



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

Melle Aissat Mériem

Sur le thème

Étude de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire du falcarinol isolé de
l'extrait de *Pastinaca sativa* (Panais)

Soutenu publiquement le **31 Mai 2023** à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme Choukchou-Braham Esma	Professeure	Université de Tlemcen	Présidente
Mr DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant
Mr Bendahou Mourad	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur

2022 ~ 2023

Dédicace

« A la mémoire de mon grand-père maternel »

Avec beaucoup de joie et de cœur, je dédie ce travail aux personnes les plus importantes de ma vie, maman & papa.

La femme la plus courageuse, la plus empathique, la plus généreuse, qui a su me donner de l'amour et de la joie de vivre, qui m'a toujours montré de la compréhension, qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi toujours été là pour m'apprendre la valeur de la vie à ma chère mère, qui m'a soutenue dans toutes les situations.

A l'homme de courage et de force, vous étiez toujours ma source d'inspiration et courage, cher père.

Cette dédicace est la meilleure manière pour moi de vous vénérer et de vous expliquer à quel point vous êtes formidable. J'espère que ce travail exprime toute ma gratitude et mon intense respect.

Mes chers frères

A toute ma famille

A mes chères amies

Farah, Sara, Soulef, Nabila

Remercîments

Je remercie notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout-puissant pour la force, le courage, la patience qu'il m'a donnée pour réaliser ce modeste ce travail.

Tout d'abord je tiens à remercier mon encadrant le professeur de l'université de Tlemcen, chef du département, Mr **Mohammed El Amine Dib** pour sa disponibilité son orientation, sa confiance, sa précieuse aide et surtout d'avoir eu l'amabilité de me consacrer de son temps.

Ce travail, effet n'aurait pas été le même sans ses précieux conseils qui ont enrichis ma réflexion et je tiens à lui témoigner, ici, ma profonde gratitude

Je tiens à écrire un « Merci » sincère au responsable du master CPN Mme, **Tabet Zatla Amina** pour son enseignement et ses conseils durant mes études en master.

Je remercie Mr **Said GHALLEM**, directeur du laboratoire des substances naturelles et bioactives, pour son accueil chaleureux au sein du laboratoire LASNABIO.

Je tiens à remercier le Professeur **Ziani Cherif Chewki**, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire LCSCO pour effectuer les analyses de mes fractions

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements Mr **Kazi** du Département de Pharmacie de l'Université de Tlemcen, pour son aide à l'identification de plante.

J'exprime ma profonde reconnaissance au Professeure **Esma Choukchou Braham**, qui m'a fait l'honneur de présider le jury. Mes vifs remerciements sont adressés aux membres de jury : Professeur **Mourad Bendahou** qui a accepté d'évaluer mon travail.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur convivialité, **Kheira et Bomedienne** pour leur disponibilité.

DR **Lyna Benhamidat**, merci pour votre disponibilité tout au long de mon mémoire et pour tout ce que vous m'avez appris en CPN notamment sur RMN. Merci de m'avoir consacré du temps, Vous m'avez guidé et éclairé sur les voies les plus intéressantes à prendre.

Je remercie également Melle(s) DR(s) **Radja Acheri** et **Safaa Ziane** pour leur aide, leur patience, leur disponibilité, leur gentillesse et leur encouragement.

Je tiens également à remercier les professeurs du Département de chimie qui ont participé à ma formation.

Finalement, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé :

Au vu des résultats montrés par les études sur les composés antioxydants et anti-inflammatoires, ces derniers ont fait l'objet de nombreux travaux, notamment lorsqu'ils sont utilisés comme conservateurs dans les denrées alimentaires à la place des antioxydants synthétiques. De plus, ils traitent également de nombreuses maladies. A la lumière de ces découvertes, les chercheurs se sont appuyés sur des sources naturelles et ont découvert de nouveaux antioxydants et anti-inflammatoires, et c'est ce qui nous a fait fasciner d'étudier les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits de plantes médicinales de notre région de Tlemcen, qui sont largement cultivées dans L'Algérie, et parmi ces plantes, nous avons choisi *Pastinaca sativa*, qui appartient à la famille des Apiacées, qui est encore utilisée dans la médecine traditionnelle comme la dysurie, l'hydropisie et les ulcères cancéreux. Par macération des parties racinaires du *P.sativa* nous avons extrait l'extrait qui a un bon rendement. Lors de l'évaluation du pouvoir des antioxydants. Nous nous sommes appuyés sur trois techniques différents : le piégeage du radical libre DPPH, réduction du fer FRAP, méthode chélation de fer (Test de réduction par formation du complexe Fe²⁺ -Phenanthroline). Ont montré que l'extrait possède une activité antioxydante mais reste inférieure au BHT. Par ailleurs, la fraction de Falcarinol n'a montré aucune activité antioxydante. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par dénaturation des protéines a montré que le falcarinol avait une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de l'extrait, mais toujours inférieure à celle du diclofénac sodique.

Mot cles : *Pastinaca.sativa*, extrait, activité antioxydante, DPPH, FRAP, Chelation de Fer, activite anti-inflammatoire.

ملخص:

أمام النتائج التي أظهرتها دراسات عن المركبات المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات أصبحت هذه الأخيرة موضوع العديد من الأعمال، خاصة عند استخدامها كمواد حافظة في المواد الغذائية معوضه مضادات الأكسدة الاصطناعية كما أصبحت تعالج العديد من الأمراض. وفي ضوء هذه الاكتشافات اعتمدوا على مصادر طبيعية واكتشفوا مضادات الأكسدة ومضادات التهابات جديدة وهذا ما جعلنا نهتم بدراسة تقييم خواص مضادات الأكسدة ومضادات للالتهابات من مستخلص النباتات الطبية من منطقتنا تلمسان. التي تزرع على نطاق واسع في الجزائر و منها اخترنا *pastinaca sativa* التي تنتمي إلى عائلة Apiacea ، الذي مازال يستخدم في الطب التقليدي مثل علاج عسر البول ، والاستسقاء، و القرح السرطانية. عن طريق النقع من الأجزاء الجذرية اللفت استخرجنا المستخلص الذي له عائد جيد. في تقييم قوة مضادات الأكسدة اعتمدنا على ثلاث تقنيات مختلفة: إزالة الجذور الحرة DPPH ، تقليل الحديد FRAP، طريقة إزالة معدن الحديد وأظهرت النتائج أن هناك نشاط مضاد للأكسدة، في الواقع لم يظهر جزء الفاركارينول نشاط مضاد للأكسدة. ثم تم تقييم القوة المضادة للالتهابات عن طريق تمسخ البروتين اظهرت أن الفاركارينول له نشاط مضاد للالتهابات أعلى من المستخلص لكنهما، يضلان اقل من الديكلوفيناك صوديوم

الكلمات المفتاحية: *pastinaca sativa*، مستخلص ، نشاط مضاد للأكسدة، إزالة الجذور الحرة، تقليل الحديد ، إزالة معدن، نشاط مضاد للالتهابات.

Abstract :

In view of the results shown by the studies on antioxidant and anti-inflammatory compounds, the latter have been the subject of many studies, especially when they are used as preservatives in food instead of synthetic antioxidants. They also treat many diseases. In light of these findings, researchers have relied on natural sources and discovered new antioxidants and anti-inflammatory drugs, and this is what made us fascinate to study the antioxidant and anti-oxidant properties inflammatory extracts of medicinal plants from our region of Tlemcen, which are widely cultivated in Algeria, and among these plants, we chose *Pastinaca sativa*, which belongs to the family Apiaceae, which is still used in traditional medicine such as dysuria, dropsy and cancer ulcers. By maceration of the root parts of *P.sativa* we extracted

the extract which has a good yield. When evaluating the potency of antioxidants. We relied on three different techniques : the trapping of the free radical DPPH, reduction of iron FRAP, iron chelation method (Fe+2 -Phenanthroline complex reduction test). Have shown that the extract has antioxidant activity but remains lower than BHT. In addition, the Falcarinol fraction showed no antioxidant activity. The evaluation of anti-inflammatory activity by denaturing proteins showed that falcarinol had an anti-inflammatory activity higher than that of the extract, but still lower than that of diclofenac sodium

Keywords : *Pastinaca.sativa*, extract, antioxidant activity, DPPH, FRAP, Iron chelation, anti-inflammatory activity

SOMMAIRE

DEDICACE

REMERCIEMENT

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

<i>Introduction Générale</i>	1
<i>Chapitre I : Etude Bibliographique</i>	4
I.I. Généralités sur les plantes médicinales	5
I.I.1. Les plantes aromatiques et médicinales.....	5
I.I.2. Les polyacétylènes.....	5
I.I.3. Les extraits des plantes médicinales	6
I.I.4. Analyse des extraits	6
I.I.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	6
I.I.4.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)	7
I.I.4.3. La chromatographie sur couche mince	8
I.I.4.4. La Chromatographie sur colonne	8
I.I.4.5. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	9
I.I.5. Activités biologiques des extraits	9
I.I.5.1. Activité antioxydante.....	9
I.I.5.2. Activité anti-inflammatoire	10
I.II. Présentation de la famille des Apiacées	11
I.III. <i>Pastinaca sativa</i>	11
I.III.1. Descriptions botanique et ethnobotanique du <i>Pastinaca sativa</i>	11
I.III.2. Classification systématique du Panais	12
I.III.3. Utilisation traditionnelle	12
I.III.4. Evaluation des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoire d'extrait de Panais (<i>P. Sativa</i>).....	12
<i>Chapitre II : Etude Chimique</i>	14
II.I. Etude de l'extrait de <i>Pastinaca Sativa</i>	15
II.I.1. Lieux de récolte et rendement	15
II.I.2. Analyse préliminaire d'extrait de la partie racinaire de <i>P. sativa</i>	16
<i>Chapitre III : Etude Biologique</i>	21
III.I. Evaluation de l'activité antioxydante.....	22
III.I.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	22

III.I.2. Test de la réduction du fer : FRAP	23
III.I.3. Test de réduction par formation du complexe Fe ⁺² -Phenanthroline	25
III.II. Activité anti-inflammatoire	26
Conclusion Générale	29
Partie Expérimentale	31
I. Provenance du matériel végétal et identification	32
II. Préparation d'échantillon	32
III. Fractionnement de l'extrait de <i>P. sativa</i>	32
IV. Evaluation de l'activité antioxydante	33
IV.I. Test de piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	33
IV.II. Réduction du fer : FRAP	35
IV.III. Test de réduction par formation du complexe Fe ⁺² -Phenanthroline	36
V. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	37
Références Bibliographiques	39

LISTE DES ABREVIATIONS

PAM :	Plantes Aromatiques et Médicinales.
HE :	Huile Essentielle.
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse.
CPG/SM :	Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à la Spectroscopie de Masse.
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN¹H:	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton.
RMN¹³C :	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone-13
J :	Constante de Couplage.
m/z :	Masse/Charge Electrique.
SM :	Spectrométrie de Masse.
CC :	Chromatographie liquide sur Colonne ouverte.
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince.
ADN :	Acide Désoxyribo Nucléique.
AINS :	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.
AIS :	Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.
IR :	Infrarouge.
CI50 :	Concentration Nécessaire à 50 % d’Inhibition.
DPPH:	2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle.
FRAP:	Ferric Reducing Antioxidant Power.
BHT :	Hydroxytoluène Butylé.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structure chimique de quelques polyacétylènes	6
Figure 2. Place CMM	8
Figure 3. Panais (<i>P. sativa</i>).	11
Figure 4. Photo originale du <i>Pastinaca sativa</i>	11
Figure 5. Spécimens de <i>P. sativa</i> récoltés dans la wilaya de Tlemcen.	15
Figure 6. Schéma de fractionnement de l'extrait d'acétate d'éthyle.	16
Figure 7. Spectre Infrarouge de fraction du falcarinol.	17
Figure 8. Spectre RMN du proton de falcarinol.	18
Figure 9. Spectre RMN du carbone 13.	19
Figure 10. CI ₅₀ d'extrait à l'acétate d'éthyle, et la combinaison extrait & BHT déterminées par la méthode DPPH.	23
Figure 11. Absorbances en fonction des différentes concentrations d'échantillons de <i>P. sativa</i> , BHT et la Combinaison.	24
Figure 12. Absorbances en fonction des différentes concentrations de l'extrait de <i>P. sativa</i> et le BHT.	25
Figure 13. CI ₅₀ de l'extrait, falcarinol et le diclofénac.	27
Figure 14. Capacité anti-inflammatoire des échantillons.	27
Figure 15. Révélation.	32
Figure 16. Pendant l'élution.	32
Figure 17. Méthode DPPH.	34
Figure 18. Capacité antioxydante d'échantillons étudiés.	34
Figure 19. Absorbances en fonction des différentes concentrations des échantillons étudiés.	35
Figure 20. Méthode de FRAP.	35
Figure 21. Méthode chélation de fer (réduction par formation du complexe Fe ⁺² - Phenanthroline).	36
Figure 22. Absorbances en fonction des différentes concentrations des échantillons étudiés.	36
Figure 23. Capacité anti-inflammatoire des trois échantillons étudiés.	38
Figure 24. Dénaturation d'albumine d'œuf.	38
Figure 25. Dénaturation d'albumine d'œuf.	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Répartition géographique et climatologique d'extrait de <i>P. sativa</i>	15
Tableau 2. Les bandes caractéristiques d'infrarouge.	17
Tableau 3. Déplacements chimiques des protons (60 MHz).....	18
Tableau 4. Déplacements chimiques des carbones 13 (60 MHz).	19
Tableau 5. Évaluation de l'activité anti-radicalaire des différents échantillons testés par le test DPPH.	23
Tableau 6. Évaluation de l'activité antioxydante des différents échantillons testés par le test FRAP.	24
Tableau 7. Évaluation de l'activité anti-radicalaire des différents échantillons testés par le test chélation de fer.	25
Tableau 8. Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'albumine d'extrait, fraction riche de falcarinol et le diclofénac sodique.	27

*N'allez pas là où le chemin peut mener.
Allez là où il n'y a pas de chemin et laissez une trace. »*

RALPH WALDO EMERSON



Introduction Générale

Introduction

Plus une personne considère le monde naturel, plus elle comprend qu'il s'agit d'un livre qui peut être lu et adapté à ses besoins et à ses exigences. La biodiversité végétale dont les Algériens bénéficient dans le désert, la mer Méditerranée et les montagnes (steppe) ont permis aux chercheurs d'identifier plus de 3000 plantes, dont certaines endémiques de différentes familles [1]. Celles-ci semblent indispensables dans la médecine traditionnelle, la phytothérapie et les préparations culinaires. Les gens ont également remarqué un intérêt croissant pour la phytothérapie (plantes d'aromathérapie médicale) suite à la prise de conscience que de nombreuses maladies peuvent être traitées par des plantes sans avoir d'effets secondaires défavorables.

Les ingrédients des produits pharmaceutiques sont des composés naturels extraits de plantes médicinales par diverses techniques (macération, distillation, extraction, etc.) et contiennent des substances naturelles. La majorité de ces plantes contiennent suffisamment de matières premières pour produire des médicaments industriels. Lorsque ces plantes ont des effets pharmacologiques sur l'un de ses organes, on parle de médicaments. Il est possible d'affirmer qu'une plante médicinale peut exacerber ou traiter une maladie [2]. Les plantes médicinales sont composées d'une variété de composants métaboliques secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles, les terpènes, les polyphénols et les alcaloïdes.

D'autre part, la production excessive de radicaux libres, y compris les espèces réactives de l'oxygène (ROS) une fois formées, entraîne des dommages oxydatifs aux enzymes intégrales, aux protéines et même à l'ADN, ce qui entraîne des processus dégénératifs ou pathologiques tels que le vieillissement, le cancer, l'inflammation, le diabète et les troubles neurodégénératifs [3]. De plus, les médicaments couramment utilisés pour réduire l'inflammation sont les AINS, ainsi, l'utilisation prolongée de ces agents comporte un risque de toxicité cardiovasculaire, gastro-intestinale et d'autres toxicités [3].

La diversité moléculaire des métabolites des plantes leur confère des rôles et des propriétés biologiques. Certains extraits de plantes peuvent agir comme agents anti-inflammatoires et antioxydants en inhibant la libération de médiateurs pro-inflammatoires, en piégeant les radicaux libres et en augmentant les défenses antioxydantes pour améliorer la santé ou guérir des maladies chez l'homme [4]. La majorité des personnes dans notre société évitent aujourd'hui de manger du panais (*Pastinaca sativa*) à cause de son goût et de son odeur

Introduction

désagréable. Cependant, cette plante sauvage, bisannuelle herbacée de la famille des Apiacées (Umbellifères), est l'une des espèces les moins étudiées en ce qui concerne les propriétés bioactives de ses extraits

Ainsi, le présent travail porte sur l'étude de la composition chimique et l'activité biologique de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Pastinaca sativa* afin de pallier le manque des études effectuées sur cette espèce végétale. L'objectif principal de ce travail est i) d'extraire les racines du panais par de l'acétate d'éthyle ii) isoler les fractions riches en falcarinol et iii) tester le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait de l'acété d'éthyle et de la fraction riche en Falcarinol.

Ce mémoire se compose de trois chapitres. **Le premier chapitre** est consacré à la généralisation des extraits et des techniques d'analyse des extraits, suivi d'un bref rappel bibliographique des différentes bio activités réalisées dans cette étude, et enfin nous présentons une description botanique, ethnographique et chimique de notre plante.

Le deuxième chapitre présente les résultats de l'étude chimique sur le *Pastinaca sativa*.

Le troisième chapitre contient les résultats des tests biologiques de l'extrait d'acétate d'éthyle et de la fraction riche en falcarinol.



Chapitre I :
Etude Bibliographique

I.I. Généralités sur les plantes médicinales

I.I.1. Les plantes aromatiques et médicinales

Une des caractéristiques des plantes aromatiques et médicinales (PAM) est leur abondance de principes actifs, que les gens utilisent à des fins thérapeutiques ou commerciales [5]. Une plante médicinale avec des métaboliques secondaires dans ses tissus (tiges, feuilles, brindilles et racines) peut traiter ou atténuer les symptômes de certaines maladies et améliorer la santé humaine sans effets secondaires défavorables. Ces plantes sont utilisées dans une variété de procédures d'aromathérapie et de phytothérapie, telles que la production des huiles essentielles, d'extraits et de tisanes en utilisant une variété de techniques d'extraction. Le terme phytothérapie peut être divisé en deux parties : la phyto pour désigner le mot plante et la thérapie qui signifie soigner, traiter [6]. C'est une médecine douce à base de PAM. Le métabolisme secondaire se compose de trois grandes familles : les polyphénols, les terpénoïdes ainsi que les polyacétylènes.

I.I.2. Les polyacétylènes

Le polyacétylène est un groupe unique de produits naturels avec une structure quelque peu réactive. Les plantes supérieures contiennent environ 1500 substances avec une ou plusieurs triples liaisons, et plus de 2000 polyacétylènes différents et composés apparentés ont été isolés [7]. Ces composés ont été retrouvés dans 21 autres familles de plantes [8-9], avec une répartition très irrégulière chez les Araliacées, les Astéracées et les Ombellifères. Ces composés ont également été décrits chez certains champignons et algues, car ils sont devenus de bons marqueurs chimiques en raison de leur distribution et de leur diversité structurale [10].

Comme d'autres matériaux organiques insaturés, le polyacétylène est chimiquement et biologiquement actif, ce très haut bénéfice conduit à une oxydation et une détérioration rapide, en particulier lorsqu'il est exposé à la lumière UV et à un pH moyen, de sorte que ce type devient un composé relativement instable qui nécessite des conditions particulières d'extraction et d'investigation [11-12]. Les composés naturels à activité biologique sont acycliques, contenant au moins deux triples liaisons cycliques. Ils sont généralement conjugués [13] et linéaires, mais ils peuvent être partiellement cycliques et contenir une ou plusieurs doubles liaisons et contiennent rarement des atomes hétérocycliques (chlore, soufre et oxygène). Souvent contenu dans des systèmes hétérocycliques : thiophène, thianone, dihydrofuranone, dithian furane [12-14].

Les polyacétylènes composés de 17 carbones, comme le falcarinol, sont largement distribués dans les plantes ombellifères [8-15], de sorte que tous les polyacétylènes trouvés dans les parties comestibles des plantes ombellifères telles que les carottes appartiennent au type falcarinol, cependant, ils ne se trouvent plus dans les plantes comestibles. Des parties d'autres familles de plantes, bien qu'on les trouve dans les aubergines [16-17].

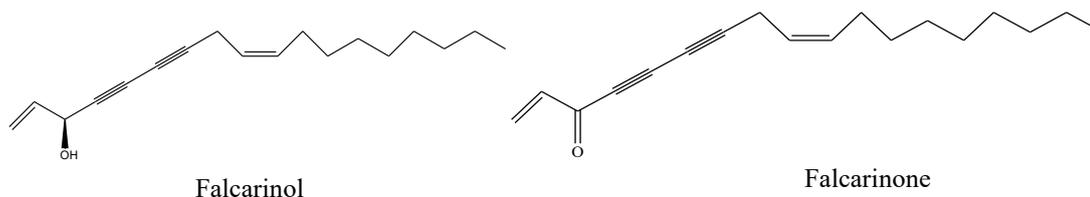


Figure 1. Structure chimique de quelques polyacétylènes

I.I.3. Les extraits des plantes médicinales

Les extraits végétaux résultent de l'évaporation des essences des plantes ou des solutions d'extraction obtenues après traitement de la matière première végétale par un solvant approprié. Chaque extrait produit est analysé pour déterminer sa composition en composés actifs et son rendement [18]. Il existe plusieurs types d'extraits : extrait par solvant éthanoliques ou hydroalcooliques, extraits glycérolés et les extraits aqueux qui sont préparés par décoction ou par macération [19].

I.I.4. Analyse des extraits

L'analyse des extraits implique généralement la séparation, l'identification et la détermination quantitative de leurs composants. Celles-ci comprennent la chromatographie (chromatographie sur colonne et chromatographie en phase gazeuse) et les techniques de spectroscopie (spectrométrie de masse (SM), spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, spectrophotométrie infrarouge) ou combinée (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) [20,21].

I.I.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie est l'une des plus importantes méthodes de séparation et d'analyse, adaptée aux composés gazeux ou aux composés facilement vaporisables par la chaleur sans décomposition. La CPG, mise en œuvre expérimentalement par James et Martin en 1952, s'est avérée être l'une des méthodes les plus appropriées pour isoler et identifier les constituants des extraits des PAM et HE, car elle permet l'analyse individuelle des constituants dans les

échantillons volatils au milligramme ou même au niveau du microgramme. Il s'agit d'une technique d'analyse quantitative qui est, d'une part, fournie le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à tous les signaux du mélange analysé, et d'autre part, fournie des informations qualitatives basées sur le temps de rétention [22].

L'échantillon est injecté et vaporisé en haut de la colonne. L'élution est alimentée en par un courant de gaz inerte (azote ou hélium qui transportent les composés volatils à travers la colonne) qui sert de phase mobile. La colonne est placée dans un four où les conditions de températures peuvent être atteintes et sont préprogrammées. La séparation est basée sur la différence des coefficients de division des composants, qui ont une affinité inférieure sont d'abord élués de la colonne, à la sortie de la colonne se trouve un détecteur connecté à un enregistreur, lorsqu'un composant d'échantillon le traverse, un pic apparaîtra sur l'enregistreur [23]. Chaque composant est caractérisé par un indice (indice de Kováts IK) calculé à partir d'une gamme d'alcanes, à température constante ou programmation de température (indice de rétention, IR) (temps de rétention relatif). L'identification comprend la comparaison des indices de rétention avec des standards purs injectés en parallèle ces indices peuvent être mesurés à l'aide d'un détecteur de spectre ou par des données spectroscopiques. Cependant, l'analyse qualitative et quantitative des échantillons étudiés à l'aide de normes et d'indices de rétention limite la validité CPG, pour une meilleure séparation complète peut être obtenue en combinant avec d'autres méthodes telles que la spectrométrie de masse. Ce dernier est capable d'identifier un très grand nombre de composés présents dans les mélanges d'intérêts [22].

I.1.4.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectroscopie de masse est une technique très avancée et en constante amélioration qui permet à la fois la séparation par chromatographie en phase gazeuse et la détection et l'identification des composés par spectrométrie de masse selon leurs proportions masse/charge [24]. Ce couplage affecte plusieurs domaines dans le pétrole (carburant), l'alimentation (agricole), les sciences naturelles et médicolégales (cosmétique, pharmaceutique).

L'instrument CG/SM peut fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à chaque pic chromatographique, permettent d'identifier avec précision la plupart des composants séparés par la CG et ceci par la façon de comparer la masse de spectres obtenus avec des spectres de produits de références comprises dans des bibliothèques commerciales informatisées contenant plusieurs milliers de composés [25].

Cependant, pour acquérir les informations complémentaires, on peut mettre en place deux modes d'ionisation [22, 26], ionisation par impact électronique (E) et ionisation chimique (IC).

I.I.4.3. La chromatographie sur couche mince

La chromatographie en couche mince est une méthode utilisée pour analyser les matières premières afin d'améliorer les systèmes de solvants avec des séparations difficiles. La CCM est un absorbeur destiné à l'analyse et à la séparation des molécules chimiques [27]. La CCM est composée de plaques et de cuves pour l'éluant, elle dépend du choix de la phase stationnaire et la phase mobile (éluant), les phases stationnaires les plus utilisées en CCM sont le gel de silice et l'alumine, les phases mobiles sont soit un solvant ou un mélange de solvant, la chromatographie sur couche mince est considérée comme la plus simple des méthodes et la moins onéreuse [28,29].

La CCM est réalisée sur les plaques de gel de silice de forme rectangulaire (2*5) cm à l'aide d'un crayon on trace un trait horizontal de distance 1cm des deux bords supérieur et inférieur, puis notre échantillon est dilué dans un solvant. On dépose quelques gouttes sur le trait du bord inférieur, ensuite on introduit la plaque dans une cuve (récipient en verre couvre avec un couvercle) remplie d'éluant (de solvant de polarité et proportion différentes), on laisse un moment l'éluant arrive au bord supérieur (Front de la plaque CCM) on la retire de la cuve, on laisse un moment la plaque sécher afin de pouvoir remarquer les taches (migration des molécules) à l'aide d'un révélateur UV. Chaque tâche est caractérisée par un facteur de rétention.

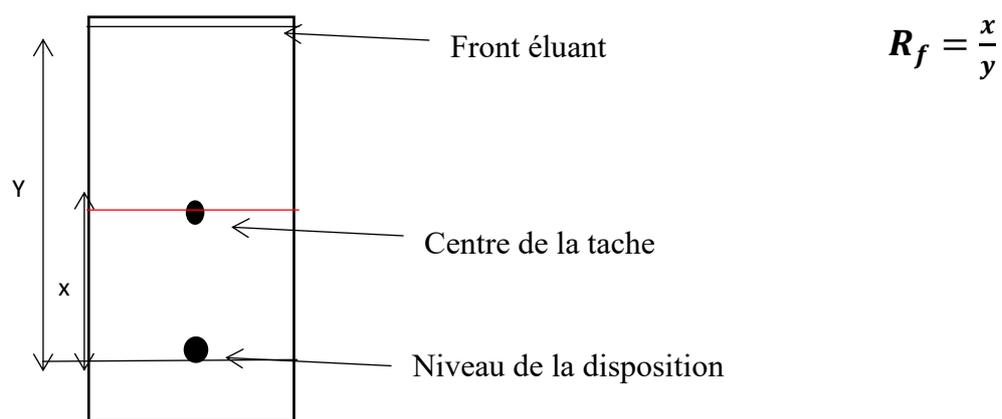


Figure 2. Place CMM

I.I.4.4. La Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne ressemble à la chromatographie sur couche mince. Une colonne est constituée d'une phase stationnaire, un éluant sous pression munie d'une pompe. L'éluant est composé soit d'un solvant unique, soit d'un mélange de solvants. Les molécules se

comportent différemment dans la colonne. Une molécule se déplace devant l'autre, ce phénomène est dû à l'action de l'éluant et aux liaisons qu'il forme avec l'absorbant. L'ajout de plus de solvant accélère l'élution et permis de collecter différentes fractions dans des tubes à essai.

Cette méthode permet la séparation et la purification des composants des échantillons, la chromatographie sur colonne est basée sur l'adsorption, où la phase solide est soit du gel de silice, soit de l'alumine introduite en tête de colonne. Les échantillons sont présentés en haut de la colonne [30]. La séparation des composants est réalisée par gravité ou par flux continu d'éluant à travers la colonne. Sous basse pression, les molécules sont dressées à des vitesses différentes en fonction de leur affinité et de leur solubilité dans l'adsorbant ou l'éluant.

I.I.4.5. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode utilisée pour obtenir des informations sur la structure des molécules organiques dans le but de les décrire et les identifier. Cette procédure est fondée sur le phénomène de magnétisme. Autrement dit, les noyaux de quelques atomes (^1H , ^{13}C ...etc.) se comportent comme des aimants microscopiques par une grandeur quantique dite <spin>, simplement dire qu'ils sont pourvus d'un moment magnétique nucléaire [31].

I.I.5. Activités biologiques des extraits

Depuis l'antiquité les gens connaissaient les plantes pour leur bienfait et leurs pouvoirs antimicrobiens, antifongiques, anti-inflammatoires, antivirales, stimulantes, toniques et même irritantes, mais leurs utilisations ne sont pas développées, elles sont restées comme recettes de grand-mère non basées sur des méthodes scientifiques. Par conséquent, il y a un intérêt à étudier les activités thérapeutiques afin d'expliquer leurs effets et leurs utilisations en médecine traditionnelle ainsi que de les promouvoir commercialement [32].

I.I.5.1. Activité antioxydante

L'oxydation est un phénomène normal de notre corps et quand on dit oxydation on dit oxygène, l'oxydation de nos cellules est un processus naturel. Les radicaux libres sont des dérivés d'oxygène, sont problématiques si et seulement, s'ils sont en excès par rapport aux antioxydants, d'où ce que nous appelons le stress oxydatif qui peut causer des dommages comme le cancer, maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, inflammatoires et le diabète [33].

Les antioxydants, le stress oxydatif, les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène sont des terminologies qui couvrent le monde de la biologie et de la médecine. Cette

information n'est pas nouvelle car elle est connue depuis 1969, date à laquelle ils ont extrait pour la première fois un système enzymatique des globules rouges humains appelés antioxydants. Cette découverte deviendra le point de départ d'importantes études scientifiques sur les antioxydants, qui ont un rôle intéressant dans le traitement des dommages oxydatifs impliqués [34].

Les antioxydants sont déterminés comme substances additionnées à une faible dose au substrat oxydable qui a le pouvoir de retarder et inhiber l'oxydation et de détruire de manière significative ces substances biologiques [35]. De plus, les huiles essentielles comme source de constituants phénoliques naturels influencent la pensée des chercheurs, ils sont utilisés dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques pour réduire ou remplacer les conservateurs synthétiques qui sont la cause des pathologies humaines [36]. Les tests radicalaires ont prouvé que les PAM possèdent des propriétés et des efficacités anti-radicalaires et antioxydants. Comme la plante Sapotaceae (*Argania spinosa* L. Skeels) et Myrtaceae *Myrtus communis* L [32].

I.I.5.2. Activité anti-inflammatoire

Lorsqu'un agent étranger pénètre dans les tissus de l'organisme, tel qu'un germe ou une bactérie, ou entre en contact avec une infection, le système de défense crée une réponse, c'est ce qu'on appelle une inflammation, et l'une de ses manifestations externes ou internes est une rougeur, température corporelle élevée [37,38]. Il y a deux types d'inflammation : aigue et chronique [39]. Néanmoins, il existe plusieurs façons pour traiter l'inflammation par des médicaments qui sont couramment utilisés tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) insatisfaisants et qui implique une contrainte bien qu'ils soient assez forts à cause de leurs effets nocifs et non voulus comme les actions immunosuppressives, la toxicité gastro-intestinale et les accidents cardiovasculaires. [40,41].

En général, les extraits des plantes médicinales aromatiques ont des propriétés analgésiques efficaces que les analgésiques synthétiques. Leur utilisation manifeste plusieurs faveurs dans le traitement de l'inflammation, car ils possèdent moins d'effets indésirables que de nombreux médicaments synthétiques. C'est pourquoi les chercheurs s'intéressent à trouver des alternatives aux médicaments synthétiques de base pour réduire l'inflammation [42].

Etude botanique

I.II. Présentation de la famille des Apiacées



Figure 3. Panais (*P. sativa*).

Il existe environ 3700 espèces d'Apiacées (ou Ombellifères) taxonomiquement distinctes réparties dans le monde en 455 genres différents [43]. En Algérie, il existe 55 genres répartis en 135 espèces, dont 24 endémiques [44]. Cette famille se distingue par ses fleurs Ombellifères en forme d'ombelle. Leurs fruits contiennent une composition chimique unique que nous pouvons goûter et sentir [45]. Cette famille comprend plusieurs plantes dont l'anis, le persil, la carotte, et le panais, objet de notre travail de master [46].

I.III. *Pastinaca sativa*I.III.1. Descriptions botanique et ethnobotanique du *Pastinaca sativa*

En latin le panais c'est « panacem » qui signifie « traitement » ou « médicament ».



Figure 4. Photo originale du *Pastinaca sativa*.

Pastinaca sativa, ou panais, est une herbe qui pousse annuellement ou biennuellement, sa hauteur varie de 50 cm à plus d'un mètre, et il est assez mi-ombragé, comme un légume. Il se distingue par son aspect blanc, en forme de racine ou de gros cerfeuil. Cette plante est un peu abandonnée ou oubliée dans le monde, contrairement aux pays nordiques, à l'Amérique du Nord, à l'Australie, à la Chine, au Japon et à l'Algérie où elle est valorisée comme plante

médicinale se distinguant par sa saveur à la fois acidulée, sucrée et veloutée. Elle est fréquemment utilisée en phytothérapie sous diverses formes [47].

Cette flore peut être classée en trois types : *P. sativa L. subsp. Sylvestris* (panais sauvage), *P. sativa L. subsp. Urens* et *P. sativa L. subsp. sativa* [48].

I.III.2. Classification systématique du Panais

La position systématique de la famille selon la classification est la suivante [49] :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Pastinaca*

Espece : *Pastinaca sativa L*

I.III.3. Utilisation traditionnelle

Le panais est utilisé par les Grecs et les Romains depuis l'antiquité pour traiter les maladies internes telles que la dysurie, l'hydropisie et les ulcères cancéreux ainsi que les maladies externes telles que les morsures de bêtes venimeuses et les blessures de coups. Le domaine de l'aromathérapie utilise actuellement *P. sativa* pour le traitement de la sclérophtalmie catarrhale, du glaucome et de l'entérocolite spasmodique [47]. L'huile essentielle de *P. sativa* est efficace dans certains cas de problème oculaires [48].

I.III.4. Evaluation des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoire d'extrait de Panais (*P. Sativa*)

Aujourd'hui, les plantes médicinales aromatiques sont largement utilisées en raison de leurs effets curatifs sur les récepteurs secondaires qui dépendent de substances importantes, contribuant de manière significative au développement de médicaments. La famille des apiacées comprend plusieurs taxons dont certains intéressent depuis longtemps, D'après des recherches qui ont été faites sur les Apiaceae, cette famille représente une très bonne source d'antioxydants, riches en composés phénoliques (les acides phénoliques et les flavonoïdes). Cependant ces composés phénoliques sont les majeurs contributeurs du pouvoir antioxydant des Apiaceae [49,50].

Parmi les composés phénoliques qui sont énormément présents dans les plantes on cite les flavonoïdes, les flavanones, les flavonols et les isoflavonoïdes les lignanes, les phénols et les acides phénoliques, les cétones phénoliques, les phénylpropanoïdes, les quinonoïdes, les

stilbénoides, les anthocyanes, les anthochlorés, les benzofuranes, les chromones, coumarins, tanins et xanthones [49,50].

Ainsi, la valorisation des huiles essentielles, des extraits et des hydrolats sont devenus des éléments essentiels dans le développement d'une économie rentable. D'après la littérature, le panais (*P. Sativa*) est constitué de falcarinol, falcarindiol, xanthotoxine, furanocoumarines, psoralène, angélique, angélicine, psoralène, bergapten et myrécicine ce qui lui confère certaines activités biologiques antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérien... [51].



Chapitre II :
Etude Chimique

Région	Site de récolte	Cordonne GPS	Altitude(m)	Climat	Période de récolte	Rendement (%)
Tlemcen	Ain Fettah	34°57'56"N 1° 38'19 "O	352	Semi-aride sec et froid	Novembre 2022	0.59

II.I.2. Analyse préliminaire d'extrait de la partie racinaire de *P. sativa*

➤ Fractionnement et isolement du falcarinol du *P. sativa*

L'objectif principal de ce travail a été d'isolé dans un premier temps la fraction falcarinol, et dans un deuxième temps essayer de purifier ce composé dans le but d'évaluer son activité biologique afin de trouver de nouvelles molécules à capacité biologiques. A cet effet, l'extrait a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice.

5000 mg de l'extrait d'acétate d'éthyle ont été soumis à un fractionnement sur colonne ouverte à gel de silice fine avec de l'hexane-acétate d'éthyle comme éluant. Le schéma du fractionnement est donné sur la figure 6. Cinq (5) fractions ont été récupérées et analysées dans le but d'identifier le falcarinol.

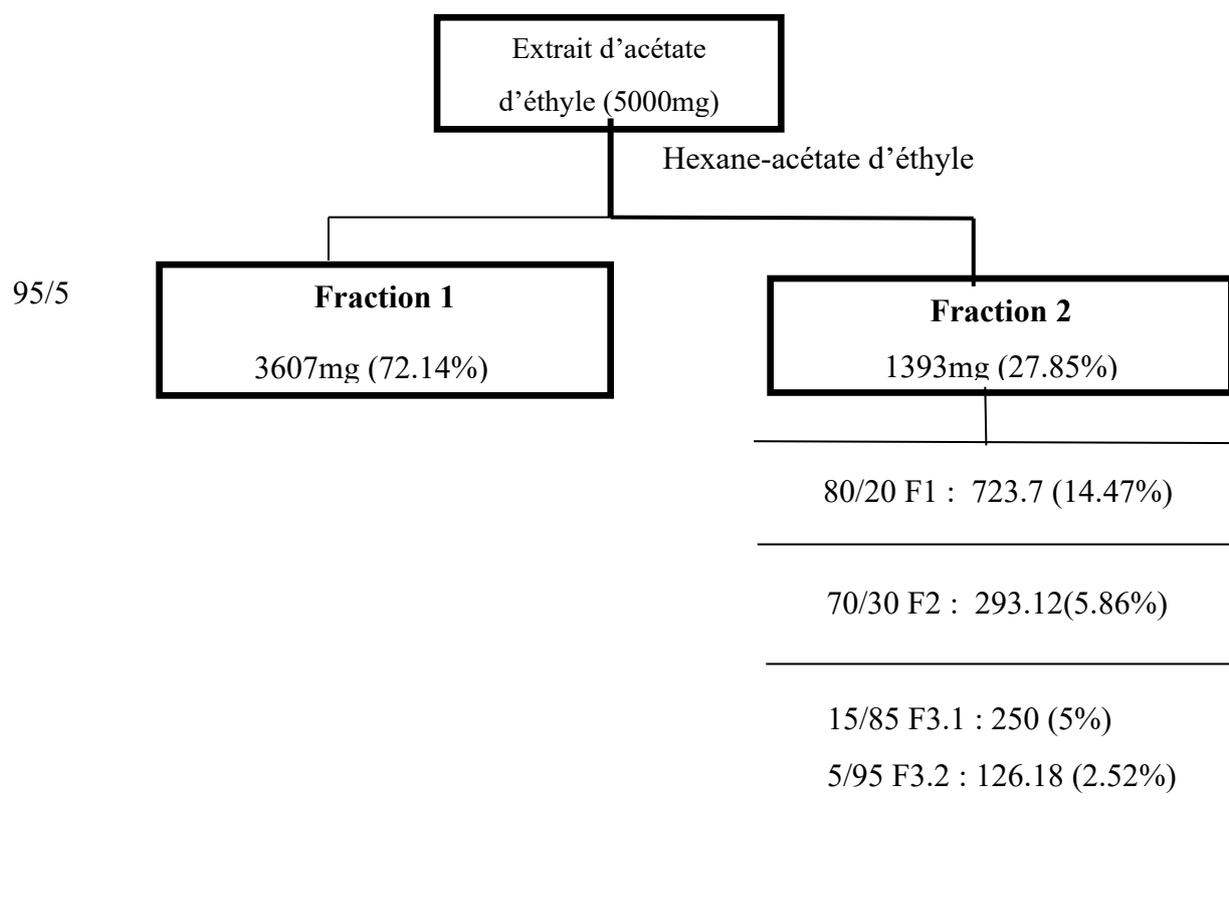


Figure 6. Schéma de fractionnement de l'extrait d'acétate d'éthyle.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la fraction F3.2 qui a été soumise à des analyses RMN¹H, RMN¹³C et infra-rouge.

➤ Spectre IR

Les résultats des analyses infra-rouges de la fraction F3.2 ont montré des bandes caractéristiques à :

U = 3437.66 cm⁻¹ correspond à O-H alcool, U = 2091.36-2188.36 cm⁻¹ désigne C≡H-alcynes, U = 1650 cm⁻¹ qui désigne l'alcène éthylénique en C=C, U = 2854.36-2926.24 cm⁻¹ désigne alcanes, U = 1030.97cm⁻¹ désigne les alcools C-O (Tableau 2, Figure 7).

Tableau 2. Les bandes caractéristiques d'infrarouge.

Nombre d'onde cm ⁻¹	Liaison
3437.66	O-H alcool
3010	=C-H alcène
2926.24	C-H alcane
2854.27	C-H alcane
2188.36	C≡C alcyne
2091.36	C≡C alcyne
1650.96	C=C alcène
1458.03	C-C alcane
1248,97	C-C alcane
1030,97	C-O alcool

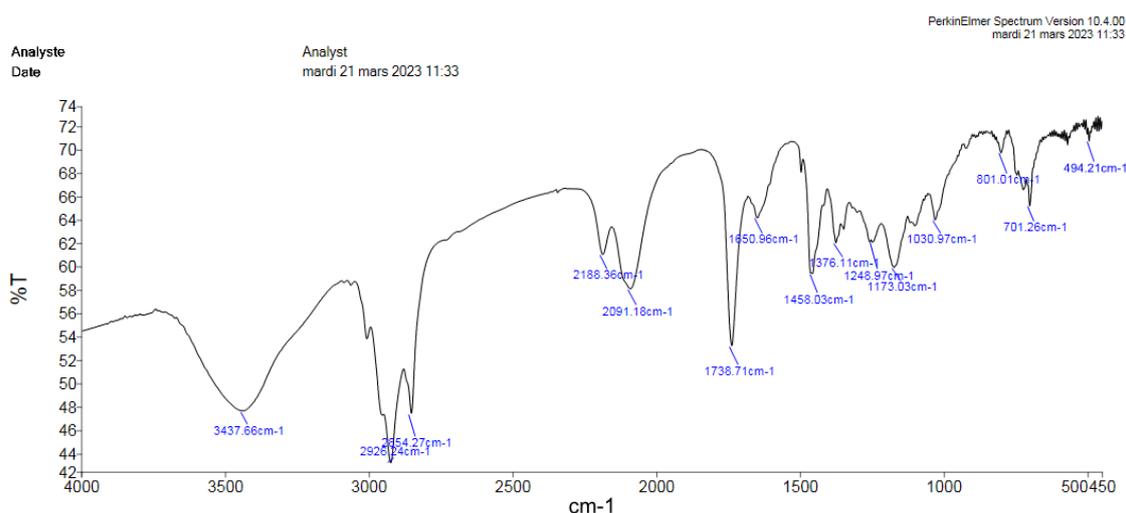


Figure 7. Spectre Infrarouge de fraction du falcarinol.

➤ RMN¹H

Le spectre RMN ¹H de la fraction F3.2 a montré deux motifs d'alcènes substitués et une double liaison terminale (-CH=CH-C-) (CH₂=C-OH-C) correspondante aux signaux à 5.29-5.41 (3H) et à 0.88-0.96 (3H) ppm affichée sous forme de doublet.

Un groupement CH₂ correspondant au signal δH=1.35ppm (5H). Le doublet à δH=2 ppm (H) correspondant au groupe OH du groupement CH₂=C-C (Tableau 3, Figure 8).

Tableau 3. Déplacements chimiques des protons (60 MHz).

Protons	RMN ¹ H δ (ppm)	RMN ¹ H δ (littérature)	Attribution
3	5.09	4.95	Doublet
2,6,7	2.70-3.03	3.03	Doublet
10,11	1.99	1.96	Quadruplet
12,13,20,21	1.36	1.32	Quintuplet
14,15,16,17,18,19	1.20-1.36	1.20-1.32	Octuplet
22,23,24	0.88-0.96	0.88	Triplet
4	2	2.02	Singulet
5	5.61	5.94	doublet
1,2	5.23-5.24	5.24	Doublet
8,9	5.29- 5.41	5.34-5.41	Triplet

δ (littérature) : Déplacement chimique décrit dans la littérature [48].
δ : Déplacement chimique décrit dans le spectre.

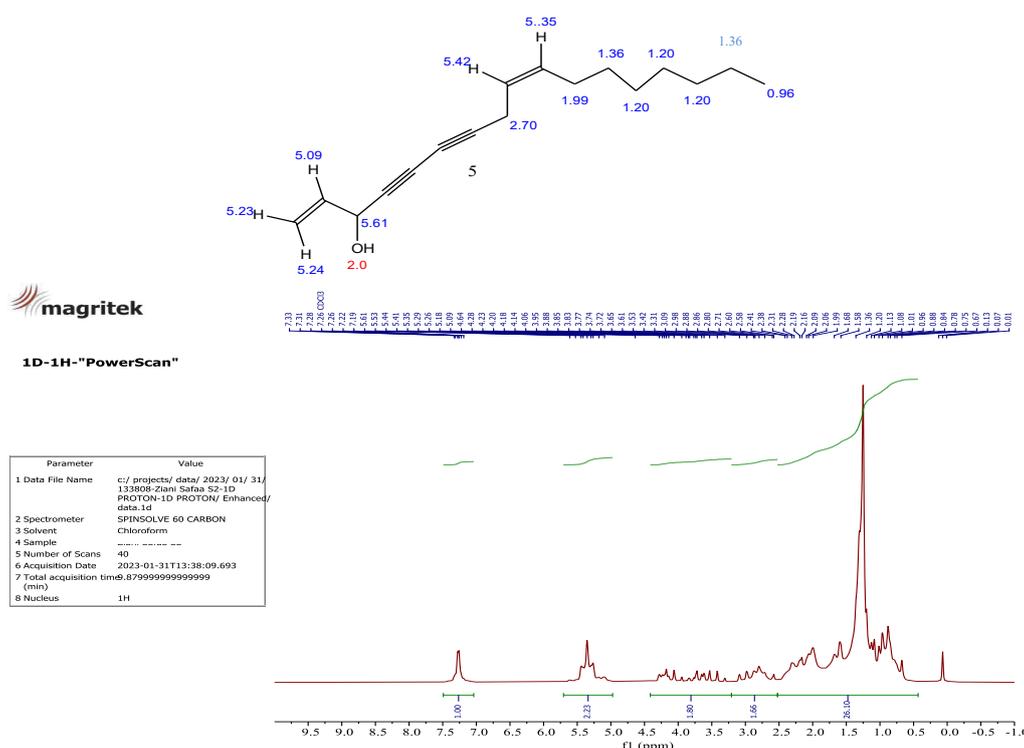


Figure 8. Spectre RMN du proton de falcarinol.

➤ RMN¹³C

Les résultats de RMN¹³C ont confirmé la présence de 17 atomes de carbone, ou deux carbones éthyléniques (Tableau 4, Figure 9).

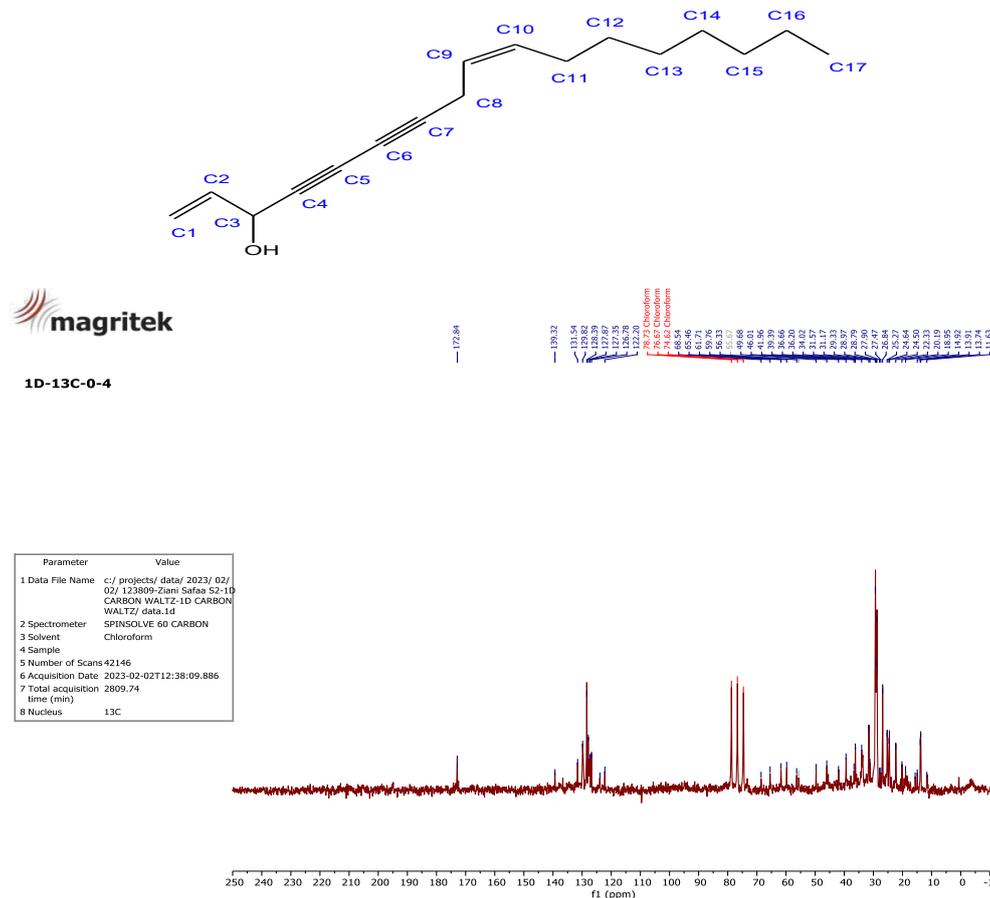


Figure 9. Spectre RMN du carbone 13.

Tableau 4. Déplacements chimiques des carbones 13 (60 MHz).

Carbone	RMN ¹³ C δ (PPM)	RMN ¹³ C δ (littérature)
1	116.4	117.07
2	59.73	63.59
3	74.8	74.21
4,5	68.54	71.32
6	65.46	63.99
7	74.6	80.31
8	122.2	121.85
9	131.54	133.16
10	26.8	27.19
11,12	31.57	31.81
13	29.33	29.17
14	28.97	27.19
15	31.9	38.86

16	22.33	22.64
17	13.91	14.08
δ (littérature) : Déplacement chimique décrit dans la littérature[48]. δ : Déplacement chimique décrit dans le spectre .		

La comparaison des données RMN¹H, RMN¹³C et infrarouge des échantillons avec ceux de la littérature [48] a permis de confirmer clairement le falcarinol dans la fraction F3.2.



Chapitre III :
Etude Biologique

III.I. Evaluation de l'activité antioxydante

Les antioxydants de synthèses sont de nos jours très utilisés dans l'alimentation et les applications pharmaceutiques telles que le BHT et le BHA qui sont connus pour leurs effets néfastes sur la santé humaine à long terme [57,58,59]. L'objectif principal de notre travail est la recherche de nouveaux antioxydants naturels issus des plantes afin de trouver de nouveaux agents susceptibles de remplacer les antioxydants de synthèses. La puissance des molécules antioxydantes est évaluée biologiquement in-vitro en laboratoire par des tests physiologiquement mimétiques utilisant des dosages fluorescents ou colorimétriques [60]. Par conséquent, il est nécessaire d'utiliser différents substrats pour évaluer l'efficacité des antioxydants, et pour obtenir un indicateur précis de la capacité antioxydante, les résultats de différents tests doivent être collectés.

Selon les informations disponibles, aucun travail concernant les activités antioxydantes de l'extrait végétal étudié n'a été rapporté dans la littérature. Par conséquent, cette étude vise à mettre en évidence la capacité antioxydante de l'extrait d'acétate d'éthyle, de la fraction riche en falcarinol et l'association de l'extrait et la référence (BHT) à l'aide de trois méthodes chimiques différentes le DPPH, FRAP et chélation de fer (réduction par formation du complexe Fe^{+2} -Phenanthroline).

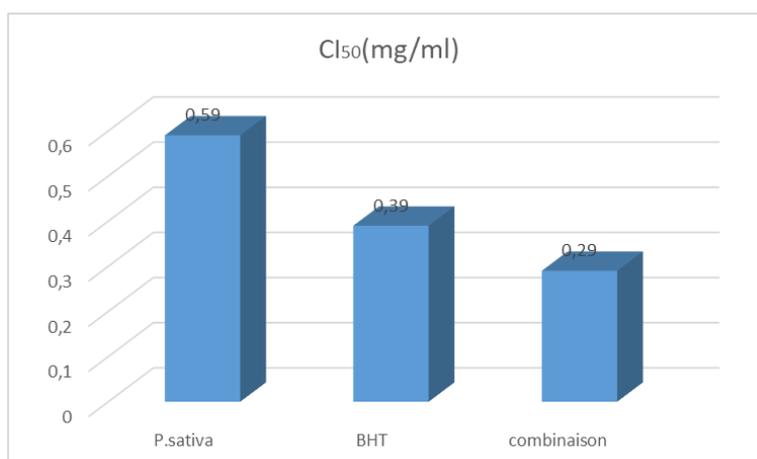
III.I.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le processus de piégeage des radicaux libres DPPH évalue le potentiel antioxydant des échantillons sélectionnés pour les tests. En effet, il repose sur la réduction des radicaux artificiellement de couleur violette qui caractérise le DPPH, qui jaunit en présence d'antioxydants aux propriétés anti-radicalaires. De plus, ce changement de couleur s'accompagne d'une diminution de l'absorbance à 517 nm [61] est exprimé en taux d'inhibition. Les techniques de piégeage des radicaux libres aident à classer les échantillons les uns par rapport aux autres, fournissant ainsi une valeur globale pour la concentration d'inhibiteur qui provoque une inhibition de 50 %. Une valeur de la CI_{50} inférieure reflète un meilleur effet protecteur de l'activité anti-radicalaire. D'après les résultats du Tableau 4, nous avons remarqué qu'une concentration de 2,5 mg/ml, de l'extrait d'acétate d'éthyle de l'espèce *P. sativa* a montré un effet anti-radicalaire avec un pourcentage d'inhibition de 76%, alors que la combinaison de l'extrait avec le BHT a montré un très bon pouvoir antioxydant avec un pourcentage d'inhibition de 93.32% similaire à l'antioxydant de synthèse le BHT (CI_{50} = 93.5 %). D'autre part à 5 mg/ml la fraction riche en falcarinol seul a présenté une activité antioxydante très faible avec pourcentage d'inhibition de 15.43% (Tableau 4).

Tableau 5. Évaluation de l'activité anti-radicalaire des différents échantillons testés par le test DPPH.

Echantillon		Activité Antioxydante				
<i>P. sativa</i>	Concentration(mg/ml)	0,156	0,312	0,625	1,25	2,5
	Inhibition du DPPH [%]	37,91	46,89	55,01	61,47	76,18
Falcarinol Fraction F3.2	Concentration(mg/ml)	0.312	0.625	1.25	2.5	5.0
	Inhibition du DPPH [%]	6.1	7.010	8.25	13.32	15.43
BHT	Concentration(mg/ml)	0.156	0.312	0.625	1.250	2.5
	Inhibition du DPPH [%]	39,19	43,52	65,46	71,82	93,50
Combinaison	Concentration(mg/ml)	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5
	Inhibition du DPPH [%]	41,10	50,37	57,19	82,07	93,32

La figure ci-dessous montre les résultats CI_{50} obtenus à partir de divers échantillons :

**Figure 10.** CI_{50} d'extrait à l'acétate d'éthyle, et la combinaison extrait & BHT déterminées par la méthode DPPH.

Une comparaison de l'activité antioxydante de l'extrait de *P. sativa* avec la fraction de falcarinol et le BHT ont montré qu'un à une concentration de 2,5 mg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle a présenté une bonne activité antioxydante avec une CI_{50} de 0,59 mg/ml mais qui reste inférieure à celle du BHT ($CI_{50} = 0,39$ mg/ml). D'autre part, l'extrait combiné avec le BHT a montré un effet synergique avec une CI_{50} de 0,29 mg/ml meilleur que le BHT seul (Figure 10).

III.I.2. Test de la réduction du fer : FRAP

La réductibilité des échantillons a été évaluée en appliquant une méthode colorimétrique bien connue. Cela dépend de la capacité de l'échantillon à convertir le fer (III) présent dans le composé de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$. Le fer (II) piège les électrons formant une

particule de couleur bleue à 700 nm ce qui fait que la teneur en ions Fe^{2+} peut-être vérifiée et mesurée. Une augmentation de l'absorbance (DO), indique toujours un pouvoir réducteur accru [62].

Tableau 6. Évaluation de l'activité antioxydante des différents échantillons testés par le test FRAP.

Echantillon	Activité Antioxydante							
<i>P. sativa</i>	Concentration(mg/ml)	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312
	Absorbance du FARP	3	3	2.377	1.589	1.409	0.676	0.323
BHT	Concentration(mg/ml)	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312
	Absorbance du FRAP	3	3	1.833	1.360	1.064	0.539	0.426
Combinaison	Concentration(mg/ml)	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312
	Absorbance du FRAP	1.68	1.744	1.821	2.623	3	3	1.010

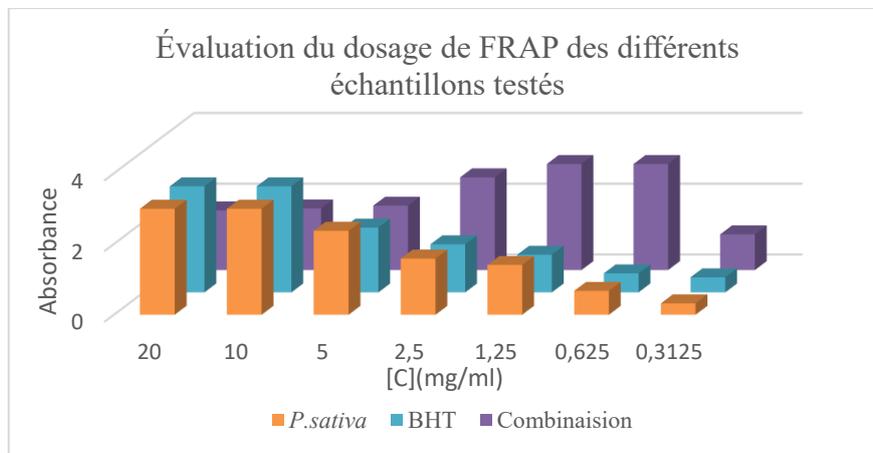


Figure 11. Absorbances en fonction des différentes concentrations des échantillons de *P. sativa*, BHT et la Combinaison.

L'histogramme montre les valeurs de l'absorbance des extraits obtenus selon la méthode FRAP en fonction des différentes concentrations. L'augmentation de la concentration provoque une augmentation du pouvoir antioxydant de l'extrait. En effet, à une concentration de 20 mg/ml, l'activité antioxydante de l'extrait est inférieure à celle de l'antioxydant synthétiques (BHT), alors que la capacité antioxydante de la combinaison de l'extrait avec le BHT s'est montrée très intéressante que l'extrait et le BHT seuls.

Ainsi, à une concentration de 20 mg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait de *P. sativa* a présenté une densité optique de 3 similaires à celui de l'antioxydant synthétique le BHT (DO = 3). D'autre part, la combinaison de l'extrait avec le BHT a montré un très bon pouvoir antioxydant avec une DO de 3 à une concentration plus faible de 1,25 mg/ml meilleur que le BHT (Figure 11).

Le test FRAP nous a permis de montrer que la combinaison a présenté une meilleure activité similaire à la méthode DDPH, alors que l'extrait de panais a montré une activité similaire à celle de l'antioxydant synthétique BHT. Il est à noter que les résultats sont incohérents par les deux méthodes (DPPH et FRAP), cette différence est due aux détails de chaque étape, à la structure des composés et à leurs mécanismes d'action.

III.I.3. Test de réduction par formation du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline

Dans cette technique, il est possible de réduire (Fe^{3+}) en (Fe^{2+}) grâce à l'agent réducteur contenu dans l'extrait végétal. Cette dernière forme un composé stable avec la phénanthroline orange et rouge (Fe^{2+}) phénotrophine. Ceci est détectée par une procédure spectrophotométrie, qui étudie les ions ferreux et permet de déterminer le pouvoir réducteur des antioxydants testés.

Tableau 7. Évaluation de l'activité anti-radicalaire des différents échantillons testés par le test chélation de fer (de réduction par formation du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline.)

Echantillon		activité antioxydant					
<i>P. sativa</i>	Concentration(mg/ml)	20	10	5	2.5	1.25	0.625
	Absorbance de chélation d fer	0.325	0.302	0.244	0.167	0.106	0.068
BHT	Concentration(mg/ml)	20	10	5	2.5	1.25	0.625
	Absorbance de chélation de fer	0.714	0.624	0.567	0.525	0.486	0.291

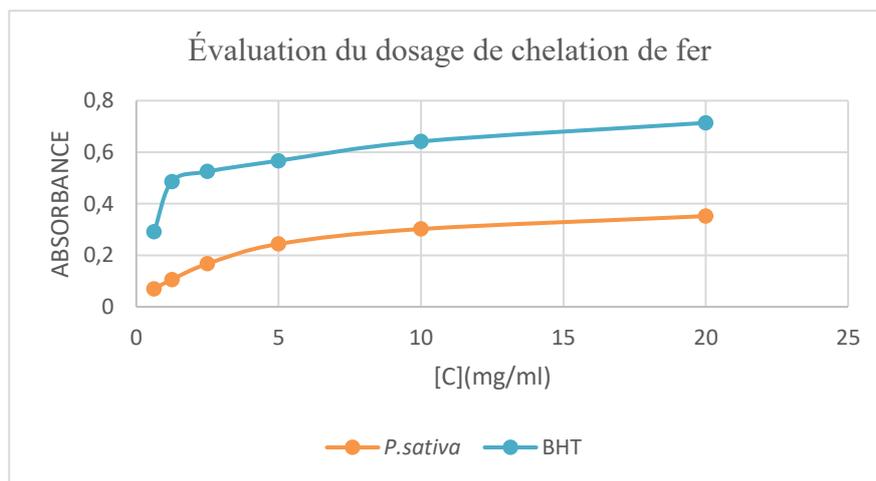


Figure 12. Absorbances en fonction des différentes concentrations de l'extrait de *P. sativa* et le BHT.

D'après les résultats obtenus (Figure 12), on peut déduire que l'extrait possède une activité chélatrice tout en piégeant les ions Fer avant la complexation avec la phénanthroline.

Sa capacité de chélation augmente avec la concentration. Cependant, le BHT a la capacité de chélation la plus élevée. Grâce à ces tests, nous pouvons remarquer que l'extrait d'acétate d'éthyle et l'association extrait *P. sativa* avec la référence le BHT a montré une puissante activité antioxydante avec des valeurs de CI_{50} proches de celles au témoin utilisé BHT, ce qui ouvre des perspectives prometteuses pour leur utilisation dans divers secteurs tels que l'industrie cosmétique, alimentaire et pharmaceutique. D'autre part, la capacité antioxydante de l'extrait de racine du *P. sativa* peut être liée à son profil chimique, en particulier la proportion relativement élevée en composés polyacétyliniques ou les furanocoumarins tels que : Xanthotoxine [50].

III.II. Activité anti-inflammatoire

Pour réduire l'inflammation et la traiter tout en affectant sur de nombreux processus métaboliques et fonctions corporelles, les gens utilisent des anti-inflammatoires traditionnels et synthétiques tels que les corticoïdes, du fait de leur forte activité qui augmente la production de lipocortine, inhibe l'enzyme phospholipase A2, puis libère de l'acide arachidonique. La migration des monocytes, des cellules d'anticorps et des cellules polymorphonucléaires vers le site de l'inflammation n'est réduite qu'avec l'utilisation à long terme de ces processus et d'autres médiateurs tels que la sérotonine et la bradykinine sont produites, entraînant des effets tels que la toxicité vasculaire et la toxicité infectieuse [63]. Les maladies inflammatoires doivent être traitées en recherchant des alternatives à base de plantes et des remèdes.

➤ La dénaturation protéique

Lorsque les protéines perdent leur structure secondaire et tertiaire en raison d'action de facteurs de stress externes ou de composés chimiques chaleur, solvant organique, concentrés des sels inorganiques où leurs organismes fonctionnels produisent des auto-antigènes. La dénaturation comprend des changements hydrophobes, hydrogènes électrostatiques et disulfures pour maintenir la structure tridimensionnelle de la protéine [64].

En fait, l'albumine peut être affectée par des changements conformationnels liés à la dénaturation.

La forme d'une structure tridimensionnelle (conformation associée à la déformation de cette structure tridimensionnelle) qui provoque une agrégation sous l'influence d'un traitement thermique) [65]. Notre objectif est de minimiser et de prévenir la dénaturation des protéines en étudiant de nouvelles substances actives simples aux effets anti-inflammatoires. Le tableau 8 montre l'évolution de la protection contre la dénaturation thermique de l'albumine à différentes

concentrations (31.25 à 500 µg/ml). Ces résultats sont comparés à ceux du diclofénac sodique considéré dans cet essai comme médicament de référence.

Tableau 8. Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'albumine d'extrait, fraction riche de falcarinol et le diclofénac sodique.

Echantillon		Activité anti-inflammatoire				
<i>P. sativa</i>	Concentration(µg/ml)	500	250	125	62.50	31.25
	Inhibiteur %	80.09	62.55	34.59	15.63	9.0
Falcarinol Fraction F3.2	Concentration(µg/ml)	250	125	62.50	31.25	15.62
	Inhibiteur %	98.0	64	48	14	8.0
Diclofénac	Concentration(µg/ml)	200	100	50	25	12.50
	Inhibiteur %	93.85	71.53	60.0	54.61	45.38

Les résultats obtenus ont montré une inhibition dose-dépendante de la dégénérescence de Protéines (albumine) provenant de l'échantillon de *P. sativa* qui a montré un taux de protection de 9 à 80,09 % avec des concentrations comprises entre 31.25 à 500 µg/ml moins performantes que le diclofénac qui a présenté un pourcentage de 93,85 % à des concentrations comprises entre 12.50 à 200 µg/ml. D'autre part, la fraction riche en falcarinol a montré une valeur protectrice relativement plus élevée 8% à 98% à des concentrations comprises entre 15.62 à 200 µg/ml. (Tableau 8).

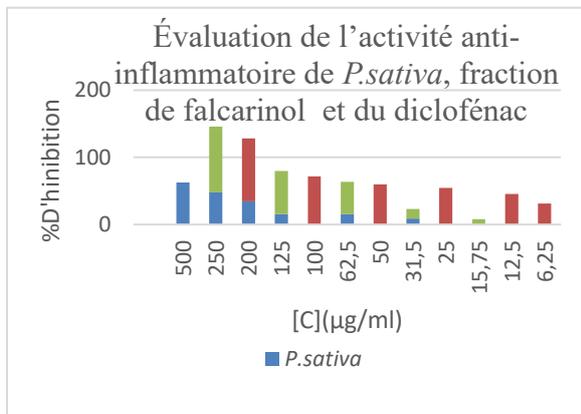


Figure 14. Capacité anti-inflammatoire des échantillons.

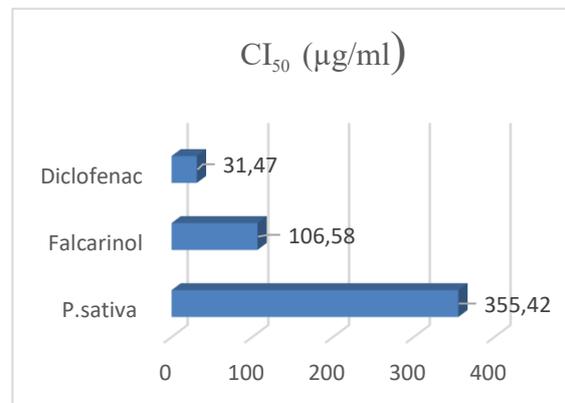


Figure 13. CI₅₀ de l'extrait, falcarinol et le diclofénac.

D'après les figures 13 et 14, nous avons remarqué que la valeur CI₅₀ de la fraction du falcarinol a présenté une bonne activité avec une CI₅₀ de 106.58 µg/ml presque trois (03) fois inférieure au diclofénac (CI₅₀ = 31.472 µg/ml), alors que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *P. sativa* a présenté l'effet le plus faible avec une CI₅₀ de 355.32 µg/ml. L'action inhibitrice de la dénaturation de l'albumine de l'extrait de *P. sativa* peut être mise en évidence par la présence de divers principes actifs comme les lactones sesquiterpéniques les tanins et les flavonoïdes

contenus dans l'espèces disponibles de la famille des Apiécées. Certains flavonoïdes disposent d'une forte activité contre diverses enzymes comme : Phospholipase A2, protéines tyrosine kinases, la protéine kinase C protéine kinase alors que les lactones sesquiterpéniques sont qualifiées d'anti-inflammatoires [66].



Conclusion Générale

Conclusion Générale

Grâce à son vaste territoire et à sa position stratégique, l'Algérie dispose d'une couverture végétale vaste, diversifiée, riche en plantes aromatiques et médicinales en particulier la région de Tlemcen, souvent considérées comme des matières premières pour diverses industries.

Le travail de ce mémoire porte sur l'étude chimique et biologique de l'extrait d'une plante médicinale largement connue en médecine traditionnelle qu'est le *Pastinaca sativa*. L'extrait a été obtenu par macération qui a donné un rendement estimé à 0.59 %.

La partie chimique a également montré que le *P. sativa* a une variété de différents composés. La chromatographie sur colonne nous a permis de séparer une fraction riche en falcarinol qui a été confirmé et identifié par des analyses RMN et infra-rouge.

L'activité antioxydante a été déterminée par trois méthodes, la méthode DPPH, FRAP et chélation de Fer. Le test DPPH a montré que l'extrait de *P. sativa* a un pouvoir antioxydant important qui s'est révélé trois fois plus faible que BHT. D'autre part, la fraction riche en falcarinol n'a pas montré une bonne activité antioxydante. Dans cette recherche, nous avons étudié l'activité antioxydante de l'extrait en combinaison avec le BHT par la méthode DPPH, La combinaison de l'extrait-BHT a mis en évidence des effets antioxydants plus intéressants que ceux montrés par l'extrait et le BHT seul.

Le test FRAP a montré que l'extrait de *Pastinaca sativa* a un pouvoir antioxydant important similaire au pouvoir antioxydant du BHT, il est à noter que les résultats sont incohérents par les deux méthodes (DPPH et FRAP). Cette différence est due aux détails de chaque étape, à la structure des composés et à leurs mécanismes d'action. Le test de chélation de Fer a mis en évidence que l'extrait de *Pastinaca sativa* a une activité antioxydante mais moins importante que celle du BHT.

D'autre part, la fraction riche en falcarinol a montré une très bonne activité anti-inflammatoire mais qui reste inférieure au diclofénac. Cependant, d'autres études in-vivo sont nécessaires pour confirmer ces activités et proposer cette plante dans le domaine pharmaceutique en tant qu'agents antioxydants et anti-inflammatoires.



Partie Expérimentale

Partie Expérimental

I. Provenance du matériel végétal et identification

Les parties racinaires de *P. sativa* ont été collectées dans la région de Ain Fattah dans la wilaya de Tlemcen [352 m, 34° 57' 56"N 1° 38'19" O] durant le mois de novembre 2022. Le professeur Kazi de la faculté de médecine département de pharmacie, a identifié notre végétale *Pastinaca sativa*.

II. Préparation d'échantillon

Les parties racinaires de *P. sativa* ont été coupées, séchées à 25 °C pendant 2 jours, puis broyées en poudre fine avec un broyeur. La poudre de *P. sativa* a été trempée dans de l'acétate d'éthyle pendant 24 heures (macération à froid). Tous les échantillons ont été évaporés à sec avec rota vapeur. Le rendement a été calculé sur une masse de 268 g. Le rendement de l'extrait est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait et matériel végétal utilisé, exprimé en pourcentage.

Le rendement est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{ME}}{\text{MMV}} \times 100$$

Rendement : Rendement en extrait (%)

ME : masse d'extrait (g)

MMV : masse de matière végétale (g)

III. Fractionnement de l'extrait de *P. sativa*

La chromatographie sur colonne est une méthode de séparation et de purification des constituants d'un mélange par migration dans une colonne qui est constituée de deux phases, une phase stationnaire (gel de silice) et une phase mobile (éluant) qui repose sur la différence de polarité entre les composés. Le fractionnement de l'extrait 5000µl (5000mg de l'extrait dilué dans l'acétate d'éthyle) a été réalisé sur une colonne chromatographique frittée, remplie par un mélange de silice-Hexane qui constitue la phase stationnaire. L'élution est réalisée à l'aide d'un gradient Hexane-acétate d'éthyle pour séparer les polyynes (falcarinol).



Figure 16. Pendant l'élution



Figure 15. Révélation

Partie Expérimental

➤ Condition RMN

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire ont été enregistrés sur la fraction F3.2. Le spectre de l'échantillon a été enregistré dans le CDCl_3 à température 300K à l'aide d'un appareil Magritek SPINSOLVE 60 CARBON opérant à 60 MHz pour le proton et 25 MHz pour le carbone 13. Le spectre du carbone-13 a été enregistré avec les paramètres suivants : sonde 4.71 mm ; séquence d'impulsion : une impulsion, angle d'impulsion $4\mu\text{s}$ (angle de retournement 45°) avec découplage du ^1H pendant l'acquisition du signal. Le spectre a été authentifié en utilisant les éléments suivants : largeur di impulsion (PW), $9\mu\text{s}$ (angle de retournement de 90°) temps d'acquisition 9,87 min.

➤ Condition (IR)

Les spectres infrarouges ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre de Fourier (IR-TF) Perkin Elmer Spectrum two (Walton, MA, Etats Unis). L'échantillon a été placé entre deux pastilles de KBR pour former un sandwich. Différents spectres infrarouges ont été obtenus à partir de 10 microlitres et ces échantillons ont été traités par un ordinateur utilisant le programme SpectrumTM10 fourni avec l'instrument.

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

La démonstration de la capacité antioxydante in vitro des principes actifs des extraits de *P. sativa* implique généralement la décoloration ou la coloration d'un réactif particulier en présence d'un médicament antioxydant.

IV.I. Test de piégeage du radicale libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de piégeage des radicaux libres DPPH. Ce test simple et peu coûteux a été l'un des premiers tests de radicaux libres utilisés pour étudier la relation entre la structure antioxydante et l'activité afin d'expliquer sans ubiquité sa capacité antioxydante. Cette méthode a pour principe de mesurer la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel à retenir les radicaux libres DPPH•, qui apparaissent en violet et se réduisent sous forme de diphényle picrylhydrazine DPPH-H jaune, après une interaction avec un atome d'hydrogène ou d'un électron. La réduction radicale est surveillée en mesurant l'absorption à une longueur d'onde de 517 nm, mais après réduction avec un antioxydant le taux d'absorption diminue. Les effets de ce test validé sont comparés à ceux des antioxydants synthétiques [67].

Partie Expérimental

Dans notre étude, ce test a été évalué selon le protocole utilisé par Kuramasa et ses collaborateurs en 2007. Une solution de DPPH est préparée en dissolvant 0,6 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Cette solution a été ensuite enveloppée dans du papier d'aluminium et conservée au réfrigérateur à l'abri de la lumière et de l'air pour éviter toute détérioration. 1 ml de différentes dilutions d'extrait de plante (0,157-20 mg/ml) a été ajouté à 1 ml de solution éthanolique DPPH (0.06 mM) fraîchement préparée (rapport 1/1). Le mélange résultant ensuite a été maintenu à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl et des échantillons à 517 nm a été ensuite mesurée par rapport à un témoin constitué de 1 ml de DPPH et de 1ml d'éthanol. Le BHT (butyl-hydroxytoluène) a été utilisé dans les mêmes conditions de travail comme antioxydant de référence.

Le pourcentage d'inhibition d'activité anti-radicalaire est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire\% (PI\%)} : \left[\frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillons})}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance du contrôle.

Abs échantillons : Absorbance des échantillons

➤ Calcul de la CI_{50}

La concentration inhibitrice de 50 % est définie comme la concentration de l'échantillon d'essai requise pour réduire les radicaux DPPH• de 50 %. Les valeurs de la CI_{50} sont calculées graphiquement par régression linéaire des parcelles de pourcentage d'inhibition (Figure 18), pourcentage d'inhibition par rapport à différentes concentrations des échantillons testés. Le pouvoir élevé et efficace d'échantillons correspond à la plus basse valeur de la CI_{50} .

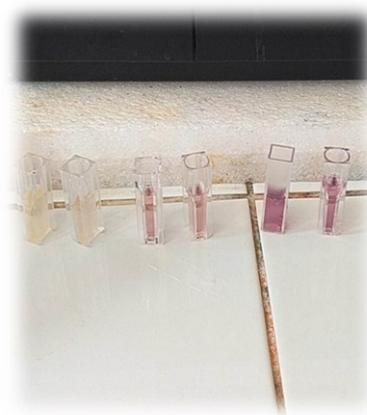
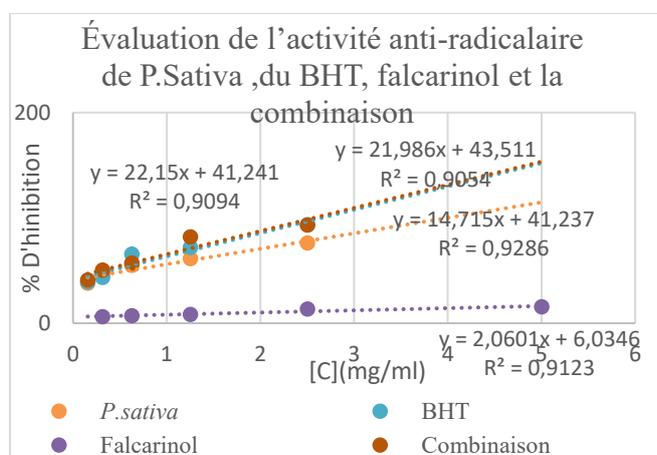


Figure 18. Capacité antioxydante des échantillons étudiés. **Figure 17.** Méthode DPPH.

Partie Expérimental

IV.II. Reduction du Fer : FRAP

L'action réductrice du fer des extraits repose sur la réduction des ions fer jaunes (Fe^{3+}) en ions fer turquoise (Fe^{2+}) présents dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm, est proportionnelle au potentiel de réduction.

La réduction du fer a été déterminée par la méthode de réduction Oyaizu, 1986, basée sur la réduction de Fe dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ [68]. Initialement, des solutions filles des extraits ont été préparées à partir de la solution mère avec une concentration de 1g, sur un intervalle de concentrations comprises entre 0.625-1 g/ml. Ensuite le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%) a été ajouté avec 0.5ml d'une solution tampon phosphate de (0.2 M, pH 6.6) puis les préparations ont été incubées pendant 20 min à une température de 55 °C.

Lorsque l'incubation terminée on a complété les solutions avec 0.5 ml d'acide trichloracétique (10%) pour arrêter la réaction, L'ensemble a ensuite été centrifugé à 3000 tours pendant 10 minutes. Enfin on a ajouté 1ml d'eau distillée et 1 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé (0.1%).

Les lectures d'absorbance ont été effectuées à une longueur d'onde de 700 nm contre un blanc (échantillon de contrôle) préparé de manière similaire en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée pour calibrer le spectrophotomètre (UV-visible) de l'instrument. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif pour des études comparatives. Une augmentation de l'absorbance du milieu réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur (Figure 20).

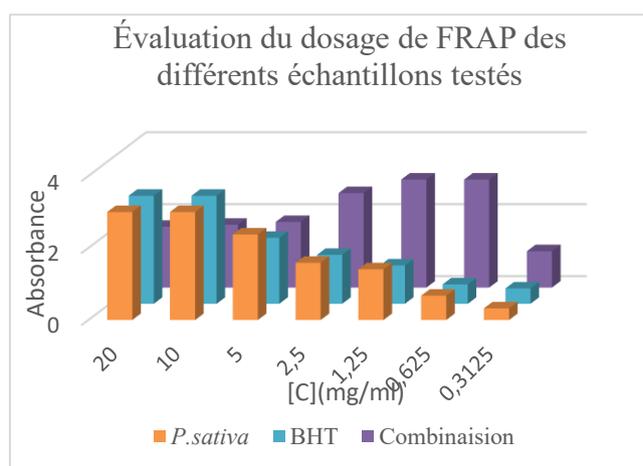


Figure 20. Absorbances en fonction des différentes concentrations des échantillons étudiés.



Figure 19. Méthode de FRAP.

Partie Expérimental

IV.III. Test de réduction par formation du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline

Une méthode pour éliminer l'accepteur consiste à mesurer le pouvoir chélateur d'extrait en incubant l'échantillon avec du fer puis la formation du composé de complexes $\text{Fe}(\text{II})$ -o-phénanthroline. Le phénanthroline est un chélateur ferreux de transition utilisé pour déterminer l'étendue de l'épuisement des ions ferreux antioxydants. La formation de ce composé est entravée par la présence d'un agent chélatant et l'absorbance est mesurée à 510 nm. Une absorption accrue contribue à une capacité d'extraction accrue liée à son pouvoir antioxydant.

Cette méthode repose sur la formation d'un complexe rouge-orange (Fe^{2+}) phénanthroline après une réaction d'oxydo-réduction. Ce complexe se dissout à pH basique et la lecture d'absorbance est prise à 510 nm [69]. Dans un premier temps, deux solutions ont été préparées : une solution à 0,05% de phénanthroline dans de l'éthanol et une solution à 200 μl de chlorure ferrique (FeCl_3) dans de l'eau distillée. Solution mère à 1 mg/ml, a des différentes dilutions dans l'éthanol (0,312-20 mg/ml). 1 ml de chaque dilution a ensuite été introduit et mélangé avec 1 ml de solution de phénanthroline, puis 2 ml de solution de FeCl_3 , le tout est incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Enfin, l'absorbance à 510 nm a été mesurée par rapport à un blanc contenant 1 ml d'éthanol, 1ml de solution de phénanthroline et 2 ml de solution de FeCl_3 .

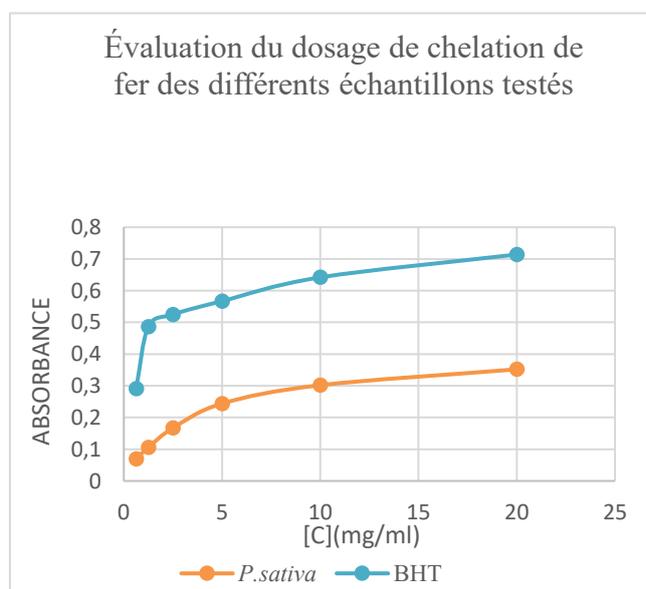


Figure 22. Absorbances en fonction des différentes concentrations des échantillons étudiés.



Figure 21. Méthode chélation de fer (réduction par formation du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline).

Partie Expérimental

V. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'une des principales causes les plus importantes connues de l'inflammation est la dégénérescence des protéines tissulaires, qui conduit à diverses maladies inflammatoires telles que l'arthrite. Enfin, les extraits de plantes agissent pour réduire la dégénération des protéines, qui sont acceptables lors du développement de nouvelles cellules. Médicaments anti-inflammatoires, thérapeutique de l'inflammation [70].

La détermination de la capacité des échantillons récepteurs et des extraits à réduire la dénaturation thermique des protéines dépend de la méthode [71]. L'utilisation d'une pression externe, telle que la chaleur, donne une modification scientifique de la composition secondaire et tertiaire des protéines, réduisant leur solubilité et leur pouvoir biologique. Les substances qui peuvent inhiber la dégénérescence de la protéine peuvent donc avoir des effets anti-inflammatoires. Par conséquent, toute substance pouvant inhiber la dénaturation de la protéine a un potentiel anti-inflammatoire [72].

Le milieu réactionnel (2500 μ L) est constitué de 100 μ l d'albumine d'œuf, de 1400 μ l de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,4) et de 1000 μ l des différents échantillons à des concentrations différentes (31.25 à 500 μ g/ml). Le milieu réactionnel était ensuite incubé à 37 °C pendant 20 minutes. La dénaturation est faite en bain-marie à 75 °C durant 5 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, les absorbances ont été mesurés à 660 nm par le spectrophotomètre UV/visible. Le diclofénac sodique est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires

L'inhibition de la dénaturation des protéines est calculée par la méthode suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{A_t}{A_c} - 1 \right] \times 100$$

A c : l'absorbance sans échantillon d'essai (contrôle négatif).

A t : l'absorbance de l'échantillon d'essai.

Partie Expérimental

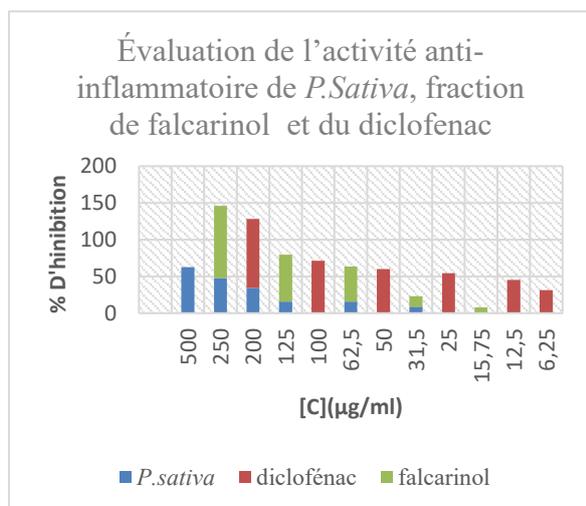


Figure 23. Capacité anti-inflammatoire des trois échantillons étudiés.

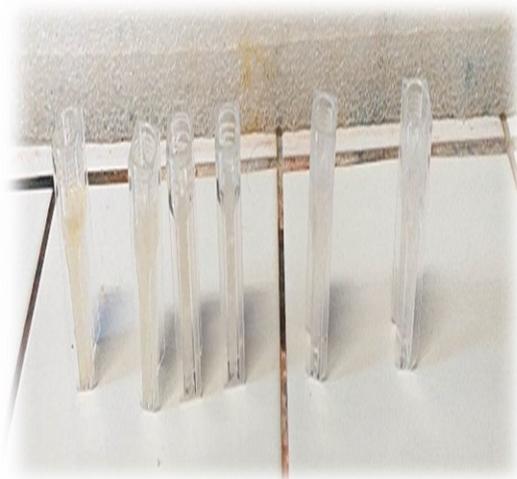


Figure 24. Dénaturation d'albumine d'œuf.

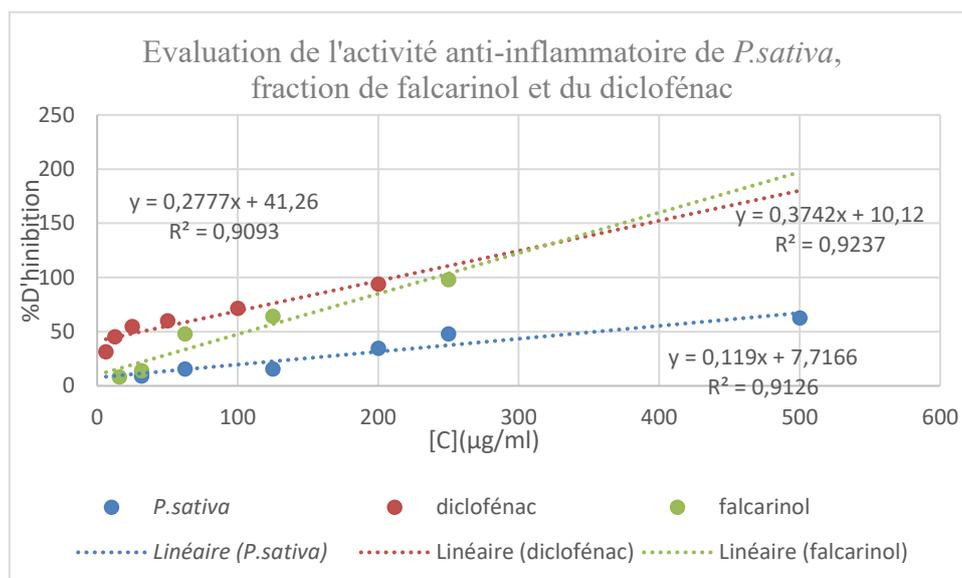


Figure 25. Dénaturation d'albumine d'œuf.



Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1] Cherif. E. « Algérie : la dynamique naissante Mr. Halim Recham Directeur Général de GS1 Algeria Publi-rédactionnel des huiles essentielles ». *Agroline*. **2019**.
- [2] Afnor. Recueil de norme : les huiles essentielles. Tome1 : Echantillonnage et méthode d'analyse ». *Association Française de normalisation*. Paris. **2000**,1.
- [3] Gogoi. R, Loying. R, Sarma. N, Munda. S, Pandey. S.K, Lal. M. «comparative study on atioxidant, anti-inflammatory, genotoxicity, anti-microbial activities and chemical composition of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba Pers* from North-east India ». *Industrial Crops and Products*. **2018**, 125, 131-139.
- [4] Chou. S.T, Lai. C.C, Lai. C.P, Chao. «Chemical composition, antioxidant, anti-melanogenic and anti-inflammatory activities of *Glechoma hederacea* (Lamiaceae) Essential Oil». *Industrial Crop and Products*. **2018**, 122, 675-685.
- [5] Aprotosoai. A.C, Şpac. A, Hăncianu. M, Miron. A, Tănăsescu. V.F, Dorneanu. V, Stănescu. U. «The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare Mill*) ». *Farmacica*. **2010**, 58(1), 46-53.
- [6] Bruneton. J. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales »,3-ème édition. *Editeur Technique et Documentation*. Paris. **1999**.
- [7] Singh. R, Tiwari. P, Sharma. B, Guerrero-Perilla. C, CoyBarrera. E. « Analysis of polyacetylenes ». *Elsevier*. 2020, 707-722.
- [8] Bohlmann. F, Burkhardt. T, Zdero. C. « Naturally Occurring Acetylenes ». *Academic Press, London*. **1973**.
- [9] Christensen. P. L. « Acetylenes and related compounds in Anthemideae ». *Phytochemistry*. **1992**, 31, 7-49.
- [10] Bruneton. J. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.) ». *Lavoisier s.a.s, Cachan, France* . **2009**.
- [11] Zhu. L. « Investigating the biosynthesis of polyacetylenes: synthesis of deuterated linoleic acids & mechanism studies of dmcs addition to 1,4-enynes ». *Miami University Oxford, Ohio: Department of chemistry & biochemistry*. **2003**, 5.
- [12] Konovalov. D.A. « Polyacetylene compounds of Plants of the Asteraceae Family (Review) ». *Journal de chimie pharmaceutique*. **2014**, 48, 613–63.
- [13] Dawid. C, Dunemann. F, Schwab. W, Nothnagel. T, Hofmann. T. « Bioactive C17-Polyacetylenes in Carrots (*Daucus carota L*) Current Knowledge and Future Perspectives ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2015**, 63(42), 9211-9222.
- [14] Jean. B. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ». *Lavoisier*. **2009**, 199.

Références Bibliographiques

- [15] Hansen. L, Boll. P. M. «Polyacetylenes in araliaceae: Their chemistry, biosynthesis and biological significance ». *Phytochemistry* 25. **1986**, 285-293.
- [16] DE Wit. PJGM., Kodde. E. « Induction of polyacetylenic phytoalexins in *Lycopersicon esculentum* after inoculation with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) ». *Physiological Plant Pathology*. **1981**, 18(2), 143-148.
- [17] Setsuko. I, Yoshimoto. O. « Elicitation of Diacetylenic Compounds in Suspension Cultured Cells of Eggplant ». *Plant Physiology*. **1988**, 86(1), 176-181.
- [18] Potel. A M. « Les plantes médicinales au Sénégal (commune de Nguékokh, zone de la Petite Côte) Extraits du rapport du stage ». *Sciences naturelles* .**2002**, 22.
- [19] Naves. R. « Technologie et chimie des parfums naturels, essences concrètes, résinoïdes huiles et pommade aux fleurs ». *Masson*. Paris. **1974**, vol 1.
- [20] Roux. D. « conseille en aromathérapie » ,2-ème édition. *Rueil Malmas*. France. **2008**.
- [21] Samadi. N, Masoum. S, Mehrara. B, Hosseini. H. «Application of linear multivariate calibration techniques to identify the peaks responsible for the antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. and *Oliveria decumbens* Vent. Essential oils by gas chromatography–mass spectrometry». *Journal of Chromatography*. **2015**, 1001(15), 75-81.
- [22] Skoog. H, *NIEMAN*. « Principes d’analyse instrumentale ». *De Boeck*. Bruxelles. **2003**.
- [23] Soulimani. R, Younoss. C, Flerentin. I, Mortier. F, Misslin. R. « Recherche de l'activité biologique de *melissa officinalis* L sur le système nerveux de la souris in vivo et le duodénum de rats in vitro ». *Plantes Médicinales et phytothérapie*. **1993**, 122(2), 77-85.
- [24] Stefanini. M.B, Ming. L.C, Marques. M.O.M, Meireles. M.A.M, Moura. L.S. « Marchese. J.A. Seed productivity, yield and composition of the essential oil of *fennel* *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year ». *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. **2006**, 8, 86-90.
- [25] Thompson. J.D, Chalchat. J.C, Michet. A, Linhart. Y.B, Ehlers. B. « Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes ». *Journal of chemical ecology*. **2003**, 29(4), 859-880.
- [26] Yrjonen. M. « Extraction and planar chromatography separation Technique in the analysis of natural products ». *Faculty of pharmacy of the university of Helsinki*. **2004**, p 64.
- [27] Tranchant. J, Buzon. J, Guichard. N, Lebbe. J, Prévot. A, Serpinet. J. « Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse ». **1968**.
- [28] Wichtl. M, Anton. R. « Plantes thérapeutiques tradition, pratique Officinale, science et thérapeutique ». *2^e Édition LAVOISIR*. Paris. **2009**, 38-41.

Références Bibliographiques

- [29] Kherkhache. H, Composition chimique et l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait Butanolique de *Saccocalyx Satureioides* ». *Mémoire de magister, universite Ziane Achour (Djelfa)*. **2010**.
- [30] Latifou. I. « Etude phytochimique et activité biologique de substance naturelle isoler de plantes béninoises ». *Thèse de doctorat, faculté de phamacie de Stasbourg*. **2005**.
- [31] Saeedi. K.A, Omidbaigi. R. «Evaluation of content and composition of fatty acids, total phenolic and essential oil content of *Kelussia odoratissima Mozaff* ». *Seed Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. **2009**, 125(1), 113-119.
- [32] El Meskaoui. A, Bousta. D, Dahchour. A, Greche. H, Harki. E, Farah. A, Ennabili. A. « Plante medecinales et aromatiques Marocaine : Opportunietes et défis ». *Revue AFN Maroc*. **2008**.
- [33] Pincemail. J, Meurisse. M, Limet. R, Defraigne. J.O. « Fumée de cigarette : une source Potentielle de production d'espèces oxygénées activées ». *Medi Sph*. **1998**.
- [34] Ali. R.F. «Antioxidative effects of pomposia extract, on lipid oxidation and quality of ground beef during refrigerated storage American ». *Journal of Food Technology*. **2011**, 6(1), 52-62.
- [35] Valko. M, Leibfritz. D, Moncol. J, Cronin. M.T, Mazur. M, Telser. J. « Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease ». *International journal of biochemistry & cell biology*. **2007**, 39(1), 44-84.
- [36] Tomaino. A, Cimino. F, Zimbalatti. V, Venuti. V, Sulfaro. V, Pasquale. A.D, Saija. A. «Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils». *Food chemistry*. **2005**, 89(4), 549-554.
- [37] Du. B, Zhu. F, Xu. B. «An insight into the anti-inflammatory properties of edible and medicinal mushrooms J ». *Funct. Foods*. **2018**, 47(2), 334-342.
- [38] Lin. W.W, Karin. M. «A cytokine-mediated link between innate immunity, Inflammation, and cancer. *Journal Clinical Investigation*. **2007**,117(5), 1175-1183.
- [39] Rosato. A, Vitali. C, Gallo. D, Balenzano. L, Mallamaci. R. «The inhibition of *Candida* species by selected essential oils and their synergism with amphotericin B». *Phytomedicine*. **2008**, 15(8), 635-638.
- [40] Chouhan. S, Sharma. K, Guleria. S. « Antimicrobial activity of some essential oil present status and future perspectives». *Medicines*. **2017**, 4(3), 58.
- [41] Mayer. F. « Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite ». *Thèse de doctorat, Université de Lorraine*. **2012**.

Références Bibliographiques

- [42] Ouédraogo. N, Lompo. M, Sawadogo. RW, Tibiri. A, Hay. A-E, Koudou. J, Dijoux. M. M, Guissou. I. P. « Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae) ». *Pharmacognosie*. **2012**.
- [43] Quezel. P, Santa. S. « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales ». *Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique*. **1963**, 12.
- [44] Flamini. G, Smaili. T, zellaguie. A, Ghefra. F.N. « Effect of growth stage on essential-oil yield and composition of *Dacus sahariensis* chemistry of biodiversity ». **2013**, 10, 2014-2020.
- [45] Spichiger. R.E, Vincent. S, Figeat. M, Jeanmonod. D. « Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicale ». 3-ème édition. **2000**, 1.
- [46] KRIEGER. C. « Identification moléculaire et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle sous-famille de cytochromes P450, CYP71AZ, impliquée dans la synthèse de furanocoumarines et de coumarines chez *Pastinaca sativa* ». *Thèse de doctorat, faculte de biologie de Lorraine*. **2014**.
- [47] Franchomme. P, Jollois. R, Péroël. D. « L'aromathérapie exactement ». *Editions Roger Jollois*. **2001**.
- [48] Thiviya. P, Gamage. A, Piumali. D, Merah. O, Madhujith. T. « Apiaceae as an Important Source of Antioxidants and Their Applications ». *Cosmetics*. **2021**, 8(4). 111.
- [49] Sayed-Ahmad. B, Talou. T, Saad. Z, Hijazi. A, Merah. O. « The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses ». *Industrial Crops and Products*. **2017**, 109, 661-671.
- [50] Kenari. M.H, kordafshari. G, Moghnimi. M, Eghbalian. F, Taherkhani. D. « Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Pastinaca sativa* ». *Journal of Pharmacopuncture*. **2021**, 24(1), 14-23.
- [51] Amarti. F, El Ajjouri. M, Ghanmi. M, Satrani. B, Aafi. A, Farah. A, Khia. A, Guedira. A, Rahouti. M, Chaouch. A. « Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc ». *Phytothérapie*. **2011**, 9(3), 149-157.
- [52] Koumaglo. K. H, Dotse. K, Bettini. F, Bayle. J. C. « Composition chimique de l'huile essentielle de *Chromolaena odorata* (L) King et Robinson (Asteraceae) du Togo : Effets de séchage et du site de récolte ». *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. **2009**, 28, 11-16.

Références Bibliographiques

- [53] Jose. S, Thomas. T.D. « Comparative phytochemical and anti-bacterial studies of two indigenous medicinal plants *Curcuma caesia* Roxb. and *Curcuma aeruginosa* Roxb ». *International Journal*. **2014**, 65-69.
- [54] Bessah. R, Benyoussef.E.H. « La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques ». *Renew. Energ.* **2015**, 8(3), 513-528.
- [55] Smaili.T, Rebbas. K, Flamini. G, Belkassam. A. « Chemical composition of the essential oil of *Brachyapium dichotomum* (L.) Maire ». *Scholars Research Library*. **2016**, 8(10), 32-36.
- [56] Corella. M, Sheehyb. E, Evansb. P, Bruntonc. N, Valverde. J. « Absolute Configuration of Falcarinol (9Z-heptadeca-1,9-diene-4,6-diyn-3-ol) from *Pastinaca sativa* ». *Natural Product Communications*. **2013**, 8(8), 1123-1126.
- [57] Branen. A. « Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene ». *Journal de l'American Oil Chemists' Society*. **1975**, 52(2), 59-63.
- [58] Lindenschmidt. R, Tryka. A, Goad.M, Witschi. H. « The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice ». *Toxicology*. **1986**, 38(2), 151-160.
- [59] Alam. M.N, Bristi. N.J, « Rafiquzzaman. M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity». *Saudi pharmaceutical journal*. **2013**, 21(2), 143-152.
- [60] Ruberto. G, Baratta. M. T. « Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems ». *Food chemistry*. **2000**, 69(2), 167-174.
- [61] Parvin. M, Das. N, Jahan. N, Akhter. M, Nahar. L, Islam. M. « Evaluation of in vitro anti-inflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* leaves and stem bark ». *BMC Research Notes*. **2015**, 8(1), 1- 7.
- [62] Benzie.I.F, Strain. J. J. « The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay ». *Analytical biochemistry*. **1996**, 239(1), 70- 76.
- [63] Gogoi. R, Loying. R, Sarma. N, Munda. S, Pandey. S. K, Lal. M. « A comparative study on antioxidant, anti-inflammatory, genotoxicity, anti-microbial activities and chemical composition of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba* Pers from North-east India ». *Industrial Crops and Products*. **2018**, 125, 131-139.
- [64] Sivaraj. C, Arumugam. P, Gayathri. K, « Anti-inflammatory, antimicrobial and Cytotoxic activities of essential oil extracted from *Salvia Officinalis* L.». *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2017**, 257- 263.

Références Bibliographiques

- [65] Rondeau. P. « Stress oxydant et glycation : relation structure et activités biologiques de l'albumine in vitro et in vivo dans le cadre de la pathologie diabétique ». *Thèse de doctorat, Université de la Réunion*. **2009**.
- [66] Talhouk. R. S, El-Jouni. W, Baalbaki. R, Gali-Muhtasib. H, Kogan. J, Talhouk. S. N. « Anti-inflammatory bio-activities in water extract of *Centaurea ainetensis* », *Journal of medicinal plants research*. **2007**, 2(2), 024-033.
- [67] Sánchez-Moreno. C, Larrauri. J. A, Saura-Calixto. F. « A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols ». *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **1998**, 76(2), 270-276.
- [68] Oyaizu. M. « Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine products derived from bees ». *Journal d'analyse pharmaceutique et biomédicale*. **1986**, 41, 1220-1234.
- [69] Pellegrini. N, Serafini. M, Colombi. B, Del Rio. D, Salvatore. S, Bianchi. M, Brighenti. F. « Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays ». *Journal of Nutrition*. **2003**, 133(9), 2812-2819.
- [70] Rahman. H, Eswaraiah. M. C, Dutta. A. M. « In-vitro anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *Oryza Sativa Var. joha* rice (an aromatic indigenous rice of Assam) ». *Am Eurasian J Agric Environ Sci*. **2015**, 15(1), 115-121.
- [71] Chandra. S, Chatterjee. P, Dey. P, Bhattacharya. S. « Evaluation of anti-inflammatory effect of ashwagandha: a preliminary study in vitro ». *Pharmacognosy Journal*. **2012**, 4(29), 47-49.
- [72] Osman. N. I, Sidik. N. J, Awal. A, Adam. N. A. M, Rezali. N. I. « In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis ». *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. **2016**, 5(4), 343-349.