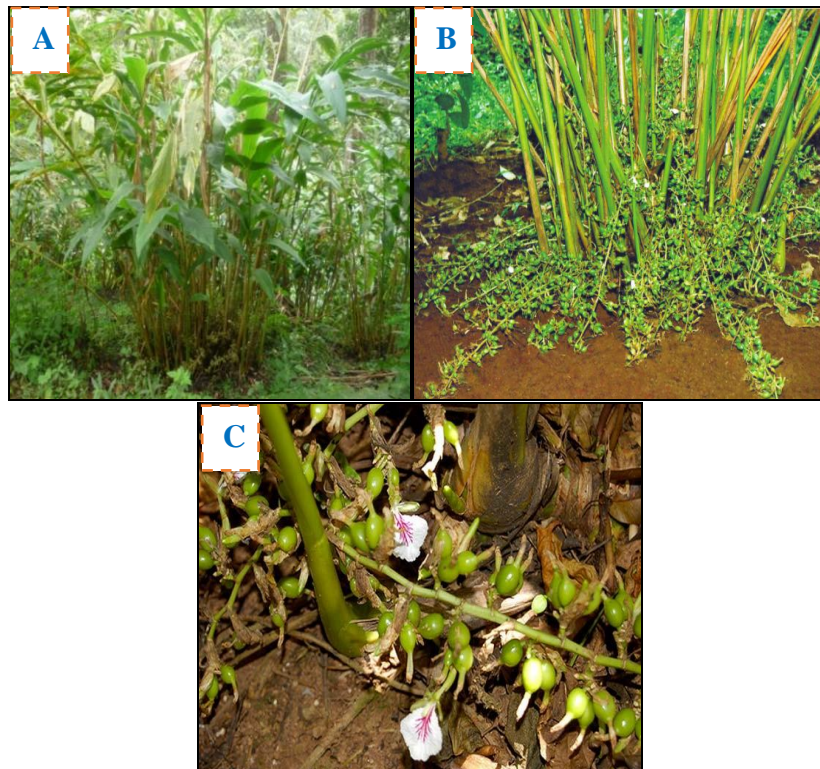
## *Chapitre 3 : La plante*

### *Elettaria cardamomum*

La cardamome, *Elettaria cardamomum* : est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, populairement connues sous le nom « Reine des épices ». Originnaire des forêts tropicales de Sud de l'Inde et du Sri Lanka, la cardamome fut introduite, il y a plus de mille ans en Asie du Sud-Est (Sengupta *et al.*, 2005).

### 1. Description botanique

Il s'agit d'une herbe vivace à gros rhizomes superficiels, horizontaux, ramifiés et subligneux, qui chaque année émette des tiges végétatives feuillées, hautes de 2,5 à 3 m. Ces tiges disposées en touffes meurent au bout de quelques mois et se décomposent. Sur leurs noeuds s'insèrent des feuilles à pétiole engainant et à limbe très lancéolé (50 x 3 à 5 cm) d'un beau vert sombre (Gilly, 2005 ; Arvy et Gallouin, 2015). À côté de ces tiges, les rhizomes émettent des hampes florales, longues de 40 à 70 cm. Il s'agit de panicules lâches, prostrées ou retombantes dont les fleurs donnent naissance à des capsules peu déhiscentes. Celles-ci pourvues de trois loges, sont oblongues, légèrement ridées longitudinalement. Leurs dimensions varient légèrement. Chacune de leurs loges compte 3 à 6 graines pleines, anguleuses, noires de 3 mm de long. Ces graines et leur capsule par leur saveur et leur odeur constituent la seule partie utile de la plante (Fig. 11) (Madhusoodanan *et al.*, 2003 ; Khandelwal, 2008).



**Figure 11** : La plante *E.cardamomum* (A), tiges portant des fleurs et des fruits (B) et (C)  
(Arvy et Gallouin, 2015 ; Biju, 2013)

## 2. Classification : La cardamome suit la classification suivante :

**Règne :** *Plantae*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Liliopsida*

**Ordre :** *Zingiberales*

**Famille :** *Zingiberaceae*

**Genre :** *Elettaria*

**Espèce :** *Elettaria Cardamomum* (Cronquist, 1981).

## 3. Noms communs

En français : cardamome, cardamomier, cardamone

En anglais : cardamom, small cardamom, cardamon

En arabe : Heil, Hab el Hal, hab hab, Hhabbahân (Seidemann, 2005 ; Al-Mailiki, 2011 ; Lim, 2013)

## 4. Composition chimique

L'analyse chimique des fruits secs de la cardamome révèle la présence des huiles essentielles, Cires, stérols, des pigments, des protéines, la cellulose, les sucres, l'amidon, l'oxalate de calcium, des minéraux (Ravindran et Madhusoodanan, 2003 ; Nair, 2006 ; Sharma *et al.*, 2011), des composants phénoliques et des flavonoïdes comme la quercétine, le kaempferol, la luteoline et la pelargonidine (Sultana *et al.*, 2010 ; Vishwakarma *et al.*, 2014). Le principal constituant de la graine est l'amidon, jusqu'à 50%, alors que la fibre brute constitue Jusqu'à 31% de la coque de fruit. La teneur en huile volatile dans les graines peut atteindre 8%. Ce dernier contient environ 1,5% d' $\alpha$ -pinène, 1,2% de  $\beta$ -pinène, 2,8% de sabinène, 1,6% de myrcène, 0,2% d' $\alpha$ -phellandrène, 11,6% de limonène, 36,6% de 1,8-cinéol, 0,7% de  $\gamma$ -terpinène, 0,5% de terpinéol, 31,3% d'acétate d' $\alpha$ -terpinyle, 0,3% Citronellol, 0,5% nerd, 0,5% de gerniol, 0,2% de méthyl eugénol et 2,7% de trans-nerdilol. L'arôme de cardamome basique est produit par une combinaison des composants principaux, du 1,8-cinéol et de l'acétate d' $\alpha$ -terpinyle (Panda, 2003 ; Aggarwal et Kunnumakkara, 2009).

## 5. Utilisation traditionnelle

La cardamome est une des plus anciennes épices. En Égypte, on en faisant un grand usage dans l'Antiquité pour fabriquer des parfums. Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour soigner de nombreux troubles digestifs (indigestion,

flatulences), gastro-intestinaux, stomacaux, résolvents, retentissants et antiémétiques (Marongiu *et al.*, 2004 ; Sereshti *et al.*, 2012). Elle peut être incorporée aux mélanges destinés à la confection des pains d'épices, à certaines pâtisseries « orientales », à des tartes aux fruits, à des garnitures de crème et au riz au lait. La cardamome est particulièrement appréciée dans les pays arabes, où elle est ajoutée au café selon un rituel symbolisant l'hospitalité locale (Nair, 2006 ; Iserin *et al.*, 2007 ; Botineau, 2010).

## 6. Activités biologiques

Plusieurs chercheurs ont démontré différents effets pharmacologique et thérapeutique des fruits d'*Elettaria cardamomum*. Elle est utilisée pour traiter les infections des gencives, des dents et de la gorge, la congestion et la tuberculose pulmonaire, l'hypertension artérielle, maladie cardiaque et troubles digestifs (anti-ulcéreuses, gastroprotectrices) (Sarkar, 2011 ; Das *et al.*, 2012). Les propriétés antimicrobiennes et antifongiques des extraits de la cardamome étaient également bien reconnues (Elgayyar *et al.*, 2001 ; Sekine *et al.*, 2007 ; Khan *et al.*, 2011). Diverses études ont suggéré que l'extrait de la cardamome montre des activités anticancéreuses, Anti-inflammatoire, antidiabétiques, antiplaquettaires et immunomodulatrice (Sengupta *et al.*, 2005 ; Sunnetha et Krishnakantha, 2005 ; Bhattacharjee *et al.*, 2007 ; Majdalawieh et Carr, 2010 ; El-yamani, 2011 ; Husain et Ali, 2014 ; Qiblawi et Dhanarasu, 2015). La cardamome possède des propriétés antioxydantes et peut augmenter les niveaux de glutathion et d'enzymes antioxydantes dans le corps (Verma *et al.*, 2010 ; Bisht, 2011 ; Das *et al.*, 2012). Par ailleurs, elle inhibe la formation des peroxydes lipidiques, des anions superoxydes et des radicaux hydroxyles (Yadav et Bhatnagar, 2007 ; Qiblawi et Dhanarasu, 2015). Récemment, L'extrait de la cardamome a été jugé comme un modulateur puissant des macrophages (Vaidya et Rathod, 2014) et comme facteur de protection contre les risques d'uranium (Abdelkader *et al.*, 2015).

*2<sup>ème</sup> Partie :*

*Matériel et méthodes*

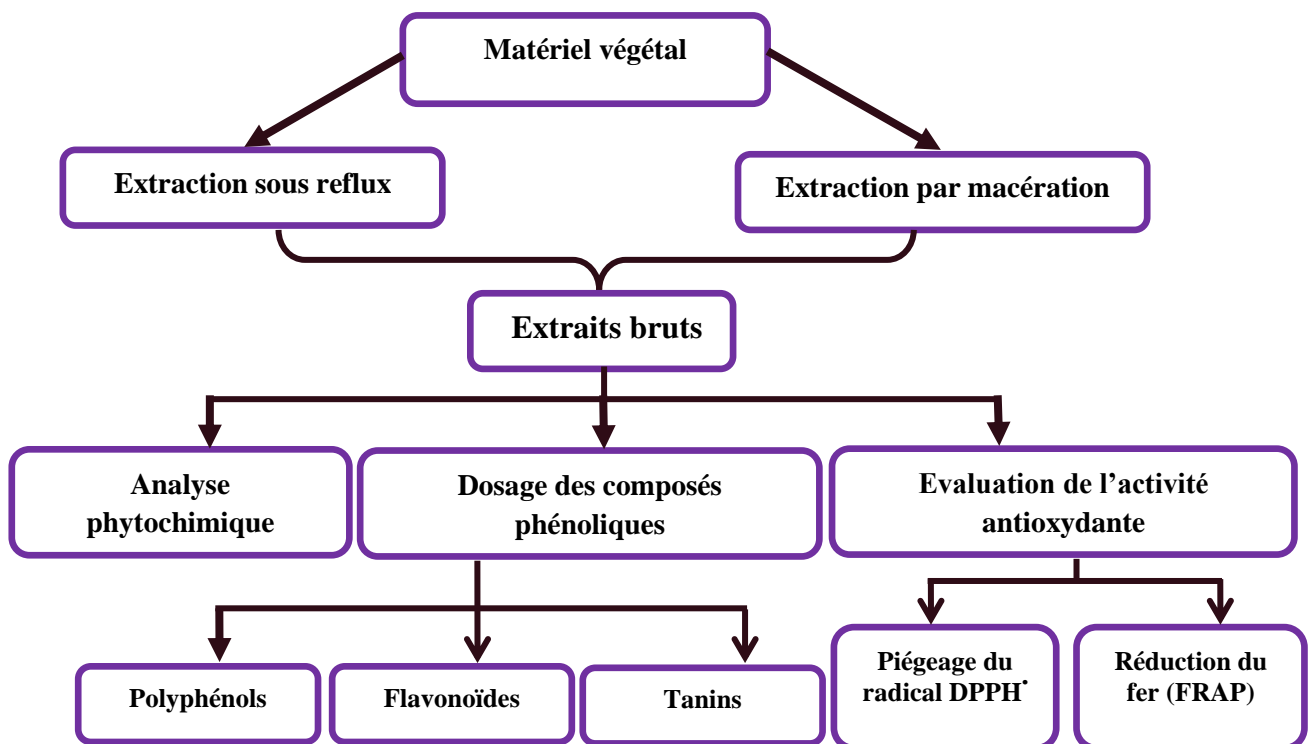
Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Elle comporte deux parties :

**Partie 1** : Extraction du matériel végétal à partir des fruits d'*Elettaria cardamomum*, analyse phytochimique qualitative et dosages quantitatifs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.

**Partie 2** : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par deux méthodes :

- Réduction du fer : Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) (Fig. 12).



**Figure 12** : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Préparation

Les fruits d'*E. cardamomum*, « Hab el Hal », ont fait l'objet de cette étude. Ils ont été achetés secs chez un herboriste du centre-ville de Tlemcen (Fig.13).



Le matériel végétal est broyé à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine nécessaire à la préparation des extraits.



**Figure 13 :** Fruits d'*E. cardamomum* secs (A) ; broyés (B)

### **1.2. Extraction**

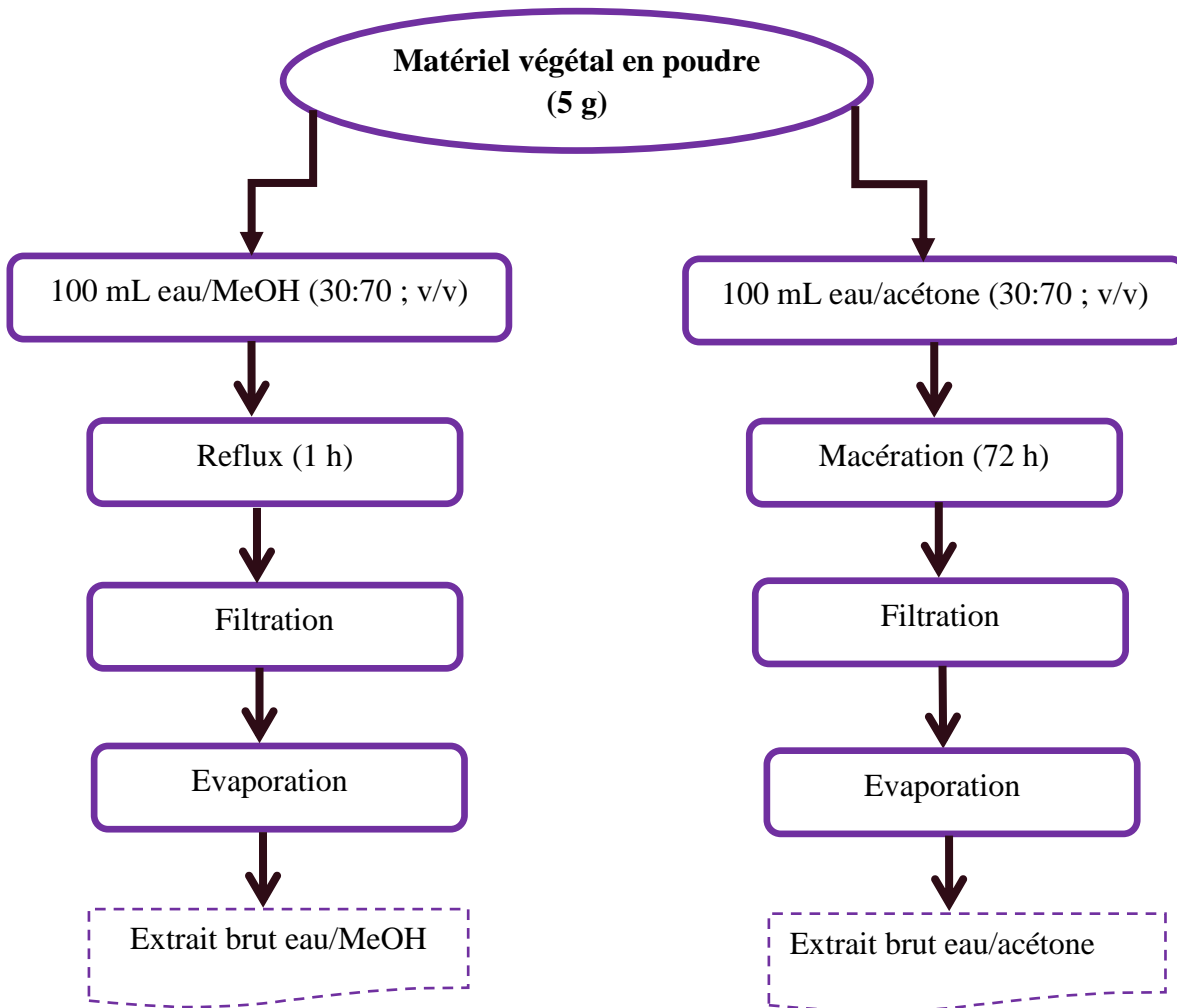
L'extraction du matériel végétal est effectuée selon deux méthodes d'extraction (Fig. 14):

#### **➤ Extraction sous reflux**

5g de matière végétale sont ajoutés à 100 mL d'un mélange eau/méthanol (30:70 ; v/v). La préparation est portée sous reflux pendant 1 heure sous agitation. Après filtration, l'extrait hydrométhanolique récupéré a été concentré à l'aide d'un rotavapeur, puis évaporé dans une étuve à 40 °C.

#### **➤ Extraction par macération**

5g de matière végétale sont mis en contact avec 100 mL d'un mélange eau/acétone (30:70 ; v/v). La préparation est laissée macérer à température ambiante pendant 72 heures à l'abri de la lumière. Après filtration, l'extrait hydroacétonique récupéré a été concentré à l'aide d'un rotavapeur, puis évaporé dans une étuve à 40 °C.



**Figure14 :** Protocole d'extraction des fruits d'*E. cardamomum*

## 2. Analyse phytochimique

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter différentes familles chimiques présentes dans notre plante par des réactions de coloration et de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette.

- **Tanins**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 0,25 mL de  $\text{FeCl}_3$  (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins gallique) (**Karumi et al., 2004**).

- **Flavonoïdes**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 1 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl), puis quelques copeaux de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par une coloration rouge, orange ou rose (**Karumi et al., 2004**).

- **Quinones libres**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 0,1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH, 1%). Le virage de la couleur au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2005**).

- **Coumarines**

Diviser le volume de 2 mL de chaque extrait en deux. Le demi-volume est considéré comme témoin et l'on ajoute à l'autre volume 0,1 mL de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

- **Antraquinones**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 1 mL de NH<sub>4</sub>OH (10 %), après agitation, la présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette (**Oloyede, 2005**).

- **Anthocyanes**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 1 mL d'HCl (2N). L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (**Debray et al., 1971**).

- **Alcaloïdes**

1 mL d'extraits est divisée en 2 volumes égaux : le tube 1 est traité par 0,5 mL de réactif de Mayer et le tube 2 est traité par 0,5 mL de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc et marron respectivement indique la présence des alcaloïdes (**Majob et al., 2003**).

- **Terpénoïdes**

✓ **Test de Slakowski** : À 1 mL d'extraits, on ajoute 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Le test positif est indiqué par l'apparition de deux phases et une couleur marrone à l'interphase (**Khan et al., 2011**).

✓ **Test de Libermann-Burchard** : À 1 mL d'extraits, on ajoute 0,1 mL d'anhydrecétique et 0,1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La présence des terpénoïdes est indiquée par la couleur mauve, vert ou violet (**Kablan *et al.*, 2008**).

- **Saponosides**

10 mL d'extraits sont agités pendant 15 secondes. Une mousse persistante pendant 20 minutes confirme la présence des saponosides (**N'Guessan *et al.*, 2009**).

- **Composés réducteurs**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 2 mL de solution de Fehling, puis les tubes sont incubés au bain marie pendant 5 à 8 minutes. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (**Cai *et al.*, 2011**).

### **3. Dosage des composés phénoliques**

Les extraits hydroacétonique et hydrométhanolique sont solubilisés dans le mélange eau/acétone (30:70 ; v/v) et eau/MeOH (30:70 ; v/v) respectivement à une concentration de 10 mg/mL pour le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.

#### **3.1. Dosage des polyphénols totaux**

##### **Principe**

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode décrite par Vermerius et Nicholson en 2006.

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acides phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 725 nm.

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ❖ 0,1 mL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 2% ;
- ❖ Les tubes sont agités puis incubés pendant 5 min ;
- ❖ 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange ;
- ❖ Les tubes sont ensuite incubés pendant 30 min à température ambiante ;
- ❖ La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extraits (mg EAG/gE).

### 3.2. Dosage des flavonoïdes

#### Principe

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par Ardestani et Yazdanparast en 2007.

C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm.

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ❖ 500  $\mu\text{L}$  de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée ;
- ❖ 150  $\mu\text{L}$  d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 15 % sont ajoutés au mélange ;
- ❖ Les tubes sont ensuite incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- ❖ 150  $\mu\text{L}$  de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3, 6 \text{H}_2\text{O}$ ) à 10% sont ajoutés ;
- ❖ Les tubes sont incubés pour une 2ème fois pendant 6 min à température ambiante ;
- ❖ 2 mL d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4% sont ajoutés immédiatement ;
- ❖ Le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée ;
- ❖ Les tubes sont agités, ensuite incubés pendant 15 min ;
- ❖ La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extraits (mg EQC/gE).

### 3.3. Dosage des tanins condensés

#### Principe

Les quantités des tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500nm (Sun *et al.*, 1998).

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ❖ 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v).
- ❖ Les tubes sont agités, ensuite 750 µL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné.
- ❖ Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.
- ❖ La lecture de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extraits (mg EQC/gE).

#### ○ Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, sont calculées selon la formule suivante :

$$T = a * f / b$$

*a* : Concentration en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés en mg/mL déterminée à partir de la courbe d'étalonnage ;

*f* : Facteur de dilution ;

*b* : Concentration initiale de l'extrait.

## 4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

### 4.1. Réduction du fer par la méthode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), basée sur la réaction chimique de réduction du fer 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>). L'absorbance du milieu réactionnel est

déterminée à 700nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert, 2006**).

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

0,1 mL de l'échantillon à différentes concentrations (0,0025 ; 0,005 ; 0,01 ; 0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 mg/mL) est mélangé avec 0,25 mL d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 0,25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à température ambiante. 0,25 mL de l'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. 0,5 mL du surnageant sont ajoutés à 0,5 mL d'eau distillée et 0,1 mL d'une solution de trichlorure du fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 0,1% (**Karagözler et al., 2008**). La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience, aux mêmes Concentrations que les extraits testés. et dans les mêmes conditions expérimentales.

#### **4.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) qui est un radical libre instable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène, devient une molécule stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leur capacité à lui donner un radical hydrogène. Cette capacité de réduction (sur le radical DPPH•) est déterminée par la diminution des absorbances à 515 nm, qui est induite par l'antioxydant. Cela est visualisé par le changement de couleur du violet au jaune (**Majhenič et al., 2007**).

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

50 µL de chaque solution méthanolique de chaque extrait a différentes concentrations (0,0025 ; 0,005 ; 0,01 ; 0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 mg/mL) est ajouté à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH• à  $6.34.10^{-5}$  M, pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µL de chaque extrait et 1950 µL de méthanol.

Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 50 µL du méthanol avec 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH• à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Atoui et al., 2005**).

L'acide ascorbique, le Butylhydroxyanisole (BHA) et le Butylhydroxytoluène (BHT) sont utilisés comme contrôles positifs à différentes concentrations (0,025 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg/mL).

#### ✚ Expression des résultats

##### ▪ Calcul des pourcentages d'inhibition

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$\% I = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

*% I: Pourcentage d'inhibition*

*AC : Absorbance du contrôle ;*

*AT : Absorbance du test effectué.*

##### ▪ Calcul des IC<sub>50</sub> et de l'activité antiradicalaire (*Scavenging activity*)

L'IC<sub>50</sub> ou la concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•.

Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés (**Scherer *et al.*, 2009 ; Fabri *et al.*, 2009**).

Ainsi, l'activité antiradicalaire ( $A_{AR}$ ) est déterminée en calculant l'inverse des valeurs des IC<sub>50</sub> (**Maisuthisakul *et al.*, 2007**) selon la formule suivante :

$$A_{AR} = 1 / IC_{50}$$



*3<sup>ème</sup> partie :*

*Résultats et interprétations*

## 1. Rendements en extrait bruts

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = (m_0 / m_1) \times 100$$

$m_0$  : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

$m_1$  : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche

Les extraits bruts d'*E. Cardamomum* récupérés après évaporation ont été pesés pour déterminer le poids sec obtenu. Les résultats ont été exprimés en pourcentage.

Le tableau 02 résume les caractéristiques ainsi que le rendement de chaque extrait.

**Tableau 02** : Rendements, aspects et couleurs des extraits bruts des fruits d'*E. cardamomum*

Extraits de la plante	Rdts (%)	Aspects	Couleurs
Eau/MeOH	12,50	Pâte	Marron foncée
Eau/acétone	12,87	Pâte	Marron foncée

Les rendements d'extraction obtenus dépendent à la fois de la plante étudiée et aussi du solvant d'extraction. Les résultats obtenus montrent que les rendements des deux extractions sont proches l'un de l'autre, et sont respectivement 12,50% pour l'extrait eau/MeOH et 12,87 % pour l'extrait eau/acétone.

## 2. Analyse phytochimiques

Les analyses phytochimiques qualitatives réalisées sur les deux extraits des fruits d'*E. cardamomum* ont montré les résultats regroupés dans le tableau 03.

Les tests phytochimiques nous ont permis de mettre en évidence différents métabolites secondaires présents dans les fruits d'*E. cardamomum* par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette.

Les résultats obtenus ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des composés réducteurs dans les deux extraits bruts. Tandis que les coumarines ne sont présentes que dans l'extrait brut eau/acétone.

Nous avons constaté aussi que les anthocyanes, les anthraquinones et les quinones libres sont absents dans les deux extraits.

**Tableau 03** : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts d'*E.cardamomum*

Constituants	Extrait eau/MeOH	Extrait eau/acétone
<b>Tanins</b>	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Quinones libres</b>	-	-
<b>Coumarines</b>	-	+
<b>Anthocyanes</b>	-	-
<b>Anthraquinones</b>	-	-
<b>Alcaloïdes</b> Mayer	+	+
Wagner	+	+
<b>Tépénoïdes</b> Liebermann	+	+
Slakowski	+	+
<b>Saponosides</b>	+	+
<b>Composés réducteurs</b>	+	+

(+) : Présence, (-) : Absence.

### 3. Dosage des composés phénoliques

Les extraits préparés ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, pour leurs contenus en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux a été effectuée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). La vanilline a été utilisée pour quantifier les tanins condensés dans les extraits étudiés.

Les teneurs des composés précédents ont été déterminées en utilisant les équations des régressions linéaires des courbes d'étalonnage, d'acide gallique (Fig.15) et de la catéchine (Fig.16 et 17). Les résultats sont présentés dans le tableau 04.

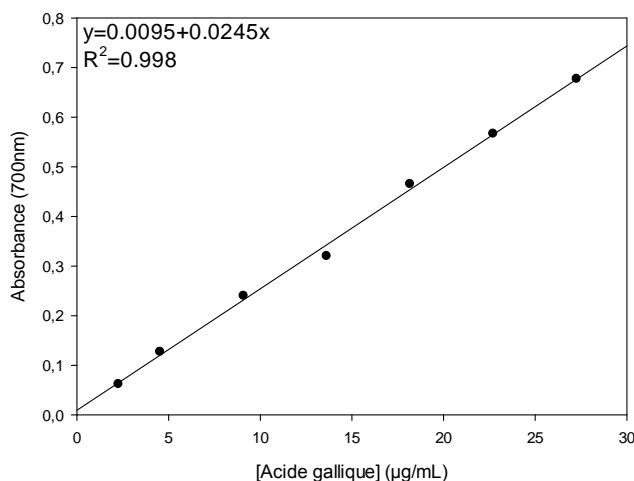


Figure 15 : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

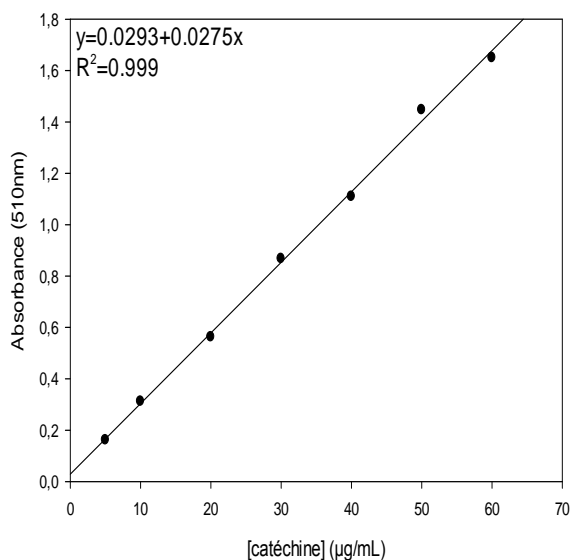


Figure 16 : Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

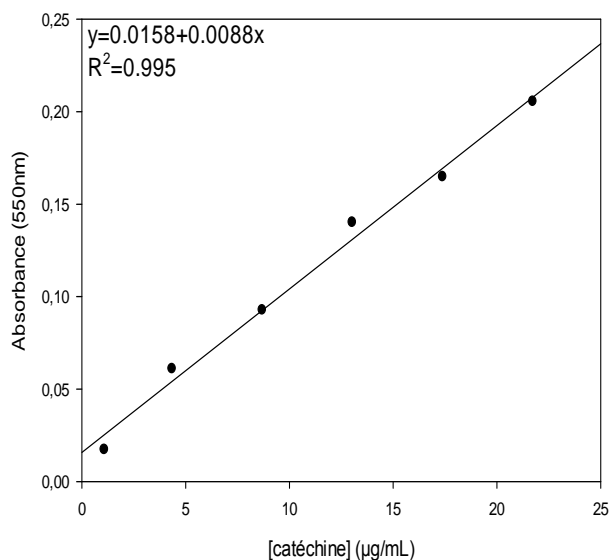


Figure 17 : Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Tableau 04 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits des fruits d'*E.cardamomum*

Constituants	Extrait eau/MeOH	Extrait eau/acétone
Polyphénols (mgEAG/gE)	41,09 ± 2,58	54,22 ± 4,52
Flavonoïdes (mgEQC/gE)	10,90 ± 0,80	14,53 ± 0,46
Tanins (mgEQC/gE)	6,75 ± 0,34	21,70 ± 1,84

n =3

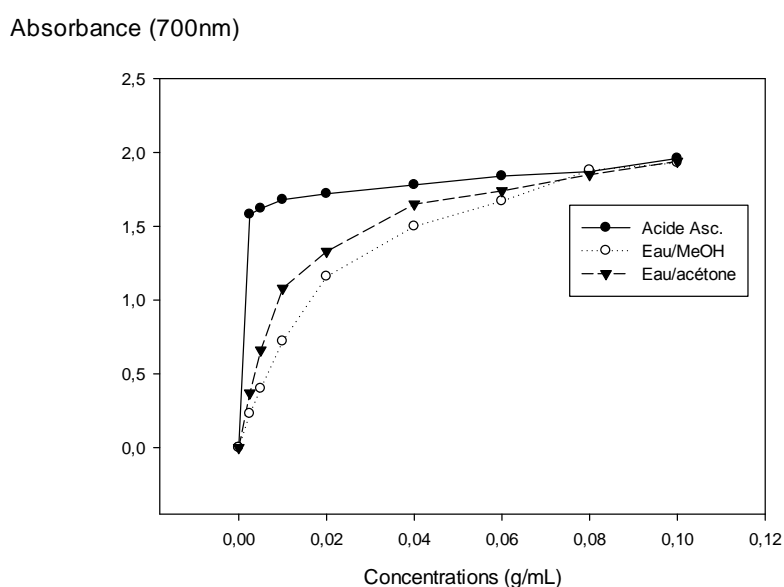
Les résultats montrent que les teneurs en composés phénoliques varient considérablement entre les deux extraits de la plante.

Nous remarquons que l'extrait eau/acétone obtenu par macération renferme un taux élevé en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ( $54,22 \pm 4,52$  mg EAG/gE ;  $14,53 \pm 0,46$  mg EC/gE et  $21,70 \pm 1,84$  mg EC/gE respectivement), par rapport à l'extrait eau/méthanol obtenu par reflux, où les teneurs sont de l'ordre de  $41,09 \pm 2,58$  mg EAG/gE ;  $10,90 \pm 0,80$  mg EC/gE et  $6,75 \pm 0,34$  mg EC/gE, respectivement.

### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 4.1. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Les résultats obtenus pour cette méthode sont présentés sous forme de graphes de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits ou de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence (Fig. 18)



**Figure 18 :** Pouvoir réducteur des extraits bruts eau/MeOH et eau/acétone des fruits *d'E. cardamomum* selon la méthode de FRAP (n=3)

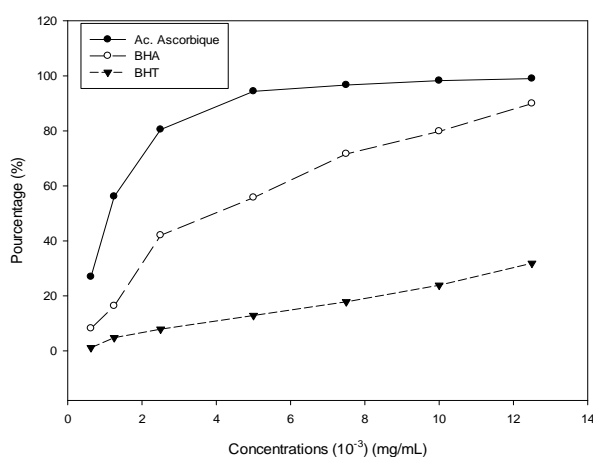
D'après la figure 18, nous remarquons qu'à une concentration de 0,01g/mL, les deux extraits présentent des absorbances de 0,712 et 1,08 pour l'extrait eau/MeOH et eau/acétone respectivement. Lorsqu'on augmente la concentration, les absorbances augmentent. À une concentration finale de 0,1 g/mL, les extraits présentent une densité optique maximale égale à 1,93 et 1,94 respectivement. Alors que l'acide ascorbique présente une DO de 1,96 à la même concentration.

Nous pouvons noter que l'extrait eau/acétone a présenté le plus d'activité pour réduire le fer par rapport à l'extrait eau/MeOH, mais nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique, reflétée par les densités optiques élevées obtenues à différentes concentrations de celui-ci.

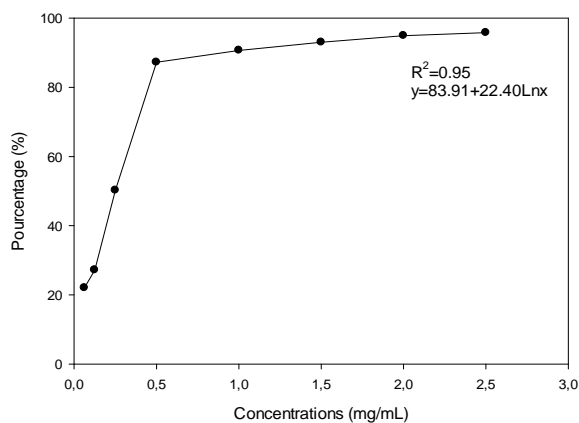
#### 4.2. Piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> :

Le radical DPPH<sup>•</sup> est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin et al., 2008). Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH<sup>•</sup> et comparés aux molécules de références (acide ascorbique, BHA et BHT).

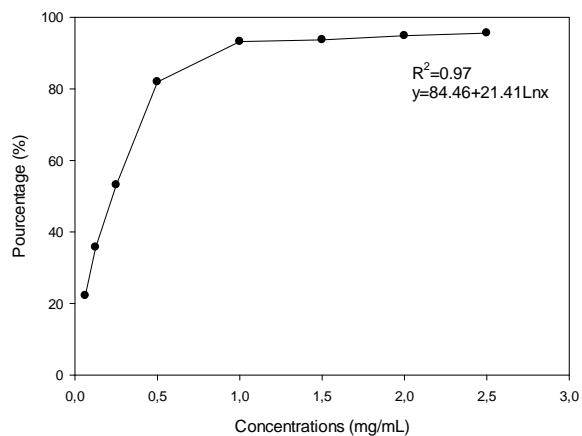
La figure 19 présente graphiquement les pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique, de BHA, BHT, des extraits bruts eau/MeOH et eau/acétone des fruits d'*E. cardamomum*.



(A)



(B)



(C)

**Figure 19 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par l'acide ascorbique, le BHA, le BHT (A), l'extrait brut eau/MeOH (B) et l'extrait brut eau/acétone (C) (n=3).

Le pourcentage de réduction du DPPH<sup>•</sup> augmente avec l'augmentation des concentrations de l'acide ascorbique, de BHA, de BHT et des extraits. On remarque qu'il y a

une différence de résultats entre les extraits comparés avec ceux de l'acide ascorbique, le BHA et le BHT.

L'extrait brut eau/méthanol a montré un pouvoir antiradicalaire proche à celui de l'extrait brut eau/acétone. Les pourcentages d'inhibition de ces derniers sont à l'état stationnaire à partir de 1 mg/mL, ce qui explique que la totalité du radical DPPH<sup>•</sup> est sous forme réduite.

À une concentration de 1 mg/mL, les pourcentages d'inhibition calculés sont respectivement 93,25% ± 1,31 et 90,69% ± 0,31 pour l'extrait brut eau/acétone et eau/MeOH. Alors qu'on augmentant la concentration à 2,5 mg/mL, l'extrait brut eau/acétone a produit un pourcentage d'inhibition de 95,82% ± 0,62, contre 95,62% ± 0,49 pour l'extrait brut eau/MeOH.

Cependant, ces données restent inférieures à celles de l'acide ascorbique ( $y = 48,23 + 23,49 \ln(x)$ ,  $R^2 = 0,95$ ) et de BHA ( $y = 15,836 + 27,719 \ln(x)$ ,  $R^2 = 0,99$ ) qui ont présenté la meilleure activité antiradicalaire par rapport à nos extraits à des faibles concentrations, où la concentration de  $12,5 \cdot 10^{-3}$  mg/mL a produit un pourcentage d'inhibition de 99,01% ± 0,12 ; 89,95% ± 0,74 et 31,83% ± 0,95 pour l'acide ascorbique, le BHA et le BHT, respectivement.

### 4.2.1. Calcul des IC<sub>50</sub> et de l'activité antiradicalaire (A<sub>AR</sub>)

L'IC<sub>50</sub>, paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH<sup>•</sup>, Plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Les IC<sub>50</sub> calculées à partir des équations des régressions logarithmiques données précédemment, ainsi que les valeurs de l'activité antiradicalaire sont données dans le tableau 05.

**Tableau 05 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> et de l'activité antiradicalaire des différents extraits

	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	A <sub>AR</sub> (1/IC <sub>50</sub> )
<b>Extrait eau/MeOH</b>	220	0,0045
<b>Extrait eau/Acétone</b>	200	0,005
<b>Acide ascorbique</b>	1,08	0,92
<b>BHA</b>	3,43	0,29
<b>BHT</b>	ND	ND

Les résultats des IC<sub>50</sub> présentés dans le tableau 05 montrent que les molécules de références : l'acide ascorbique et le BHA possèdent une activité antiradicalaire très élevée et

supérieure à celle des extraits eau/MeOH et eau/acétone. L'acide ascorbique est le plus actif avec une  $IC_{50}$  égale à 1,08  $\mu\text{g/mL}$ , suivi de BHA, l'extrait eau/acétone et eau/MeOH avec 3,43  $\mu\text{g/mL}$ , 200  $\mu\text{g/mL}$  et 220  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. Alors que l' $IC_{50}$  du BHT n'a pas été déterminé dans l'intervalle des concentrations des molécules de références utilisées (Acide ascorbique et BHA).



# *Discussion*

Ces derniers temps, l'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Cela montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées en thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances (**Houghton, 2000**).

*Elettaria cardamomum* ou communément appelé hab el hal, une plante qui appartient à la famille des zingibéracées, est caractérisé par ses propriétés thérapeutiques diverses : anticancéreuse, antidiabétique, antioxydante et anti-inflammatoire (**Husain et Ali, 2014 ; Qiblawi et Dhanarasu, 2015**).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante des fruits d'*E. cardamomum*.

Les tests phytochimiques que nous avons réalisés sur l'extrait eau/méthanol et eau/acétone des fruits d'*E. cardamomum* a révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des composés réducteurs.

Ces résultats sont en accord avec ceux qui sont rapportés dans la littérature par les travaux de Shetty *et al.* (2013) sur l'extrait éthanolique des fruits d'*E. cardamomum* qui ont montré la présence des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des tanins, des composés phénoliques, des terpénoïdes, des phytostérols, des huiles fixes, des acides gras, des glucides et des protéines. Cependant, l'étude réalisée par Sibi *et al.* (2013) sur l'extrait méthanolique d'*E. cardamomum*, n'a montré que la présence des flavonoïdes, des stéroïdes et des terpénoïdes.

Les travaux réalisés par Vishwakarma *et al.* (2014) sur les extraits acétoniques, éthanoliques, aqueux et chloroformiques des fruits d'*E. cardamomum*, ont révélé la présence des saponines, des quinones, des terpénoïdes, des phénols, des stéroïdes, des tanins et des alcaloïdes. Tandis que les flavonoïdes sont absents dans les différents extraits.

De plus, L'analyse phytochimique faite par Prabha et Anusha (2015) sur l'extrait aqueux des fruits d'*E. cardamomum*, a montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins des terpénoïdes, des sucres réducteurs, des stéroïdes et des phénols.

Le criblage phytochimique préliminaire d'*E. cardamomum* réalisé par Masoumi-Ardakania *et al.* (2017) a montré que l'extrait méthanolique des graines contient des tanins et des flavonoïdes. Cependant, les tests pour les alcaloïdes et les saponines étaient négatifs. En

outre, de plus grandes quantités de kaempferol, de rutine et la quercétine ont été observées en utilisant la chromatographie sur couche mince.

Les rendements des deux extractions des fruits d'*E.cardamomum* obtenus dans cette étude sont proches l'un de l'autre, et sont respectivement, 12,50% pour l'extrait eau/MeOH obtenu par reflux et 12,87% pour l'extrait eau/acétone obtenu par macération.

Ces résultats sont supérieurs à ceux qui sont obtenus par Badami *et al.* (2004), Ho *et al.* (2008), Souri *et al.* (2008), Khalaf *et al.* (2008) et Bhatti *et al.* (2010) sur différents extraits méthanoliques des fruits d'*E.cardamomum*, les rendements sont dans l'ordre de 9,81% ; 7,1%, 9,28% ; 8,1% et 9,4% respectivement.

Par ailleurs, le criblage phytochimique quantitatif des fruits d'*E.cardamomum*, donne des teneurs élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés  $54,22 \pm 4,52$  mg EAG/gE ;  $14,53 \pm 0,46$  mg EC/gE et  $21,70 \pm 1,84$  mg EC/gE, respectivement pour l'extrait eau/acétone, par rapport à l'extrait eau/méthanol, où les teneurs sont de l'ordre de  $41,09 \pm 2,58$  mg EAG/gE ;  $10,90 \pm 0,80$  mg EC/gE et  $6,75 \pm 0,34$  mg EC/gE, respectivement.

Ces teneurs en polyphénols restent nettement supérieures à celles reportées par Ninfali *et al.* (2005) et Souri *et al.* (2008) sur des extraits méthanoliques, qui atteignent des valeurs de 148 mg/100g MS et 84,19 mg/100 g MS respectivement. Par ailleurs, l'étude réalisée par Ho *et al.* (2008) montre que l'extrait méthanolique possède une teneur très élevée en flavonoïdes de  $226 \pm 29,8$  mg EC/g MS.

Une étude faite par Bhatti *et al.* (2010) montre que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extraits méthanoliques des fruits d'*E.cardamomum* est d'ordre de  $1,66 \pm 0,05$  g EAG/100gMS et  $4,63 \pm 0,12$  g EC/100g MS respectivement. Ces teneurs restent inférieures à nos résultats qui sont plus élevées dans les deux extraits.

Les travaux réalisés par Sharafati-chaleshtor et Sharafati-Chaleshtori (2017) sur l'extrait éthanolique et Kandikattua *et al.* (2017) sur l'extrait hénanique des fruits d'*E.cardamomum* donnent des valeurs de  $19,27 \pm 0,02$  mg EAG/g MS et  $24 \pm 1,88$  mg EAG/mg MS en polyphénols totaux et  $18 \pm 0,021$  mg ER/g MS et  $13 \pm 1,14$  mg EC/g MS en flavonoïdes respectivement.

Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi d'une plante à une autre, cela peut être expliquée par l'origine de la plante

et la méthode d'extraction (Djeridane *et al.*, 2013), par la polarité des solvants d'extraction (Gao et Liu, 2005). Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage) (Podsędek, 2007 ; Falleh *et al.*, 2008).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante par piégeage de radicaux libres.

Dans la méthode de FRAP, nous avons remarqué une augmentation proportionnelle de la réduction du fer avec l'augmentation des concentrations des deux extraits des fruits d'*E.cardamomum*. Comme nous avons pu le voir précédemment que les deux extraits de la plante ont un pouvoir réducteur de fer inférieur à celui de l'acide ascorbique. Par ailleurs, l'extrait eau/acétone présente une activité réductrice du fer supérieur à celle de l'extrait eau/méthanol. Nos résultats obtenus par la méthode FRAP sont en accord avec ceux qui sont obtenus par Kandikattua *et al.* (2017) sur l'extrait hexanolique et Jain *et al.* (2011) sur l'extrait méthanolique, qui a montré que ces deux extraits présentent une faible capacité réductrice par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Pour la méthode de DPPH<sup>\*</sup>, Les valeurs des IC<sub>50</sub> déterminées graphiquement sont proches l'une de l'autre pour les deux extraits, 220 µg/mL pour l'extrait eau/méthanol et 200 µg/ml pour l'extrait eau/acétone, ces IC<sub>50</sub> sont inférieurs à ceux d'acide ascorbique et de BHA 1,08 µg/mL et 3,43 µg/mL respectivement.

Ces résultats sont proches à ceux qui sont obtenus par Sultana *et al.* (2010) donne une IC<sub>50</sub> de 217,431 µg/mL pour l'extrait méthanolique.

L'étude fait par Soury *et al.* (2008) a montré que l'extrait méthanolique présente une IC<sub>50</sub> égal 167,29 ± 1,72 µg/mL. D'autres études faites par Khalaf *et al.* (2008) et Kandikattua *et al.* (2017) donnent des IC<sub>50</sub> égales 681,5 ± 8, 4 et 464 ± 28,3 µg/mL respectivement.

L'activité antioxydante des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en composés phénoliques. Par exemple l'extrait hydroacétonique préparé par macération qui représente la teneur élevée en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins condensés, possède le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport à l'extrait hydrométhanolique.

L'activité antioxydante de polyphénols dépend généralement de leurs structures chimiques, du nombre et de la distribution des groupements hydroxyles (**Popovici *et al.*, 2009**). Ils peuvent piéger et neutraliser les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et être des chélateurs de certains ions métalliques (**Dugas *et al.*, 2000 ; Spiridon *et al.*, 2011**). Les polyphénols qui contiennent le noyau catéchol dans leur structure présentent un pouvoir réducteur du fer élevé, cela est due à la participation des groupements OH liée au noyau catéchol (**Degraft-Johnson *et al.*, 2007**).

# *Conclusion*

## Conclusion

---

Le présent travail a pour objectif l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des fruits d'*Elettaria cardamomum*.

L'analyse phytochimique de ces extraits nous a révélé la présence de nombreuses familles chimiques représentées par les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés réducteurs. Le dosage de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés, a quantifié le taux de ces composés dans les deux extraits. L'activité antioxydante déterminée par le pouvoir antiradicalaire en utilisant le radical libre DPPH<sup>•</sup> et par le pouvoir réducteur du fer (FRAP), a révélé une activité assez proche pour les deux extraits, est inférieure à celle de l'acide ascorbique, cet effet est lié aux taux de composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les tanins.

Ces résultats restent préliminaires et ne constituent bien évidemment qu'une première étape de recherche. Des études complémentaires, précises et approfondies, seraient nécessaires, qui se résument dans les points suivants :

- ✚ Réaliser autres méthodes d'extraction par changement du solvant et le temps d'extraction ;
- ✚ Réaliser une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification, et la caractérisation des principes actifs par des techniques chromatographiques et spectrales ;
- ✚ Tester *in vitro* l'activité antioxydante par d'autres méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) et le blanchiment de  $\beta$ -carotènes ;
- ✚ Evaluation d'autres activités biologiques, dont l'activité antimicrobienne, antifongique, antidiabétique, antitumorale ... et autres ;
- ✚ D'extraire les huiles essentielles de la cardamome, et d'évaluer leurs activités biologiques.

*Références*  
*bibliographiques*



- **Abdelkader, S.M., Bauomi, A.A., Abdel-Rahman, M., Mohammaden, T., Rezk, M.M., (2015).** Antioxidant potentials of (*Elletaria cardamomum*) cardamom against Uranium hazarda. *International Journal of Basic and Life Sciences* ,3, 64–181
- **Aggarwal, B. B., & Kunnumakkara, A. B. (2009).** Molecular targets and therapeutic uses of spices: modern uses for ancient medicine. World Scientific.
- **Al-Mailiki, A. D. M. (2011).** Isolation and identification of phenolic compounds from *Elettaria cardamomum* seeds and study of their medicinal activity against Pathogenic Bacteria of Prostate Gland. *Journal of Misan Researches*, 8, 13-35.
- **Aniszewski, T. (2007).** Alkaloid chemistry. Alkaloids—Secrets Life : Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. GB : Elsevier Science, 61-139.
- **Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007).** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on *in vitro* protein glycooxidation. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2402-2411.
- **Arvy, M. P., & Gallouin, F. (2015).** *Épices, aromates et condiments*. Editions Belin.
- **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005).** Tea and herbal infusions : their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89, 27-36.
- **Badami, S., Rai, S. R. (2004).** In-vitro antioxidant properties of Indian traditional paan and its ingredients. *Indian journal of traditional knowledege*, 3, 187-191
- **Bagchi, D., Sen, C. K., Bagchi, M., Atalay, M. (2004).** Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry (Moscow)*, 69, 75-80.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46, 1086-1089.
- **Barouki, R. (2006).** Ageing free radicals and cellular stress. *Medecine sciences*, 22, 266-272.
- **Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10, 38-42.
- **Belaïch, R., Boujraf, S., Housni, A., Maaroufi, M., Batta, F., Magoul, R., Tizniti, S. (2015).** Assessment of hemodialysis impact by polysulfone membrane on brain plasticity using BOLD-fMRI. *Neuroscience*, 288, 94-104.

- **Bhattacharjee, S., Rana, T., Sengupta, A. (2007).** Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by cardamom and cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in Swiss albino mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 8, 578-582.
- **Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010).** Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Asian Journal of Chemistry*, 22, 4787.
- **Biju Mathew.** (2013). Info Kerala Communications. Pvt Ltd, 84 pages
- **Bisht, V. K., Negi, J. S., Bh, A. K., Sundriyal, R. C. (2011).** *Amomum subulatum Roxb*: Traditional, phytochemical and biological activities-An overview. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 5386-5390.
- **Blessington, T., Nzaramba, M. N., Scheuring, D. C., Hale, A. L., Reddivari, L., Miller, J. C. (2010).** Cooking methods and storage treatments of potato: Effects on carotenoids, antioxidant activity, and phenolics. *American Journal of Potato Research*, 87, 479-491.
- **Botineau, M. (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc.
- **Bruneton J., 2008 :** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème Ed Paris, Lavoisier Tec & Doc.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. *Paris, Ed.* Tec & Doc.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème éd. Lavoisier.
- **Budic-Leto T & Lovric J., 2002.** Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac. *Food Technol and Biotechnol*, 40, 221-225.
- **Cai, L Y., Shi, Fx., Gao X. (2011).** Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum*(L) Merr. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 4059-4064.
- **Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

- **Causse, M., & Renard, C. (2008).** 2. Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. *Combris P. et al. Les fruits et légumes dans l'alimentation, enjeux et déterminants de la consommation. Paris: Ed Quae*, 43-60.
- **Christianson D.W. (2008).** Unearthing the roots of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12,141-150.
- **Cindrova-Davies, T. (2014).** The therapeutic potential of antioxidants, ER chaperones, NO and H<sub>2</sub>S donors, and statins for treatment of preeclampsia. *Frontiers in pharmacology*, 5.
- **Collin, S., & Crouzet, J. (2011).** *Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire.* Lavoisier.
- **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12, 564-582.
- **Cronquist, A. (1981).** *An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia.* Univercity Press. New York: 1753.
- **Dacosta Y.,** Les phytonutriments bioactifs, Ed. Yves Dacosta, Paris, 2003, p. 317.
- **Das, I., Acharya, A., Berry, D. L., Sen, S., Williams, E., Permaul, E., Saha, T. (2012).** Antioxidative effects of the spice cardamom against non-melanoma skin cancer by modulating nuclear factor erythroid-2-related factor 2 and NF- $\kappa$ B signalling pathways. *British Journal of Nutrition*, 108, 984-997.
- **Debray, M., Jacquemin, H., Razafindrambo, R. (1971).** Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8).
- **Degraft-Johnson, J., Kolodziejczyk, K., Krol, M., Nowak, P., Krol, B., Nowak, D. (2007).** Ferricreducing ability power of selected plant polyphenols and their metabolites : Implication for clinical studies on the antioxidant effects of fruits and vegetable consumption. *Basic & Clinical pharmacology & Toxicology*, 100, 345-352.
- **Delattre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). Tec & doc.
- **Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., Yousfi, M. (2015).** The in vitro evaluation of antioxidative activity,  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 9, 324-331.

- **Dugas, A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C. (2000).** Evaluation of the total peroxy radical scavenging capacity of flavonoids: structure- activity relationships. *J Nat Prod*, 63, 31-327.
- **Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48, 218-224.
- **EL Rhaffari L., Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, Edition de l'Institut de Recherche pour le Développement : Paris ; 293-318.
- **Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A., Mount, J. R. (2001).** Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection®*, 64, 1019-1024.
- **EL-Yamani, M. A. S. (2011).** Cinnamon, cardamom and ginger impacts as evaluated on hyperglycemic rats. *Research Journal Specific Education*, 20, 665-678.
- **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68, 939-953
- **Fabri, R. L., Nogueira, M. S., Braga, F. G., Coimbra, E. S., Scio, E. (2009).** *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource technology*, 100, 428-433.
- **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, 372-379.
- **Favier, A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique*. 55, 9-16
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- **Gao, M., & Liu, C. Z. (2005).** Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1461-1463.
- **Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

- **Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A. M. (2001).** Le préparateur en pharmacie. *Dossier*, 2, 272.
- **Gilly, G. (2005).** *Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse : botanique, culture, chimie, production et marché.* Editions L'Harmattan.
- **Gülçin, Ý., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., & Köksal, E. (2007).** A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of biotechnology*, 6, 410-418.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62, 628-38.
- **Hanson, J. R. (2003).** *Natural products: the secondary metabolites* (Vol. 17). Royal Society of Chemistry.
- **Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 2831-2846.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2, 3-6.
- **Herrera, E., & Barbas, C. (2001).** Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of physiology and biochemistry*, 57, 43-56.
- **Ho, S. C., Tsai, T. H., Tsai, P. J., Lin, C. C. (2008).** Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 920-928.
- **Hopkins, W. G. (2003).** *Physiologie végétale.* De Boeck Supérieur.
- **Houessou, S. (2010).** Effets de la réduction de la diversité floristique sur la santé des populations rurales au sud de Bénin, Colloque International de Sifee, Paris., communauté Electrique du Bénin (CEB) Lomé-Togo.
- **Houghton P.J. (2000).** Use of small scale bioassays in the discovery of novel drugs from natural sources. *Phytotherapy Research*, 14, 419-423.
- **Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 1841-1856.
- **Hubert, J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse pour obtenir le titre de docteur de l'institut national

polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : Qualité et sécurité des aliments. p. 174.

- **Huet, O., & Duranteau, J. (2008).** Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17, 387-392.
- **Husain, S. S., & Ali, M. (2014).** Analysis of volatile oil of the fruits of *Elettaria cardamomum* (L) Maton and its antimicrobial activity. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 1798-1808.
- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P. (Eds.). (2007).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse.
- **Jain, N., Sharma, V., Ramawat, K. G. (2011).** Therapeutic potentials of medicinal plants traditionally used during postpartum period and their molecular targets. *Journal of Ecobiotechnology*, 3, 30-39.
- **Jauniaux, E., & Burton, G. J. (2016).** Le rôle du stress oxydant dans les pathologies placentaires de la grossesse. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 45, 775-785.
- **Jiri, S., Marketa, R., Olga, K., Petr, S., Vojtech, J., Libuse, T., Ladislav, H., Miroslava, B., Josef, Z., Ivo, P., Rene, K. (2010).** Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: advantages and disadvantages. *Molecules*, 15, 8618-8640.
- **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. (2002).** Botanique systématique : une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur
- **Kablan, B. J., Adiko, M., Abrogoua, D. P. (2008).** Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6, 282-288.
- **Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Jayashree, G. V., Krupashree, K., Sukhith, M., Majid, A., Khanum, F. (2017).** Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom (*Elettaria repens* (Sonn.) Baill) and its phytochemical analysis by 4D GCXGC TOF-MS. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 191-201.
- **Karagözler, A.A., Erdag, B., Emek, Y.G., Uygum, D.A. (2008).** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*, *Food Chemistry*, 111, 400-407.

- **Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Ogugbuaja, V.O. (2004).** Identification of active principals of balsamina (Balsam apple) leaf extract. *Journal Medicine Sciences*, 4,179-182.
- **Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. (2008).** Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32, 51-55.
- **Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., Murad, W. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6055-6060.
- **Khanbaba K., Ree T.R. (2001)** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18, 641-649.
- **Khandelwal, K. (2008).** Practical pharmacognosy. Pragati Books Pvt. Ltd.
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 165-177.
- **Kundu, S., Ghosh, R., Choudhary, P., Prakash, A. (2014).** Health benefits of various Indian culinary herbs and comparative statistical analysis for organoleptic properties of Indian teas by using analysis of variance (ANOVA). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 621-625.
- **Lee, Y. M., Gweon, O. C., Seo, Y. J., Im, J., Kang, M. J., Kim, M. J., Kim, J. I. (2009).** Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition research and practice*, 3, 156-161.
- **Letonturier, P. (2002).** "Growing old gracefully." Pour un vieillissement réussi. 31,1173.
- **Levrant, J., Iwase, H., Shao, Z. H., Hoek, T. L. V., Schumacker, P. T. (2003).** Cell death during ischemia : relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 284, 549-558
- **Li, H., Horke, S., Förstermann, U. (2014).** Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 237, 208-219.
- **Lim, T. K. (2013).** *Elettaria cardamomum*. In Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants (pp. 818-827). Springer Netherlands.

- **Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Ming-Jiuan, W. (2003).** Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11, 60-66.
- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- **Madhusoodanan, K. J., Pradip Kumar, K., Ravindran, P. N. (2003).** Botany, crop improvement and biotechnology of cardamom. Cardamom–The genus *Elettaria*. Taylor & Francis, London, 11-40.
- **Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., Lima, J. L. (2008).** Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613, 1-19.
- **Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmanit, R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry*, 100, 1409-1418.
- **Majdalawieh, A. F., & Carr, R. I. (2010).** In vitro investigation of the potential immunomodulatory and anti-cancer activities of black pepper (*Piper nigrum*) and cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Journal of Medicinal Food*, 13, 371-381.
- **Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104, 1258-1268.
- **Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H. R. (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 77-82.
- **Mak, S., Egri, Z., Tanna, G., Colman, R., Newton, G. E. (2002).** Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependent vasodilation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 282, 2414-2421.
- **Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2004).** Comparative analysis of the oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52, 6278-6282.
- **Masoumi-Ardakani, Y., Mahmoudvand, H., Mirzaei, A., Esmailpour, K., Ghazvini, H., Khalifeh, S., Sepehri, G. (2017).** The effect of *Elettaria cardamomum*



- extract on anxiety-like behavior in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 489-495.
- **Massion, P. B., & Balligand, J. L. (2007)**. Relevance of nitric oxide for myocardial remodeling. *Current Heart Failure Reports*, 4, 18-25.
  - **Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira J.M.F., Araujo M.E.M. (2007)**. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices, *Food Chemistry*, 103, 778-786.
  - **Miller, N.J., & Rice-Evans, C.A. (1997)**. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chemistry*, 60, 331-337.
  - **Morot-Gaudry, J. F. (2016)**. *Les végétaux, un nouveau pétrole ?* Éditions Quae.
  - **Mumper, R. J. (2010)**. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
  - **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., Aké-Assi, L. (2009)**. Phytochemical screening of some ivorian medicinal plants used by the Krobou people (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci. Nat*, 6, 1-15.
  - **Nair, K. P. (2006)**. The agronomy and economy of cardamom: the “queen of spices”. *Advances in agronomy*, 91, 179-471.
  - **Nakajima, K., Nakano, T., Tanaka, A. (2006)**. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 367, 36-47.
  - **Nicholls, P. (2012)**. Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 525, 95–101.
  - **Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, M., Bacchiocca, M. (2005)**. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*, 93, 257-266.
  - **Oloyede, O. I. (2005)**. Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4, 379-381.
  - **Omulokoli, E., Khan, B., Chhabra, S. C. (1997)**. Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 56, 133-137.
  - **Orban, J. C. (2010)**. Oxygène, stress oxydant. Désordres métaboliques et réanimation. Springer, 427-437.

- **Ortuño, A., Báidez, A., Gómez, P., Arcas, M. C., Porras, I., García-Lidón, A., Del Rio, J. A. (2006).** Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 98, 351-358.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44, 307-315.
- **Panda, H. (2003).** Herbal Foods and its Medicinal Values. National Institute of Industrial Re.
- **Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M. A., Codina, C. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 73, 1667-1681.
- **Park, H. H., Lee, S., Son, H. Y., Park, S. B., Kim, M. S., Choi, E. J., Hyun, M. C. (2008).** Flavonoids inhibit histamine release and expression of pro inflammatory cytokines in mast cells. *Archives of pharmacal research*, 31, 1303-1311.
- **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2008).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, 233-239.
- **Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- **Podsędek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- **Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du Génie Industriel*, 4, 26-39.
- **Prabha, M., & Anusha, T. S. (2015).** Esterase's properties in commonly used Indian spices for Alzheimer's disease model. *Journal of Biochemical Technology*, 6, 875-882.
- **Qiblawi, S., & Dhanarasu, S. (2015).** Chemopreventive Effect of Cardamom (*Elettaria cardamomum*) Against Benzo ( $\alpha$ ) Pyrene-Induced Forestomach Papillomagenesis in Swiss Albino Mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 34, 95-104.
- **Račková, L., Májeková, M., Košťálová, D., & Štefek, M. (2004).** Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12, 4709-4715.

- **Ramesh, B. S. (2006).** Studies on quality attributes of cultivars of large cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.). *Journal of Food Science and Technology (India)*, 43, 308-311.
- **Rao, C. V., & Vijayakumar, M. (2008).** Effect of quercetin, flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *European journal of pharmacology*, 589, 233-238.
- **Ravindran, P. N., & Madhusoodanan, K. J. (Eds.). (2003).** Cardamom: the genus *Elettaria*. CRC Press.
- **Rodrigo, R. (2009).** Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. Nova Biomedical Books.
- **Sahu, A.N., & Laloo, D. (2011).** Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An in vitro study. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, 277–283
- **Samouelian, F., Gaudin, V., Boccara, M. (2009).** *Génétique moléculaire des plantes*. Editions Quae.
- **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 8, 121-137.
- **Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
- **Sarkar, P.R. (2011).** Yaogic Treatment and Natural Remedies. V Ed. AMPS Publication, Purulia, West Bengal, p. 105.
- **Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Tec & doc.
- **Scartezzini, P., & Speroni, E. (2000).** Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of ethnopharmacology*, 71, 23-43.
- **Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, 112, 654-658.
- **Seidemann, J. (2005).** World spice plants. Springer, pp. 115-253.
- **Sekine, T., Sugano, M., Majid, A., Fujii, Y. (2007).** Antifungal effects of volatile compounds from black zira (*Bunium persicum*) and other spices and herbs. *Journal of chemical ecology*, 33, 2123-2132.

- **Sengupta, A., Ghosh, S., Bhattacharjee, S. (2005).** Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6, 118-122.
- **Sereshti, H., Rohanifar, A., Bakhtiari, S., & Samadi, S. (2012).** Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.
- **Seyoum, A., Asres, K., & El-Fiky, F. K. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070.
- **Sharafati-Chaleshtor, F., & Sharafati-Chaleshtori, R. (2017).** In vitro antibacterial and antioxidant properties of *Elettaria cardamomum* Maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat. *Veterinarski arhiv*, 87, 301-315.
- **Sharma, S., Sharma, J., Kaur, G. (2011).** Therapeutic uses of *Elettaria cardomum*. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2, 102-108.
- **Shetty, P., Rao, S. N., Megha Rani, N. (2013).** Preliminary phytochemical screening of ethanolic extract of *Elettaria cardamomum* fruits. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 2, 584-590.
- **Sibi, G., Shukla, A., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., Mallesha, H. (2013).** In vitro antibacterial activities of Broccoli against food borne bacteria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3, 100-103.
- **Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89, 191-198.
- **Socaciu, C. (Ed.). (2007).** *Food colorants: chemical and functional properties*. CRC Press.
- **Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., LLeonart, M. E. (2013).** Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12, 376-390.
- **Souri, E., Amin, G., Farsam, H. (2008).** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 83-87.

- **Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A. (2011).** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent.Eur J Biol*, 6, 388-396.
- **Sultana, S., Ripa, F. A., Hamid, K. (2010).** Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 340.
- **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267-4274.
- **Suneetha, W. J., & Krishnakantha, T. P. (2005).** Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytotherapy Research*, 19, 437-440.
- **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Sokmen, A. (2006).** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95, 200-204.
- **Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.
- **Thérond, P., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier, Paris, 87-111.
- **Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., Węgrzyn, G. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of Microbiology*, 184, 271-278.
- **Vaidya, A., & Rathod, M. (2014).** An in vitro study of the immunomodulatory effects of *Piper nigrum* (black pepper) and *Elettaria cardamomum* (cardamom) extracts using a murine macrophage cell line. *AIJRFANS*, 8, 18-27.
- **Verma, S. K., Rajeevan, V., Bordia, A., & Jain, V. (2010).** Greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb)–A cardio-adaptogen against physical stress. *Journal Herbal Medicine and Toxicology*, 4, 55-58.
- **Vermerius, W., Nicholson, R., (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. Springer, 151-196
- **Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., Gruppen, H. (2007).** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68, 275-297.

- **Vishwakarma, S., Chandan, K., Jeba, R. C., Khushbu, S. (2014).** Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 2538-56.
- **Visioli, F., Borsani, L., Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47, 419-425.
- **Vivas, N., de Gaulejac, N. V., Nonier, M. F. (2003).** Sur l'estimation et la quantification des composés phénoliques des vins. *L'OIV*, 865, 281.
- **Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (Eds.). (2010).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. CRC Press.
- **Weidinger, A., & Kozlov, A. V. (2015).** Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5, 472-484.
- **Wichtel, M., & Anton, R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition Lavoisier, Paris, 38- 41.
- **Yadav, A. S., & Bhatnagar, D. (2007).** Free radical scavenging activity, metal chelation and antioxidant power of some of the Indian spices. *Biofactors*, 31, 219-227.
- **Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R., Nakao, K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver: Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology*. 41, 849–858.
- **Zhang, H., & Forman, H. J. (2012).** Glutathione synthesis and its role in redox signaling. In *Seminars in cell & developmental biology*. 23, 722-728.

## Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. Dans cette contribution, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des fruits d'*Elettaria cardamomum*.

Les fruits de cette plante ont été soumis à une extraction par macération dans un mélange eau/acétone (30:70 ; v/v) et sous reflux dans un mélange eau/méthanol (30:70 ; v/v). Ces extraits sont soumis à une analyse phytochimique qualitative, ensuite un dosage quantitatif des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés, et cela par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium et de la vanilline respectivement. L'évaluation de la capacité antioxydante a été effectuée par la méthode de réduction de fer FRAP et par la méthode de piégeage du radical libre DPPH'.

Le screening phytochimique nous a révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des composés réducteurs dans les deux extraits. L'analyse quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait eau/acétone est le plus riche par rapport à l'extrait eau/méthanol avec un taux de  $54,22 \pm 4,52$  mg EAG/gE en polyphénols totaux,  $14,53 \pm 0,46$  mg EC/gE en flavonoïdes et  $21,70 \pm 1,84$  mg EC/gE en tanins condensés.

Dans le test du pouvoir réducteur du fer, l'extrait eau/acétone montre une activité supérieure que l'extrait eau/méthanol mais inférieur à celui de l'acide ascorbique.

L'effet de l'extrait hydrométhanolique et hydroacétonique sur le piégeage du radical DPPH' a révélé une faible activité antioxydante par rapport à l'acide ascorbique et le BHA avec des  $IC_{50}$  de 200  $\mu$ g/mL et 220  $\mu$ g/mL, 1,08  $\mu$ g/mL et 3,43  $\mu$ g/mL respectivement.

**Mots clés :** *Elettaria cardamomum*, composés phénoliques, activité antioxydante, DPPH', FRAP.

## Abstract

The search for effective, nontoxic natural compounds with antioxidative activity has been intensified in recent years. In this contribution, we are interested in the phytochemical study and antioxidant activity of *Elettaria cardamomum* fruits.

The fruits were extracted by maceration in a aqueous /acetone solution (30:70 ; v/ v) and under reflux in a aqueous /methanol solution (30:70 ; v/v). These extracts were evaluated by qualitative phytochemical analysis followed by a quantitative determination of the total polyphenols, flavonoids and condensed tannins by Folin-Ciocalteu, aluminum trichloride and vanillin methods, respectively. Evaluation of the antioxidant capacity was carried out by the FRAP iron reduction method and the DPPH' free radical scavenging method.

Phytochemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids, saponins, alkaloids, terpenoids and reducing compounds in each extracts.

The quantitative analysis of the phenolic compounds showing a high content in aqueous/acetone extract than aqueous/methanol extract with a concentration of  $54.42 \pm 4.52$  mg EGA/gE of total polyphenols,  $14.53 \pm 0.46$  mg EC/gE in flavonoids and  $21.70 \pm 1.84$  mg EC/gE in condensed tannins.

FRAP method revealed that the aqueuos/acetone extract shows a high activity as the aqueous/methanol extract but lower than that of ascorbic acid.

In comparison with ascorbic acid and BHA ( $IC_{50}=1,09$  and  $3.43$   $\mu$ g/mL respectively), the aqueous/acetone and aqueous/MeOH extracts showed low antioxidant activity to scavenge DPPH• free radical ( $IC_{50}=200$  and  $220$   $\mu$ g/mL respectively).

**Key words :** *Elettaria cardamomum*, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH', FRAP

## ملخص

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة من مصادر طبيعية اهتمنا في هذه العمل بتقييم الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلصين لفاكهة الهال. استهلكت هذه الدراسة بالبحث عن المكونات الكيميائية للمستخلصين (ماء/اسيتون، ماء/ميثانول) وتبعته بدراسة النشاط المضاد للأكسدة وذلك باستخدام طريقتين قوة ارجاع الحديد FRAP وتنشيط الجذر DPPH'.

الفحص الكيميونباتي النوعي اظهر وجود العفص، فلافونيدات، الصابونين، قلويدات، التاربينيويد والمركبات المرجعة. كما اظهر التحليل الكمي للمركبات الفينولية أن المستخلص ماء/اسيتون أعطى كميات هامة مقارنة بالمستخلص ماء/ميثانول إذ قدرت كمية الفينولات الكلية ب  $54.22 \pm 4.52$  مغ معادل حمض الغاليك في الغرام الواحد من المستخلص، وكمية الفلافونويد ب  $14.53 \pm 0.46$  مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد من المستخلص أما كمية العفص المتكثل فقد قدرت ب  $21.70 \pm 1.84$  مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد من المستخلص.

في اختبار القدرة الإرجاعية للحديد، المستخلص ماء/اسيتون أظهر نشاط أعلى من المستخلص ماء/ميثانول ولكن أقل من حمض الأسكوربيك. كما بين تأثير هذين الاخيرين على تنشيط الجذر DPPH'، نشاط مضاد للأكسدة منخفض مقارنة مع حمض الأسكوربيك ومضاد الأكسدة الصناعي (BHA)، حيث قدرت  $IC_{50}$  بنسبة 200 مكغ / مل، 220 مكغ / مل، 1.08 مكغ / مل و 3.43 مكغ / مل على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** نبات الهال، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH', FRAP.