



République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen

Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre et de l'Univers

Département de Biologie et Environnement

Laboratoire des produits naturels

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : «**Sciences des aliments**»

Thème

Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant par le DPPH de quelques métabolites secondaires (Tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) de la racine de *Carlina acaulis* de la région de Tlemcen

Présenté par :

M^{elle} BENMENNI Dounia

Devant le jury, composé de :

Président :	Mr BENAMMAR C	Maitre de conférences B
Encadreur :	Mr BEGHADAD C	Maitre de conférences A
Examinatrice :	Mme SOUALEM Z	Maitre de conférences B

Année universitaire 2016-2017

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Je remercie chaleureusement Mr BEGHDAJ Ch Maître de conférences à l'université Abou Beckr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté de m'encadrer sur un sujet aussi passionnant. Je garde en mémoire sa patience, sa confiance et ses conseils bienveillants. Soyez rassuré de ma profonde gratitude et ma respectueuse considération, vos qualités scientifiques et humaines resteront à jamais pour moi l'exemple.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements pour Mr BENAMAR Ch Maître de conférences à l'université Abou Beckr Belkaid de Tlemcen, département de Biologie. Merci de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect le plus profond.

Je remercie également Mme SOUALEMZ Maîtres de conférences à l'université de Tlemcen, département de Biologie, de l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de faire partie du jury. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme MOTASSE Fatéma et Melle BENMENNI Hanane qui étaient de vraies collaboratrices, merci pour leur disponibilité, leur dévouement, leur bonne humeur et leur conseil de tous les jours.

Enfin, je présente mes remerciements, mon respect à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.

Dédicace

*Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements et mes profondes reconnaissances **Aux êtres les plus chers** :*

*Merci et mille fois merci, mes **très chers parents** pour l'amour inconditionnel qui m'accompagnent depuis toujours, pour le soutien dans mes choix, les tendres encouragements et les grands sacrifices que vous m'avez apporté durant ces années de formation. Je prie le bon Dieu de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*Je dédie ce modeste travail également
A mon cher frère **Nassim**, mes adorables sœurs **Selma** et **Hanane** ainsi que **Yassine** et **Mehdi**
« mon **pipou** que j'adore ». A tous mes cousins et cousines. A mes copines **Zineb**, **Nesrine** et
Mimi. Merci pour votre présence, que Dieu vous garde pour moi.*

*A tous mes **amis** et **camarades de promotion** pour ces années passées ensemble, dans les meilleurs moments comme dans les pires. Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.*

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERAL.....	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	
CHAPITRE I : PRESENTATION DE <i>CARLINA ACAULIS</i>.....	
1. Noms vernaculaire.....	4
2. Position systématique	4
3. Caractéristique principales	5
4. Description botanique	5
5. Habitat et répartition géographique	6
6. Composition chimique	6
7. Propriétés pharmacologique	7
8. Travaux antérieurs	8
CHAPITRE II : STRESS OXYDATIF ET ANTIOXYDANT.....	
1. Introduction	10
2. Stress oxydatif	10
2.1 Causes du stress oxydatif	11
2.2 Conséquences du stress oxydatif	11
3. Radicaux libres	12
3.1. Actions biologiques des radicaux libres.....	12
4. Antioxydants	13
4.1 Définition	13
4.2 Classification des antioxydants selon leur nature	14
4.2.1 Antioxydants synthétiques	14
4.2.2 Antioxydants naturels	14

4.3 Propriété des antioxydants	15
4.4 Avantages et inconvénients des antioxydants	15
5. Détermination <i>in vitro</i> du pouvoir antioxydant	16
a) Méthode de piégeage des radicaux libres oxygénés	16
b) Méthode de piégeage des radicaux stables et évaluation de leur capacité de réduction	17
c) Méthode de décoloration du bêta-carotène (-carotène bleaching method).....	18
6. Balance oxydant / antioxydant.....	19
II. MATERIELS ET METHODES.....	
1. Préparation du matériel	21
2. Méthodes d'analyses.....	23
2.1 Détermination de la teneur en eau	23
3. Tests phytochimique	24
4. Extractions	29
4.1 Extrait brute acétone/eau	29
4.2 Extrait brute méthanol/eau	30
5. Extractions sélectives	30
5.1 Extraction sélectives des tanins	30
5.2 Extraction sélectives des flavonoïdes	31
5.3 Extrait sélectives des alcaloïdes	31
6. Evaluation de pouvoir antioxydant des métabolites secondaires	32
6.1 Mesure de l'activité antioxydante par la technique de piégeage de radical libre DPPH...	32

III. RESULTATS ET DISCUSSION.....	
1. Teneur en eau	35
2. Tests phytochimiques	35
3. Extractions brutes	37
4. Extractions sélectives	38
4.1. Extraction sélectives des tanins	39
4.2. Extraction sélectives des flavonoïdes	39
4.3. Extraction sélectives des alcaloïdes	39
5. Etude du pouvoir antioxydant	40
IV. CONCLUSION GENERAL.....	46
V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	49
VI. ANNEXES.....	61

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Photographie de <i>Carlina acaulis</i>	4
Figure 2	Photographie de <i>Carlina acaulis</i> sur terrain	6
Figure 3	Schéma de <i>Carlina acaulis</i>	6
Figure 4	Oxyde de carline	7
Figure 5	Carte géographique représentant la région de récolte	21
Figure 6	Illustration de <i>Carlina acaulis</i> sur terrain	22
Figure 7	Photographie de la racine de <i>Carlina acaulis</i> après séchage	22
Figure 8	Photographie de la poudre de la racine <i>Carlina acaulis</i>	22
Figure 9	Diagramme des tests phytochimiques de la racine de <i>Carlina acaulis</i>	25
Figure 10	Taux de matière sèche et de la teneur en eau des racines de <i>Carlina acaulis</i>	35
Figure 11	Comparaison entre l'extraction des polyphénols du solvant acétone/eau et du solvant méthanol/eau des racines de <i>C. acaulis</i>	37
Figure 12	Rendement massique des alcaloïdes, flavonoïdes et tanins des racines de <i>C. acaulis</i>	39
Figure 13	IC50 de cinq extraits brut acétone/eau, méthanol/eau, alcaloïdes, flavonoïdes et tanins de racine de <i>Carlina acaulis</i> et l'acide ascorbique.....	42

INTRODUCTION GENERALE

Depuis longtemps les plantes ont été l'objet de nombreuses curiosités, du fait de leurs propriétés. La nature nous a créés, pourquoi ne pourrait-elle pas nous soigner ? Ceci a déjà été démontré maintes fois par le passé, mais de nos jours il est question de culture biologique, alimentation biologique, alors pourquoi ne pas regarder en dessous de nos pieds, si les plantes que nous écrasons de nos pas ne peuvent pas nous aider à y contribuer. La solution est peut-être là, à côté de chez vous dans un champ ou dans un bosquet (**SCHAAL, 2010**).

Aujourd'hui La recherche et la science nous fournissent le pouvoir d'explorer les plantes, de comprendre le fondement de leur histoire, de leurs vertus, de leur puissance. On découvre ainsi que c'est à l'échelle moléculaire qu'il faut s'attarder, pour découvrir la ou les substances possédant des propriétés extraordinaires.

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physique (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker et al., 1982**).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (**Tadhani, 2007**). En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une grande importance notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention de nombreuses pathologies notamment, le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Vârban et al, 2009**); ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Suhaj, 2006**). Des études scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les horticoles, les cultures agricoles et les plantes médicinales (**Marc et al, 2004**).

Dans ce contexte, notre choix est basé sur une plante médicinale qui est *Carlina acaulis* récoltée de Terni sud de la wilaya Tlemcen, dans un but de la valoriser, en quantifiant les teneurs en composés phénoliques et alcaloïdes et en évaluant le pouvoir antioxydant.

La démarche adoptée pour aboutir à notre but est la suivante :

La première partie concernant l'étude bibliographique:

- Généralités sur *Carlina acaulis* en appuyant sur la classification, la répartition, la composition chimique dans le premier chapitre;
- Un aperçu général sur le stress oxydatif et antioxydants en deuxième chapitre.

La deuxième partie reporte la description du protocole expérimental:

- Détermination de la teneur en eau
- Les tests phytochimiques
- L'extraction brute (acétone/eau), et l'extraction sélective des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins des racines de *C. acaulis*.
- Évaluation des propriétés antioxydantes des extraits, par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

La troisième partie consiste à interpréter et discuter les résultats obtenus et enfin une conclusion générale sur notre étude.

CHAPITRE I

PRESENTATION DE *Carlina acaulis*

1. Noms vernaculaires

Du latin Carolus, Charles, Charlemagne aurait employé les racines de cette plante pour guérir ses soldats de la peste. Pour d'autres il s'agirait de Charles-Quin. Pour d'autres, enfin, *Carlina* proviendrait d'une déformation de *Cardina* (et finalement de *Carduus*) et signifierait « petit Chardon » ; *acaulis* de *a* privatif et *caulos* (grec) tige. On la nomme aussi Carline des Alpes, Baromètre, Caméléon blanc, Chardonnerette, Charcouise, Loque (**Garnier et al, 1961**). Les appellations de *C. acaulis* dans plusieurs langues sont :

- Baromètre, Carline acaule, Carline à tige courte, Chardon argenté (français) ;
- Carline Thistle. silver thistel (anglais) ;
- Silberdistel. Stengelloseeberxurz (allemand) ;
- Tafgha (nom vernaculaire arabe)
- Cardo de puerto. Cardo de san pelegrin (espagnol)
- Carlinabianca. Carlopinto (italien)
- *Carlina acaulis* (Latin) (**Benoît, 2009**).

2. Position systématique

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Eucotyls
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Carlina</i>
Genre Espèce	<i>Carlina acaulis</i>



Figure 1 : Photographie de *Carlina acaulis*

3. Caractéristiques principales

Carlina acaulis est une plante sauvage, son surnom de baromètre du berger vient du fait que c'est une véritable plante baromètre. Autrefois les paysans, et surtout les bergers, les gardiens de troupeaux, accrochaient des tiges de *Carlina acaulis* au-dessus de leur porte. Tant que l'air est sec, les fleurs, mêmes sèches restent bien ouvertes. Lorsque l'air commence à s'humidifier, les fleurs se referment bien avant que la pluie commence. Comme son qualificatif latin d'acaulis le précise, *Carlina acaulis* est acaule c'est-à-dire qu'il ne possède pas de tige (figure 1). Mais, en fait il possède une très courte tige. Les fleurs sont mellifères et attirent les insectes pollinisateurs et les abeilles. Les fleurs séchées ont une longue durée de vie et permettent de réaliser des bouquets très naturels et champêtres. On consomme les fleurs qui ne sont pas encore ouvertes à la manière des artichauts. Les marmottes et les ânes sont également gourmands de *Carlina acaulis* qu'ils consomment allègrement malgré les feuilles piquantes. *C. acaulis* fait également partie des plantes médicinales.

Dans certains pays, *C. acaulis* fait partie des espèces protégées, car elle est en voie de disparition dans la nature. Il convient donc de se renseigner à la préfecture ou à la mairie avant d'en cueillir dans la nature.

4. Description botanique

Carlina acaulis est une plante bisannuelle ou vivace, semblable au chardon, à tige courte voire absente (**Bernard, 2001**). La racine est pivotante (figure 2). Les fleurs sont disposées en capitules, ces derniers, sont gros, larges de 6 à 12 cm. Les bractées extérieures sont très inégales, divisées, épineuses, assez semblables aux feuilles ordinaires de la plante. Les bractées inférieures sont membraneuses, d'un blanc argenté, souvent violacées en dessous, très visibles, étalées en rayonnant. Le calice est constitué de poils, la corolle est formée de cinq pétales soudés en tube. Les cinq étamines sont insérées sur la corolle à filets libres entre eux, mais à anthères soudées entre elles et portant à leur base deux filaments plumeux. Le style est bifurqué en deux branches stigmatiques, épaissi et velu vers le haut en dessous de la bifurcation. L'ovaire est uniloculaire à deux carpelles à placentation pariétale. Les akènes sont soyeux, l'aigrette se détache à la maturité et est deux fois longue comme le reste du fruit, et a une seule rangée de poils plumeux. Les feuilles de la plante sont sans stipules, toutes pétiolées, profondément divisées, généralement sans poils ou rarement

aranéuses (figure 3). Les bractées de capitule sont sensibles aux variations de l'hygrométrie aérienne, elles se ferment à l'approche de la pluie (**Garnier et al, 1961**).



Figure 2 : Photographie de *Carlina acaulis* sur terrain



Figure 3 : Schéma de *Carlina acaulis*

5. Habitat et répartition géographique

C. acaulis est très commune surtout sur sol calcaire, dans les pâturages secs, les pentes rocheuses entre 400 et 2800 m, et sur les prairies maigres. Elle est très répandue dans les montagnes de l'Europe centrale et du sud, Balkans et sud de la Russie, Yougoslavie, Bulgarie, la Méditerranée (**Cécile, 2004**). En Algérie plus particulièrement dans la Wilaya de Tlemcen, on la retrouve au sud de la wilaya (Terni et Sebdou) ou au nord (Hennaya) ainsi qu'à l'ouest (Maghnia).

6. Composition chimique

Le dosage des métabolites primaires de *Carlina acaulis* contient 8% de matière grasse, 18.11% de la teneur en sucre, et un faible taux en protéine estimé à 3.85%. Dans la racine, on découvre une huile essentielle d'odeur agréable, de la résine, de l'inuline et une substance antibiotique, le carlinoxyde, une cire, des tanins (**Schauenberg, 1977**). L'huile essentielle contient 12 à 15 % d'un sesquiterpène monocyclique, le carlinène $C_{15}H_{24}$ et un dérivé du furane $C_{13}H_{10}O$, et elle contient également de l'acide palmitique, des traces de phénols, des glucides représentés par des oses et des osides (18 à 22 % d'inuline, gomme), des lipides,

principalement des acides gras, des matières minérales, essentiellement du calcium, du magnésium et du potassium (**Garnier et al. 1961**).

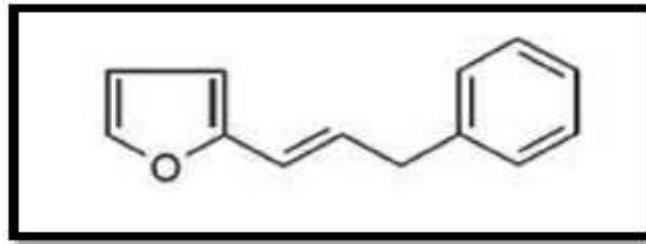


Figure 4 : oxyde de carline (Schauenberg, 1977)

7. Propriétés pharmacologiques et utilisation traditionnelle

En médecine traditionnelle, *C. acaulis* était employée occasionnellement comme diurétique, diaphorétique (**Max et Robert, 1999**), tonique des voies digestives et donc stomachique, et par son efficacité contre plusieurs dermatoses (acné, eczéma), anti-infectieuse et antidermatosique par un composé antibiotique dit « oxyde de carline ». Elle est aussi utilisée contre plusieurs maladies, convulsive, bronchite, carminatif, dyspepsie, embarras gastriques, éruptions cutanées, fièvre, gastrite, hémorragie, obstruction, peste, rhume et tumeur (**Bernard, 2001**).

La racine de *C. acaulis* a été inscrite à la première édition de la Pharmacopée française, des propriétés antibiotiques ont été mises en évidence pour l'oxyde de carline vis à vis du staphylocoque doré et de nombreuses bactéries Gram positif, mais ce composé est trop toxique pour un emploi thérapeutique (**Paris et al. 1971**).

On reconnaît à la carline des propriétés astringentes et tonifiantes. L'huile essentielle est antiseptique, elle trouve son utilisation dans les préparations des produits capillaires (cheveux normaux ou à tendance grasse), des produits pour les mains, des produits pour le corps et des produits pour le visage destinés aux peaux acnéiques, mixtes et grasses (**Florkin, 2008**).

8. Travaux antérieurs

SEMMLER, 1889 : Le principal composé de l'huile essentielle, carlinaoxyde, a été isolé pour la première fois en 1889, La racine renferme des glucides représentés par des oses et des osides (18 à 22 % d'inuline, gomme), des lipides, principalement des acides gras (acide palmitique), des matières minérales essentiellement du calcium, du magnésium et du potassium, des composés phénoliques, plus particulièrement des phénols et des tanins, 1 à 2 % d'huile essentielle qui est composée de terpénoïdes 12 à 15 % de sesquiterpènes (carlinène) « oxyde de carline » qui est un dérivé du furane en plus des résines et une cire.

GARNIER et al, 1961 : *C. acaulis* contient également de l'acide palmitique et des traces de phénols.

SCHAUENBERG, 1977 : La racine de *C. acaulis* contient une huile essentielle, la résine, l'inuline, une substance antibiotique, le carlinoxyde, une cire et le tanin.

MEUSEL et KÄSTNER, 1990 : Plusieurs composés ont été isolés à partir de la technique chromatographique par HPLC d'extraits de feuille de *C. acaulis* qui a révélé la présence de glycosides, flavones et plusieurs acides phénoliques, principalement des dérivés de l'acide caféique. L'extrait montre aussi des composants très similaires: homo orientin, orientin, apigénine et l'acide chlorogénique ont été déterminées. Vitexine et apigénine 7-O-glucoside ont été détectés seulement dans l'extrait de feuille de *C. acaulis*, et les osides dans l'extrait de *C. acanthifolia*. Ceci est le premier rapport sur la présence d'apigénine et acide chlorogénique dans les feuilles de ces deux espèces de *Carlina*.

CHALCHAT, 1996 : Les principaux composés de *C. acaulis* sont inuline (18-20%), les flavonoïdes et l'huile essentielle (2%) avec 80% d'oxyde de *Carlina*,

BOUCHRIHA et HABAR, 2009 : Etude sur la racine de *C. acaulis* montre la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins Le dosage des métabolites secondaires a donné les résultats suivants : 33.48mg/g de phénols totaux, 1.596mg/g de tanins et 13.76 mg/g de flavonoïdes et enfin une évolution de pouvoir antioxydant par DPPH.

CHAPITRE II

STRESS OXYDATIF ET ANTIOXYDANT

1. Introduction

Le stress oxydant et les antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutes fois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, on évoquait déjà le vieillissement. En 1969, les Américains **Mc Cord et Fridovich** isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la super oxyde dismutase (SOD), démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des espèces réactives oxygénés (ERO) dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (**Favier, 2003**)

2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit par le déséquilibre entre le système de défenses antioxydant d'un organisme et les entités pro-oxydantes, en faveur de ces derniers. Ce stress oxydant chronique est impliqué dans la plupart des processus de vieillissement et dans de nombreuses pathologies comme le cancer, les maladies neurogénéralives. Dans le cas d'une obésité ou d'un syndrome métabolique, un déséquilibre oxydatif se met en place et peut participer à la progression de cet état vers le diabète de type 2. Une fois le diabète installé, un stress oxydant chronique persiste et va être à l'origine de nombreuses complications dont principalement des macro et micro angiopathies (**Van der werf, 2013**)

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives d'O₂, N₂ ou Cl₂.
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes).
- Mécanismes de réparation insuffisants.

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré. Le terme stress oxydatif est un anglicisme. Le terme général de stress oxydatif est utilisé pour décrire une situation de dommages causés par les radicaux libres. (**Mercan .2010**).

2.1. Causes du stress oxydatif

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation des espèces oxygénées activées (**Haleng et al., 2007**). La chaîne respiratoire mitochondriale a des conséquences doubles et paradoxales sur les cellules aérobies. Elle fournit à la cellule une source d'énergie importante. Or, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme donnant naissance à des radicaux libres (RL) (**Haleng et al., 2007**). Leur synthèse est aussi augmentée par un déficit nutritionnel en antioxydants, une surproduction des radicaux libres d'origine inflammatoire, le vieillissement, une exposition environnementale des facteurs prooxydants (une exposition prolongée au soleil, à l'ozone, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool, le contact avec des agents cancérigènes, une forte consommation de médicaments et la pollution). Il peut être aussi la conséquence de certains troubles métaboliques comme le diabète, des processus infectieux comme le sida ou l'obésité qui favorisent la production d'espèces réactives de l'oxygène (**Schlienger et al., 2009**)

2.2. Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres sont instables et cherchent à s'apparier avec un électron d'une autre molécule. Ils sont à l'origine de réactions d'oxydation en chaîne responsables de lésions cellulaires à l'origine des défaillances d'organes (**Zazzo., 2002**), conduisant à l'apparition d'une multitude de maladies, comme le cancer, la cataracte, le syndrome de détresse pulmonaire aigu, le vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, l'obésité et les maladies cardiovasculaires (**Khan et al., 2006**).

Les conséquences du stress oxydants sont:

- L'oxydation des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des modifications des bases azotées, des fragmentations de l'ADN, des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases altérant ainsi l'expression génétique (**Cooke et al., 2003**).
- La peroxydation des lipides surtout des acides gras polyinsaturés (AGPI) qui sont facilement oxydables, aboutissant à la désorganisation complète de la membrane cellulaire, altérant de ce fait ses fonctions d'échanges, de barrières et d'informations (**Koechlin-Ramonatxo., 2006**).
- L'oxydation des protéines, Il s'ensuit une fragmentation de la protéine, une oxydation des chaînes latérales des acides aminés ou une formation de liaisons croisées entre deux protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport

cellulaire peuvent ainsi être modifiées. L'oxydation des glucides, générant ainsi des intermédiaires réactifs. Les dommages se propagent via l'attaque des radicaux libres formés sur d'autres molécules. C'est toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée (**Davies., 2003**).

3. Radicaux libres

Les radicaux libres sont, pour la plupart, de petites molécules dotées d'une très importante réactivité et instabilité liée à la présence appariée d'au moins un électron non apparié sur l'orbitale externe (**Halliwell et Gutteridge, 1999**). Cet électron non apparié va chercher à se réappairer au travers d'autres molécules, que l'on qualifiera de cible oxydables. Les espèces radicalaires provoquant la majorité des dommages au niveau cellulaire sont principalement représentées par les espèces réactives de l'oxygène, comme l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), ou encore le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce sont les entités oxydantes les plus fréquemment produites chez les organismes aérobies, et qui, à de faibles concentrations, servent d'initiateurs ou de seconds messagers dans diverses voies de signalisation. En effet, ces ERO sont d'importants produits secondaires de métabolisme, et peuvent déclencher d'importants phénomènes de réaction oxydatives en chaîne. D'autres espèces radicalaires sont encore à considérer, à savoir les espèces réactives de l'azote (RNS). Les RNS comme les cation nitrosomium (NO^+), l'anion nitroxyl (NO^-) ou encore le peroxyde nitrite ($ONOO^-$) proviennent principalement de l'oxydation enzymatique de l'arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS) (**Palmer et al., 1988**).

Du fait de leur haute réactivité, ces radicaux libres ont une demi-vie extrêmement courte pour la plupart, ce qui rend leur détection directe difficile. Ce sont ainsi plutôt des produits secondaires résultant de la réaction de ces radicaux libres avec divers substrats qui permettent l'évaluation des dommages oxydatifs liés à la présence d'entités oxydantes hautement réactives (**Davies., 2003**).

3.1. Actions biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres réagissent particulièrement sur les macromolécules lipidiques, protéiques, glucidiques et nucléiques. La réaction initiale stimule d'autres réactions, ce qui accroît la production de radicaux libres. Le résultat de ces perturbations est un dysfonctionnement cellulaire menant à des désordres inflammatoires, à des troubles immunologiques, à des problèmes neurologiques, à des mutations génétiques et au vieillissement (**Poortmans et Boisseau, 2003**).

Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN, des protéines ou encore la peroxydation des lipides. Les radicaux libres sont également issus d'un phénomène de défenses vital à l'organisme, dans la mesure où les mécanismes d'oxydation provoquent l'altération de toutes les molécules entraînées dans la réaction. Induire une attaque radicalaire contre un élément indésirable est donc un excellent moyen de le détruire. C'est ainsi que nos globules blancs, acteurs majeurs du système immunitaire, déclenchent des attaques radicalaires contre les virus et les bactéries. Les cellules anormales ou malades, qui pourraient éventuellement conduire à la formation de cellules cancéreuses ou d'une tumeur, peuvent ainsi être supprimées. Notre corps, grâce à cette capacité à déclencher des attaques radicalaires, possède un excellent moyen, rapide et efficace, de se protéger des sources d'infections et des cellules dégénératives. En revanche, comme nous l'avons décrit précédemment, la réaction d'oxydation, une fois qu'elle est initiée, doit être stoppée. Comme une cascade de dominos : une fois le premier tombé, c'est toute la ligne qui bascule de plus en plus vite. Le rôle des antioxydants est de bloquer les réactions. Il s'instaure ainsi dans l'organisme un équilibre entre le nombre d'attaques radicalaires déclenchées et la quantité d'antioxydants disponibles qui les neutralisera. Dans certains cas (maladies, vieillesse, exposition excessive aux radicaux libres...), l'équilibre est rompu et le corps est débordé (**Van der werf, 2013**).

Les radicaux libres altèrent toutes les molécules qui se trouvent sur leur passage et ne différencient malheureusement pas les éléments dangereux, comme les virus et certaines bactéries, des molécules normales, comme les molécules saines. C'est pourquoi, un stress oxydatif trop important aura des conséquences néfastes sur notre santé. (**Soares, 2005**).

4. Antioxydants

4.1. Définition

Un moyen de défense contre les radicaux libres : systèmes de défense sont des systèmes qui permettent de prévenir la formation radicalaire ou de limiter les lésions d'oxydation. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle. Un antioxydant est une substance qui peut être ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**)

D'après **Halliwel (1994)**, un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans trois catégories : la prévention à temps plein (la prévention passive), la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (**Virof, 2004**).

Certains antioxydants sont fabriqués par le corps comme les enzymes, d'autres proviennent de l'alimentation qui a une plus grande hétérogénéité comme les vitamines, les minéraux et les métabolites secondaires (les composés phénoliques). D'autres sont à la fois synthétisés en faible quantité par l'organisme et apportés par l'alimentation. C'est le cas par exemple de la cystéine et la Coenzyme Q10 (**Pokorny et al., 2001**).

4.2. Classification des antioxydants selon leurs natures

4.2.1. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) et gallate propylée (PG), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Ils sont introduits dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques en cas d'excès de consommation (**Yu et al., 2000**).

4.2.2. Les antioxydants naturels

L'organisme a besoin de systèmes de défense très efficaces, de deux types :

- Les antioxydants enzymatiques endogènes synthétisés par l'organisme. Il s'agit principalement du superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion reductase (GR). Ils sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les radicaux libres (**Pincemail et al., 2000**). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du (O_2^-) et du (H_2O_2), conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michelet et al., 2001**).
- Les antioxydants non enzymatiques, les nutriments antioxydants exogènes, apportés par l'alimentation. Les autres antioxydants d'origine naturelle sont des produits extraits de plantes et en particulier des épices : romarin, thym, cumin, clou de girofle, sauge et origan. Les molécules actives présentes dans ces sources naturelles d'antioxydants sont soit des flavonoïdes, soit des dérivés d'acide benzoïque, soit des dérivés de l'acide cinnamique. Les

plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants comme les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols dont l'efficacité antioxydante est la plus reconnue (**Farag et al., 1989**).

4.3. Propriétés des antioxydants

D'un point de vue biochimique, un antioxydant n'est qu'un composé réducteur, il va donc réagir avec un oxydant pour le neutraliser. Les antioxydants vont ainsi réduire les radicaux libres sidangereux pour l'organisme en raison de leur pouvoir oxydant très élevé. Ainsi, les antioxydants présents dans les aliments protègent les molécules organiques, par exemple, les graisses ou l'ADN, de l'oxydation et semble jouer un rôle protecteur contre la cancérogénèse (**Galan, 2004**). Les antioxydants s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. Ils agissent suivant deux mécanismes:

- Neutralisation les radicaux libres en empêchant les réactions en chaîne initialisées par ces derniers.
- Destruction les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), en diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres (**Ribeiro, 2001**).

4.4. Avantages et inconvénients des antioxydants

Les avantages et les inconvénients des antioxydants naturels et synthétiques (Tableau 1), couramment utilisés pour la protection des denrées alimentaires et pharmaceutiques, sont présentés dans le tableau suivant (**Valenzuela et Nieto, 1996**) :

Tableau 1: Avantages et inconvénients des antioxydants (Valenzuela et Nieto, 1996)

Antioxydants naturels	Antioxydants synthétiques
Coûteux	Peu coûteux
limités	Largement appliqués
Moyenne à forte activité antioxydante	Moyenne à forte activité antioxydante
Perçus comme des substances inoffensives	Substances toxiques
Augmentation de l'utilisation	Utilisation de certains d'entre eux interdit
Large gamme de solubilité	Faible solubilité dans l'eau
Intérêt croissant	Intérêt décroissant
Complètement métabolisé	Certains d'entre eux stockés dans le tissu adipeux

5. Détermination *in vitro* du pouvoir antioxydant

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydant des aliments et des systèmes biologiques (Scherer et Godoy, 2009). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang et al., 2005).

Il existe des techniques qui 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. (Sanchez-Moreno 2002).

D'autres méthodes qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (OH), des anions superoxyde (O⁻²), du peroxyde (ROO) et de l'oxyde nitrique (NO) (Sanchez-Moreno, 2002). Parmi ces techniques, nous citons :

a. Méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés

- Piégeage du radical peroxyde (ROO) :

La mesure de l'ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) développée par Cao et collaborateurs 1993 est une méthode simple et reproductible permettant d'évaluer la capacité antioxydante de différentes molécules (Benderitter et al., 2003).

- Piégeage du radical superoxyde (O⁻²) :

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capturer un radical libre, l'anion superoxyde O⁻². Ce radical est généré *in vitro* par le système hypoxanthine/xanthine oxydase. Dans cette méthode, le radical réduit le NBT²⁺ (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm. (Parejo et al., 2002).

- Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity) :

C'est 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. (Malgalhaes et al., 2008).

- Analyse de la capacité de piégeage du radical hydroxyle (HO•)

En raison de la réactivité élevée des radicaux hydroxyles, presque toutes les molécules dans les systèmes biologiques peuvent être considérées comme des pièges du radical HO•. Plusieurs méthodologies *in vitro* pour la détermination de la capacité du piégeage du HO• sont disponibles dans la littérature, la plupart du temps basé sur l'ensemble Fe³⁺ + EDTA + H₂O₂ + système d'acide ascorbique, pour produire un flux constant de HO• (Halliwell et al., 1999).

- Analyse de la capacité de piégeage d'acide hypochloreux (HOCl) :

L'acide hypochloreux est obtenu à partir du système enzymatique myéloperoxydase/H₂O₂/Cl⁻ ou en acidifiant l'hypochlorite de sodium commercial à pH 6.2 avec de l'acide sulfurique (**Aruoma, 1997**).

- Analyse de la capacité de piégeage de l'oxygène singulet (IO₂) :

En raison de l'affaiblissement de l'état fondamental d'énergie inférieure, IO₂ émet la phosphorescence caractéristique à 1270 nm. par conséquent, la capacité du piégeage du IO₂ de plusieurs composés est mesurée par les taux d'affaiblissement de l'intensité de la lumière (**Wilkinson et Helman, 1995**).

- Analyse de la capacité du piégeage d'oxyde nitrique (NON•) :

Vriesman et ses collaborateurs (1997), ont développé une méthode relativement simple pour la quantification de la capacité de piégeage des composés contenant du soufre dans le soluté utilisant un NON• (**Perez et al., 2007**).

b. Méthodes de piégeage des radicaux stables et évaluation de leur capacité de réduction :

- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) :

Dans cette analyse, le DPPH• de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (**Brand-Williams et al., 1995**).

La détermination de la capacité antioxydante est basée sur la réduction ampérométrique du DPPH• au carbone vitreux. Le courant qui en résulte sur une électrode vitreuse de carbone polarisée au potentiel fixe, est proportionnel à la concentration résiduelle de DPPH• après la réaction avec les antioxydants (**Milardovic et al., 2006**).

En opposition à ce qui a été toujours crue, le mécanisme de réaction est basé sur une réaction de transfert d'électron, tandis que l'abstraction d'atome d'hydrogène est un processus réactionnel marginal, parce qu'elle se produit lentement dans des solvants forts, tels que le méthanol et l'éthanol (**Foti et al., 2004**).

L'accessibilité stérique de DPPH• est une cause déterminante de la réaction, puisque les petites molécules qui ont un meilleur accès à l'emplacement du radical ont sans doute une capacité antioxydante relativement plus élevée. Beaucoup de composés antioxydants de taille moléculaire élevée qui réagissent rapidement avec les radicaux libres peuvent réagir lentement ou peuvent même être inertes dans cette analyse (**Huang et al., 2005**).

- Puissance antioxydante de réduction du fer (analyse FRAP) :

L'analyse FRAP mesure la capacité des antioxydants à ramener le complexe ferrique de la tripyridyl-s-triazine 2.4.6 [Fe (III) - (TPTZ) 2]³⁺ intensément au complexe ferreux coloré par le bleu [Fe (II) - (TPTZ) 2]²⁺ dans un milieu acide (**Benzie et Strain, 1996**). Les valeurs sont calculées en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 593 nm et en la rapportant à une solution étalon d'ions ferreux ou à une solution étalon d'antioxydants (**Tsao et al., 2003**).

Un point à prendre en compte est la production concomitante de Fe (II), qui est un prooxydant bien connu, et peut avoir comme conséquence la génération des radicaux additionnels dans le milieu de réaction. En plus, les composés qui absorbent à la même longueur d'onde peuvent s'y mêler, entraînant une surestimation des résultats (**Ou et al., 2002**).

- Analyse par le réactif Folin-Ciocalteu (FC) :

La chimie derrière l'analyse FC se fonde sur le transfert des électrons dans un milieu alcalin à partir des composés phénoliques et de toutes autres espèces réductrices au molybdène, formant des complexes bleus qui peuvent être détectés par spectrophotométrie à 750-765 nm (**Singleton et al., 1999**).

Par conséquent, ce n'est que récemment que l'analyse de FC est proposée pour mesurer la capacité réductrice totale des échantillons (**Huang et al., 2005**). D'excellentes corrélations linéaires entre l'analyse de FC avec d'autres analyses (TEAC et DPPH•, par exemple) ont été établies (**Roginsky et Lissi, 2005**).

c. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (-carotene bleaching method) :

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du bêta-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du bêta-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de la décoloration du bêta-carotène (**Koleva et al., 2001**).

Cette méthode est, d'autre part, sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du bêta-carotène et l'interprétation des données n'est pas aisée car le bêta-carotène est lui-même un antioxydant (**Laguerre et al., 2007**).

6. Balance oxydants / antioxydants

Certaines recherches scientifiques récentes ont mis en évidence l'existence des facteurs communs responsables aussi bien du vieillissement que de maladies liées au stress oxydant comme le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer), et aussi certaines allergies et autres maladies chroniques. Ces diverses maladies auraient, entre autres, la même composante qui permet au bois de brûler, à l'huile de rancir, à l'aliment d'altérer ou au fer de rouiller. L'un des principaux acteurs de tout cela est l'oxydation de l'oxygène (**Le Cren, 2004**).

Quand la cellule utilise de l'oxygène, il se passe, un grand nombre de réactions d'oxydation. Le résultat est la production d'énergie, mais aussi de différents sous-produits appelés espèces réactives de l'oxygène « ERO » (**Pokorny et al., 2001**). L'organisme est équipé pour lutter contre ces ERO par un énorme système de défense constitué de système antioxydant enzymatique. Cependant, ce système de défense est parfois dépassé, surtout quand les agressions sont multipliées sous l'effet des radicaux libres endogènes et exogènes. C'est là où il y a des dégâts appelés « Stress oxydatif ». De ce fait, il fait appel aux plantes qui possèdent en plus un système non enzymatique de régénération comme l'acide ascorbique (vitamine C), les polyphénols ou les caroténoïdes, ce sont des composés antioxydants exclusivement végétaux (**Le Cren, 2004**).

MATERIEL ET METHODES

Ce modeste travail a été réalisé au sein de laboratoire de recherche Produits Naturel. L'objectif est de mesurer le pouvoir antioxydant des extraits préparés à partir des racines de *Carlina acaulis in vitro* par la technique de piégeage de radical libre (DPPH). Après avoir déterminé la teneur en eau, les tests phytochimique, l'extraction brut (acétone/eau) et (méthanol/eau) ainsi que l'extraction sélective des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins ont été réalisé chacune trois fois pour la fiabilité des résultats.

Dans le but de réaliser ces différents analyses, les racines de *C.acaulis* ont été récolté à partir de la région de Terni (sud de la wilaya de Tlemcen) (figure n°05), durant la période du mois d'avril 2017.



Figure 5 : Carte géographique représentant la région de récolte (Google Earth)

1. Préparation du matériel

Au laboratoire, les racines de *Carlina acaulis* ont été utilisées pour les différentes analyses. En effet c'est la partie utilisée en médecine traditionnelle car elle contient probablement les principes actifs recherchés. La racine a été lavée, séchée à l'abri de la lumière pendant quinze jours avant utilisation. Cette opération du séchage est suivie par le broyage. Ce dernier doit être réalisé juste avant chaque analyse et de préférence par un

mortier pour éviter la dégradation des composés chimiques par la chaleur du broyeur (figure n° 06, 07, 08).



Figure 6 : Illustration de *Carlina acaulis* sur terrain



Figure 7 : Photographie de la racine de *Carlina acaulis* après séchage



Figure 8 : Photographie de la poudre de la racine *Carlina acaulis*

2. Méthodes d'analyses

2.1. Détermination de la teneur en eau

2.1.1 Principe

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de (100 à 105°C) et sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur.

2.1.2 Mode opératoire :

- Lavé et sécher à l'étuve, les vases de tare pendant 15min;
- Laisser refroidir dans un dessiccateur durant 10min, puis peser les vases de tare: P1;
- Mettre dans chaque vase 2 g d'échantillon moulu, puis peser: P2;
- Placer les vases qui contiennent l'échantillon dans l'étuve pendant 3h à 103 +- 2°C;
- Laisser refroidir au dessiccateur pendant 15 min et peser: P3;
- Remettre les vases dans l'étuve durant 1h et peser comme précédemment.

La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.

2.3.1 Expression des résultats

Le taux d'humidité (%) d'un échantillon de matériel végétal est donné par la formule suivante:

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(P2-P3) / (P2-P1)] \times 100$$

Avec:

P1: Masse en g de la vase de tare vide.

P2: Masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P3: Masse en g de la prise d'essai après séchage.

3 Tests phytochimiques

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques et les composés azotés en particulier les alcaloïdes existantes dans une partie quelconque de la plante par des réactions de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifique à chaque famille de composés.

3.1.Principe

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimiques réalisés, généralement sur des extraits déjà préparés par épuisement à chaud. Ils sont basés sur:

- Les essais de solubilité, des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente: l'eau, l'éthanol et l'éther di éthylique;
- Réaction de coloration et de précipitation.

3.2. Mode opératoire

L'épuisement a été réalisé dans un ballon surmonté d'un réfrigèrent, contenant 25g d'échantillon séché, extraite en utilisant 300ml des trois solvants suivants: l'eau, l'éthanol et l'éther di éthylique (figure 6). Les extraits sont filtrés et stockés à 4°C et feront l'objet de quelques tests phytochimiques (**Trease et Evans., 1987; FAO/ IAEA, 2000**).

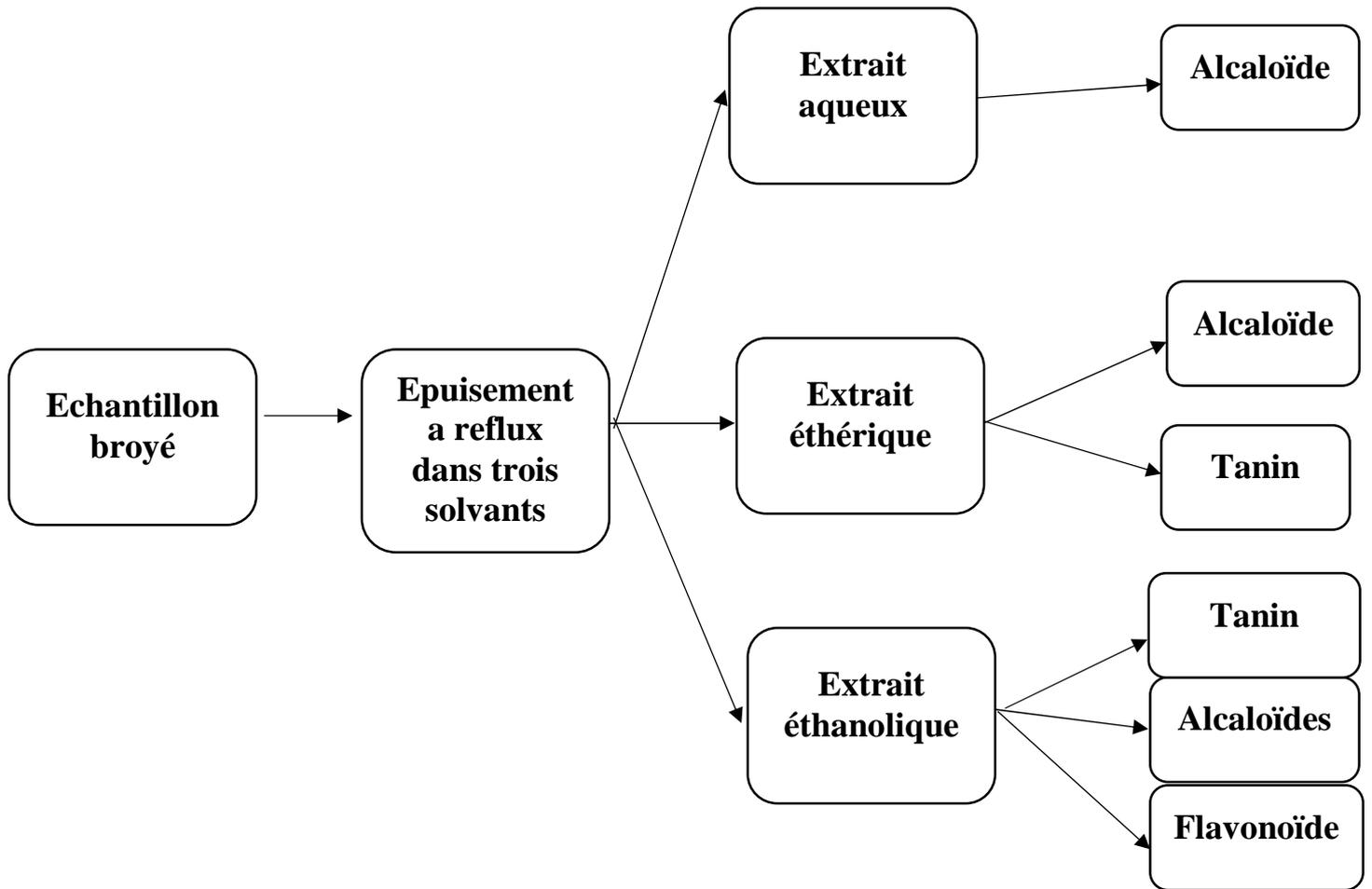
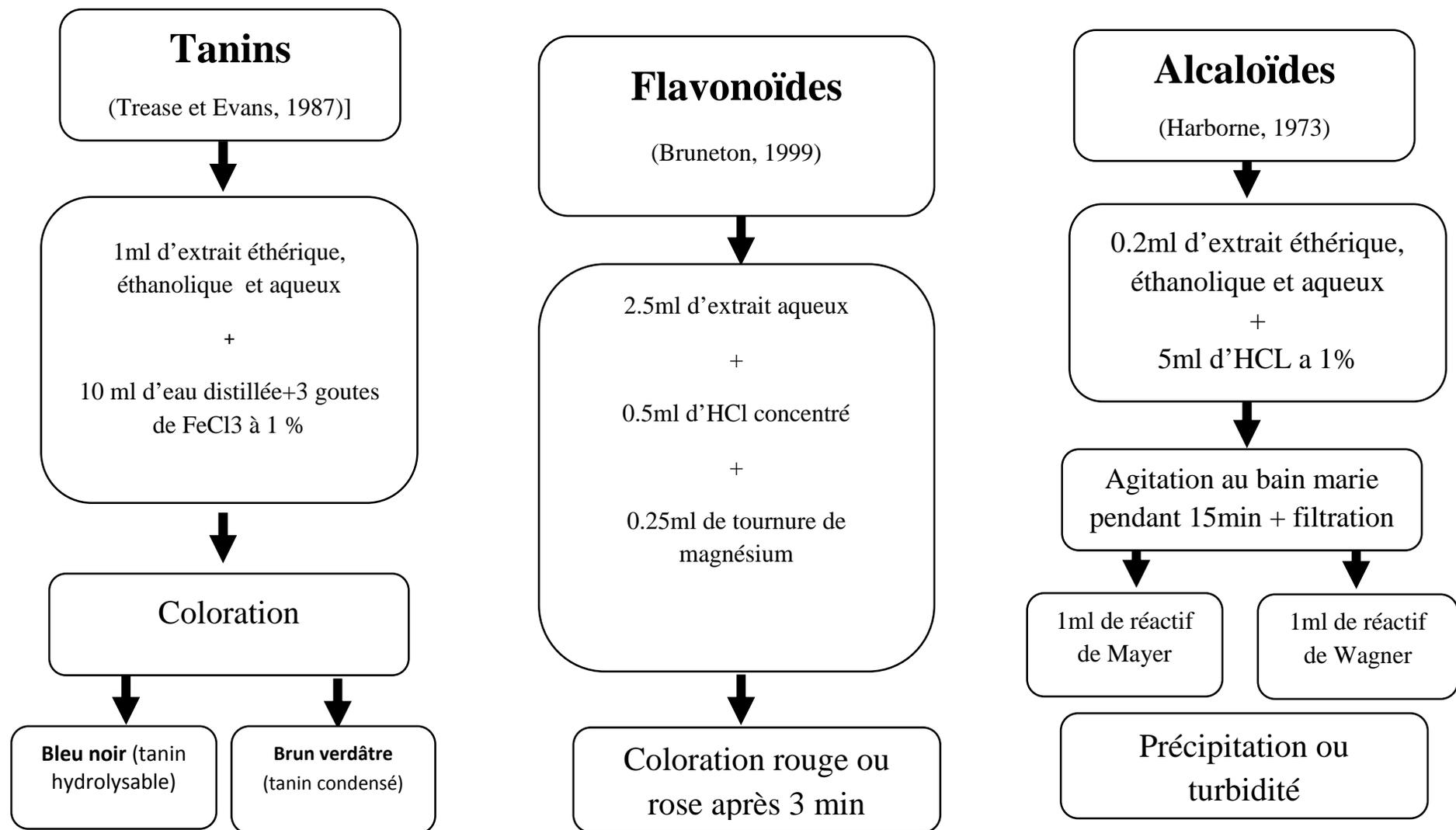


Figure 9 : Diagramme des tests phytochimiques des racines de *Carlina acaulis*

Tests phytochimiques



3.2.1. Alcaloïdes

A 0.2 ml d'extrait aqueux, éthanolique et étherique, ajouter 5ml HCl à 1% au résidu puis agiter et chauffer au bain pendant 15 min. Filtrer la première partie avec trois gouttes de réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner. Le test n'est considéré positif que lorsqu'il y a apparition d'une turbidité ou d'une précipitation

(+) : Le réactif produit une légère opacité.

(++) : Le réactif produit une légère turbidité et non une floculation.

(+++): Le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

3.2.2 Flavonoïdes

Traité 2.5 ml de l'extrait aqueux avec 0.5 de HCL concentré et 0.25 de tournure de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence sur une couleur rose ou rouge.

3.2.3 Tanins

Prendre 1 ml de l'extrait éthanolique, étherique, et aqueux. Ajouter 10 ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de FeCL₃ à 1 %. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir caractéristique des tanins hydrolysables, ou d'une couleur brun verdâtre caractéristique des tanins condensée (**Trease et Evans, 1987**)

4 Extractions

Il existe différentes méthodes d'extraction qui sont particulièrement adaptées à l'extraction des composés naturels. Parmi celles-ci, la macération, qui est une technique simple et facile à réaliser.

4.1. Extrait brut (acétone/eau)

- **Mode opératoire**

Une quantité de 10 g du matériel végétal broyé est macérés dans 100 ml d'un solvant hydro-alcoolique (acétone/eau ; 70/30, v/v) pendant 24 heures sous agitation. Après filtration, l'opération est renouvelé, les deux solutions hydro-alcoolique sont réuni est évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris par 3 ml du méthanol puis conservées à 4°C (**Blahova et al., 2004**).

4.2 Extrait brut (Méthanol / eau)

- **Mode opératoire**

Une quantité de 10 g de matériel végétal est mis à macérer dans 100 ml d'un mélange méthanol/eau; 80/20; (v/v), pendant 24 heures sous agitation. Après filtration, on refait la macération pour extraire le maximum possible. Les solutions hydro-méthanoliques sont concentrées à sec sous pression réduite et à une température 60°C. Le résidu sec est repris par 3 ml de méthanol puis conservées à 4°C (**Harborne, 1998**)

- **Expression des résultats**

$$\text{Rd} = [(P2-P1)/M] \times 100$$

Rd: Rendement (% MS).

P1: Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.

P2: Poids du ballon après extraction.

M: Masse en gramme d'échantillon.

5. Extractions sélectives

5.1. Extraction des tanins

- **Mode opératoire**

On mélange 5g de matériel végétal broyé avec 55ml d'acétone et 90ml d'eau. L'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours. Filtrer et extraire, à l'aide d'une ampoule à décanter, la solution deux fois avec 25ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanter et extraire la phase aqueuse deux fois avec 25ml d'acétate d'éthyle (AcOEt). Sécher la phase organique avec du MgSO₄ ensuite faire évaporer le solvant à sec (**Bruneton, 1999**).

- **Expression des résultats**

$$\text{Rd} = [(P2-P1)/M] \times 100$$

Rd: Rendement (% MS).

P1: Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.

P2: Poids du ballon après extraction.

M: Masse en gramme d'échantillon.

5.2. Extraction des flavonoïdes

- **Mode opératoire**

On mélange 5g de matériel végétal broyé avec 50ml de méthanol bouillant en présence de 2.5g de CaCO₃. L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1h. Après filtration, le dépôt est traité de nouveau pendant 1h à l'ébullition dans la même quantité d'alcool. Les deux solutions alcooliques sont réunies, elles sont éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 50ml d'eau distillée bouillante. La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat épuisé successivement par l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle (AcOEt) et le N- butanol (BuOH). Tous les composés flavoniques se retrouvent dans l'extrait acétate d'éthyle (**Dauguet et Foucher ,1982**).

- **Expression des résultats**

$$\text{Rd} = \frac{(\text{P2}-\text{P1})}{\text{M}} \times 100$$

Rd: Rendement (% MS).

P1: Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.

P2: Poids du ballon après extraction.

M: Masse en gramme d'échantillon.

5.3. Extraction des alcaloïdes

- **Mode opératoire:**

On mélange 5g de matériel végétal avec 125ml d'HCl à 2% et 55ml d'AcOEt. L'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 10h. Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec NH₄OH. La phase aqueuse basique est ensuite extraire plusieurs fois avec l'AcOEt. L'opération est répétée deux fois avec l'AcOEt, jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes (vérification par la négativité de réaction de Mayer effectuée sur la phase aqueuse). Le solvant organique contenant les alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation avec MgSO₄. Faire évaporer le solvant et il reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux (**Bruneton, 1999**).

- **Expression des résultats**

$$\mathbf{Rd = [(P2-P1)/M] \times 100}$$

Rd: Rendement (% MS).

P1: Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.

P2: Poids du ballon après extraction.

M: Masse en gramme d'échantillon.

6. Evaluation du pouvoir antioxydant des métabolites secondaires

6.1 Mesure de l'activité antioxydante par la technique de piégeage de radical libre DPPH

6.1.1 Principe

L'évaluation du pouvoir antioxydant est réalisée en utilisant le radical libre DPPH (2,2-Diphenyl 1-picrylhydrazyl) (Lee et *al.*, 2003).

Le DPPH est pratiquement, le radical libre le plus stable, en solution (méthanol ou éthanol). Il est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515nm. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pale (forme d'hydrazine). Ce passage à la deuxième forme est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut être exprimé par le pourcentage de réduction de DPPH conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydant (Lee et *al.*, 2003).

6.2.2. Préparation des solutions

a. Solution mère

Pour tous les extraits, on prépare des solutions dans du méthanol absolu a raison de 500ul. Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de ug/ml.

b. Solution DPPH

Préparation d'une solution méthanolique de DPPH à 0.2 N, son absorbance à 515nm doit être comprise entre 0.600 et 0.800nm.

c. Essai à blanc

Pour calibrer l'appareil utilisé, le spectrophotomètre (UV-VIS), 1.950ml de méthanol est additionné à 50ul de chaque concentration des différents extraits.

d. Solution contrôle

1.950ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée est additionnée à 50µl de méthanol.

e. Préparation de l'échantillon

1.950ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée est additionnée à 50ul d'extrait sec à différentes concentrations (0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1).

Les tubes de l'essai à blanc, contrôle et des échantillons sont vortexés et après 30min d'incubation à l'obscurité, les DO sont mesurées à 515nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS.

f. Expression des résultats

Le pourcentage de réduction du DPPH est donné par la formule décrite par **Yen et Dut, (1994)**.

$$\%PR \text{ du DPPH} = (\text{DO contrôle (0)} - \text{DO échantillon (t)}) / \text{DO contrôle (0)} \times 100$$

%PR du DPPH : Pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH

DO contrôle (0) : densité optique du contrôle à t=0min

DO échantillon (t): densité optique de l'antioxydant à t= 30min

A partir de la variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait sec on détermine graphiquement l'EC50 qui est définie comme étant la concentration de l'antioxydant (l'extrait ou composé) nécessaire pour réduire ou inhiber 50% du DPPH.

Cette analyse a été réalisé sur cinq extraits à savoir : extrait brute acétone/eau, extrait brute méthanol/eau, extrait sélectif des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes.

RESULTATS ET DISCUSSION

01. Teneur en eau

Les plantes sont essentiellement constituées d'eau, leur teneur en eau variant de 75 à 95 % de leur poids total. L'eau est souvent été corrélée avec la salinité du sol, Selon une étude réalisée par **Grouzis et collaborateurs (1977)**, sur deux plantes halophytes, la teneur en eau augmente avec la salinité du sol, entre 0,05 et 1g/l de NaCl dans le sol.

Au laboratoire l'appréciation de la teneur en eau et la matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser.

L'analyse du taux d'humidité au niveau des racines de *Carlina acaulis* a montré une proportion estimée à 78.55 % (figure 10) A partir de cette valeur on a pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) qui est de 21.45 %. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Bouchriha et Habar(2009)** estimée à 78%.

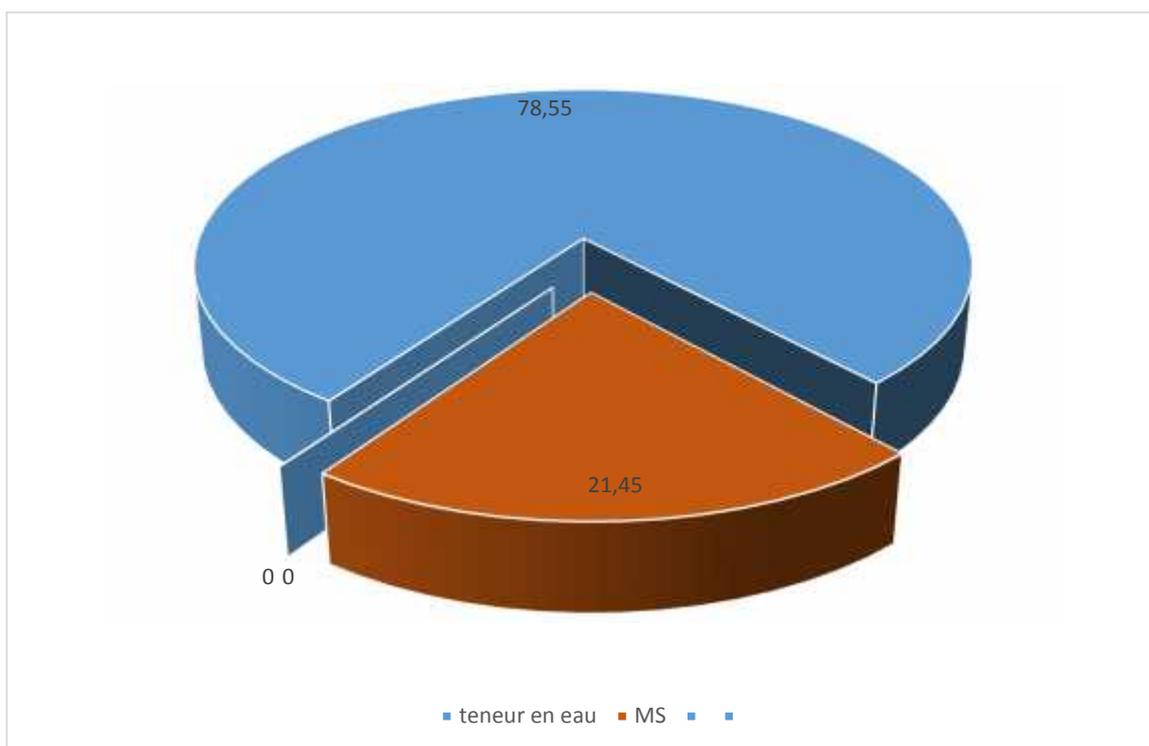


Figure 10 : Taux de matière sèche et de la teneur en eau des racines de *Carlina acaulis*

02. Tests phytochimiques

Avant de calculer les rendements des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes des racines de *C.acaulis*, on doit tout d'abord vérifier leur présence ou leur absence au sein de notre échantillon. Les tests phytochimiques nous ont permis de détecter les différentes

familles de composé par des réactions utilisant des solvants de polarité différente. La présence et / ou l'absence des différentes familles des métabolites secondaires existant dans les racines *C.acaulis* présentent quatre possibilités :

- (+) : est enregistré si le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité).
- (+ +) : est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).
- (+ + +) : est enregistré si le réactif produit une floculation ou une précipité lourd (présence en forte quantité).
- (-) : est enregistré en cas d'absence de turbidité de floculation et de précipitation (absence).

Le tableau montre les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes des racines de *C.acaulis*.

Tableau n°02 : Résultats des tests phytochimiques de la racine de *C.acaulis*

	Epuisement par l'eau chaude	Epuisement par l'éther diéthylique	Epuisement par l'éthanol
Tanin	++	-	+
Flavonoïde	+	/	/
Alcaloïde	Réactif de Wagner : -	-	-
	Réactif de Mayer : +	+	-

Les analyses phytochimiques réalisé sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence ou l'absence des constituants connus pour leurs activités biologiques et possédantes des vertus médicinales (Sofowora, 1993). Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques (Oyedeji et al., 2011).

La mise en évidence des tanins est confirmée dans l'extrait aqueux par une réaction positive (++) avec la solution de chlorure ferrique FeCl_3 à 1% en donnant une coloration marron vers noir, et dans l'extrait éthanolique (+) en donnant une couleur bleu vers noir.

On a enregistré, aussi, la présence des flavonoïdes (traces) dans les racines de *C. acaulis*, du à l'apparition d'une couleur rose pale (+) et cela en contact avec la tournure de de magnésium.

Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des alcaloïdes mais avec une quantité faiblement importante :

- Réactif de Wagner : absence totale des alcaloïdes dans les trois extraits réalisées.
- Réactif de Mayer : présences des alcaloïdes mais en faibles quantités (+) dans les deux extraits aqueux et étherique.

03. Extractions brutes

Comme cela a été précédemment décrit dans la partie matériel et méthodes, les polyphénols ont subi une extraction dans deux mélanges hydro alcoolique différents, le méthanol/eau et l'acétone/eau. Il s'est avéré que c'est le solvant méthanol/eau qui est le plus efficace avec un taux de 15.49% contre 7.52% pour le solvant acétone/eau (figure n°09).

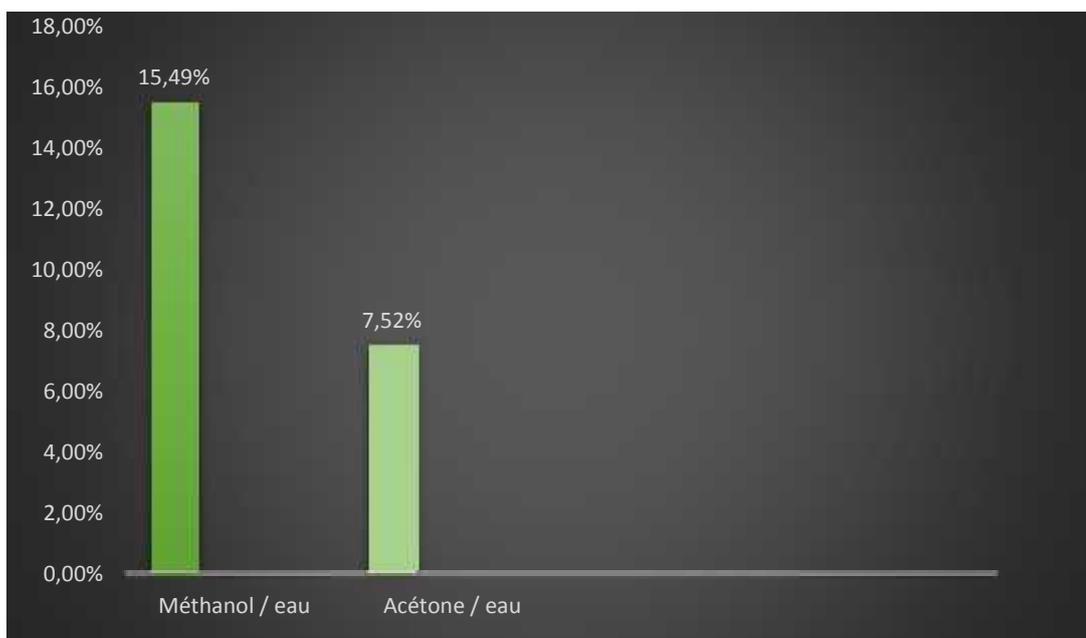


Figure 11 : Comparaison entre l'extraction des polyphénols du solvant acétone/eau et du solvant méthanol/eau des racines de *C. acaulis*.

L'extraction des solvants ou il y a un mélange hydro alcoolique comme méthanol/eau ou acétone/eau et plus efficace et donne de meilleurs résultats que celle utilisant de méthanol ou de l'acétone pur. On constate aussi la tendance d'extraire plus de composés avec l'eau qu'avec les autres solvants. Cela s'explique par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme des molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques comme les glucides et les protéines (**Bonnaillie et al., 2012**).

Le contact entre le solvant et la matière végétale à analyser a pour but de libérer les polyphénols présents dans les cellules par rupture du tissu végétal et par diffusion (**Hayouni et al. 2007**). Nous pouvons déduire de cela que la productibilité de l'extraction est en fonction du solvant utilisé mais aussi du type du tissu végétal ou de la partie étudiée de la plante.

Nos résultats ne confirment pas ceux de **Yu et Dahlgren (2005)** qui soulignent que l'acétone aqueuse est plus efficace que le méthanol aqueux.

04. Extractions sélectives

A la lumière de nos résultats nous pouvons constater que le rendement le plus élevé se situe au niveau des alcaloïdes (10.48 %) suivi loin derrière des flavonoïdes (1.2%) et des tanins (1.18%). Ces résultats sont différents avec les résultats obtenus par **Bouchriha et Habar (2009)** qui sont 15.21% pour les alcaloïdes, et 0.5% pour les flavonoïdes, 11% pour les tanins. Les résultats sont exprimés dans la figure 12.

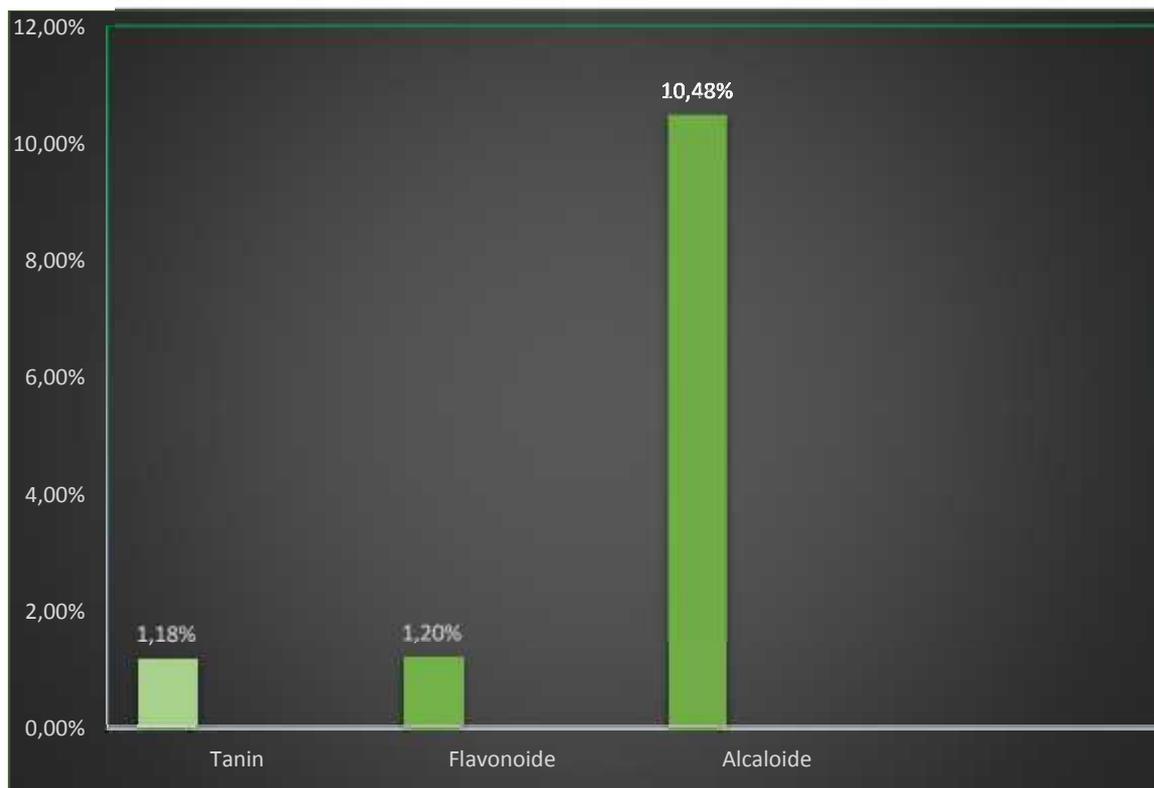


Figure 12 : Rendement massique des alcaloïdes, flavonoïdes et tanins des racines de *C. caulis*.

Le teneur en tanin varie avec l'espèce végétale et ces variations peuvent être liées d'une part au degré de maturité et d'autre part au site de récolte (**Bornner et al., 1974**).

Selon **Bruneton(2008)** l'extraction des tanins est en règle générale réalisée par un mélange d'eau et d'acétone. Selon **Seigler et collaborateurs (1986)** l'acétone à 70 % dans l'eau donne un meilleur rendement que l'eau ou le méthanol à 80%.

Mais d'après **Mohammedi(2006)** le mélange eau/acétone, spécialement à hautes températures, extraient aussi des substances indésirables comme les protéines, les lipides et les colorants non phénoliques qui causent des interférences lors de dosage des tanins. Aussi l'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (**Wichtl, 2002**). C'est pour cette raison que nous avons utilisé la méthode d'extraction par macération à froid.

Certain auteurs cités en bibliographie (**Chan et al., 2010**) indiquent que pour l'échantillon riche en tanins le solvant acétone/eau est le plus recommandé alors que le solvant méthanol/eau est meilleur pour les échantillons riches en flavonoïdes.

Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs : déficience en éléments nutritifs, sécheresse, sur chauffage et l'intensité lumineuse. On note que la présence des tanins donne un goût d'amertume et d'astringence à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropre à la consommation pour les insectes et les bétail (**Eberhard et al., 2005**).

Les flavonoïdes sont présents dans les feuilles, les fleurs et les racines, leur concentration augmente avec l'exposition au soleil car ils protègent la plante contre les agressions du rayonnement UV. (**Sarni-manchado, 2006**).

Les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des plantes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes, en effet ceux-ci sont sensibles à l'oxydation. (**Rawel et al., 2005**).

Plusieurs auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante, en particulier les flavonoïdes (**Sun et al., 2007**).

Il y a 20% des espèces de plantes qui produisent les alcaloïdes (**Guignard, 2000**). Ces plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ils sont toxiques. Les alcaloïdes présentent généralement une intense activité pharmacologique et ce n'est pas pour rien qu'on a utilisé la racine dans la médecine traditionnelle. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur et ils sont utilisés comme antalgiques majeur (morphine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante (curane, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mexaline) ou comme anticancéreux (Taxol, vinblastine et vincristine) (**Caporal, 1995**).

5. Etude du pouvoir antioxydant

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. En effet, de nombreuses recherches scientifiques se sont intéressés aux polyphénols, qui sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal et qui présentent de nombreuses propriétés, dû à leur pouvoir antioxydants, à savoir : l'anti-apoptotique, l'anti-âge, l'anti-carcinogène, l'anti-inflammatoire et la protection contre les maladies cardiovasculaires (**Han et al., 2007**). La structure des polyphénols leur confèrent une activité antioxydante importante. En effet, leurs groupes hydroxyle sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir

avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactifs de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (**Apak et al. 2007**).

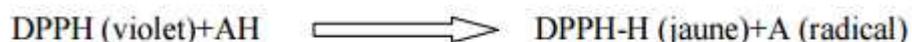
Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de différents tests complémentaires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

Dans notre travail, nous avons évalué l'activité des racines de notre plante, *Carlinaacaulis*, par le test de piégeage du radical libre DPPH.

Ce dernier est l'un des radicaux les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. Le test au DPPH• n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH• et ainsi, d'apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques (**Bozin et al, 2008**).

Dans ce contexte, nous avons utilisé cinq extrais afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des racines de *Carlinaacaulis* qui sont : l'extrait brut méthanol/eau, l'extrait brut acétone/eau, les extraits sélectifs des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins. L'acide ascorbique, un antioxydant synthétique de référence, est utilisé comme contrôle positif (**De Pooter, 1986**).

L'activité antioxydante des 5 extraits et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 515 nm qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (polyphénols)AH donneurs d'hydrogènes présents dans l'extrait végétal comme le montre l'équation suivante (**Silva Pinto et al. 2008**).



Par des dilutions en cascades des différents extraits, ainsi que de la substance de référence, l'acide ascorbique, une gamme de concentrations allant de 0.125-1 mg/ml a été obtenue. Pour chaque concentration, les densités optiques sont mesurées à 515nm. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle (Annexe 2, 3, 4, 5, 6).

Pour comparer la puissance antioxydante de nos extraits, nous avons déterminé expérimentalement, le paramètre IC₅₀. L'IC₅₀ est la concentration de l'extrait pour réduire

50% du radical DPPH. Plus elle est petite, plus l'activité antioxydante est grande (Popovici et al. 2009). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 14.

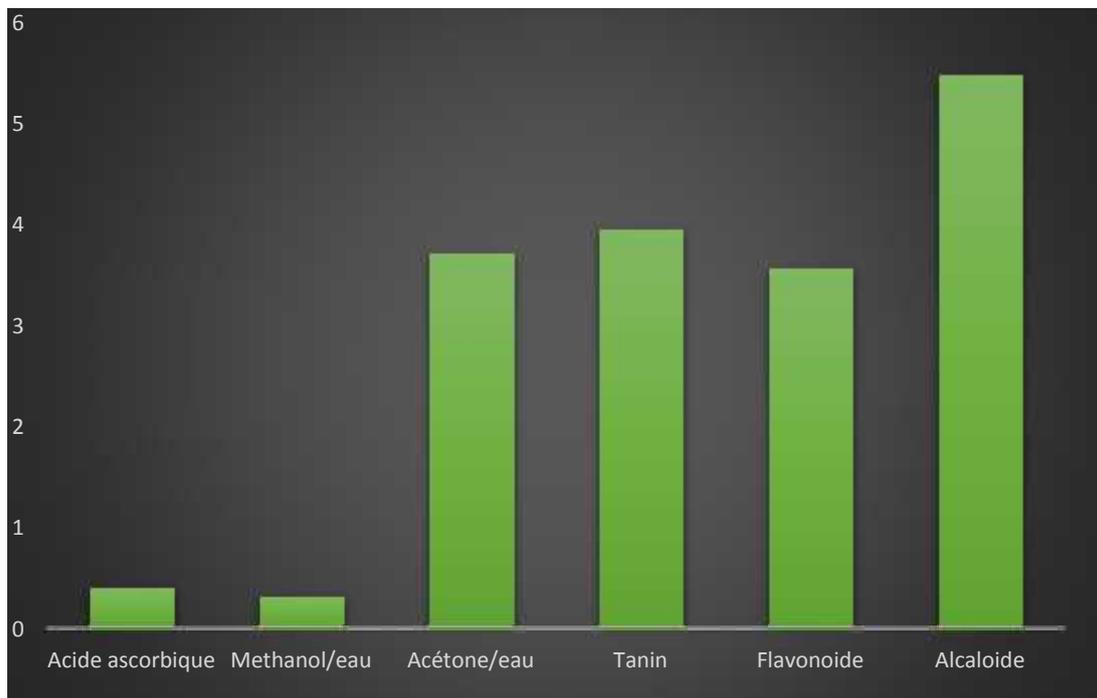


Figure 13 : IC₅₀ des cinq extraits bruts acétone/eau, méthanol/eau, alcaloïdes, flavonoïdes et tanins de racine de *Carlina acaulis* et l'acide ascorbique

Nos résultats montrent que la racine de *Carlina acaulis* révèle un pouvoir antioxydant important dans le piégeage du radical DPPH. En effet, avec une concentration IC₅₀ de 0,31mg /ml et une activité antioxydante (ARP) de l'ordre de 3.22, l'extrait brute méthanol/eau possède une très forte ARP, comparable à celle enregistrée pour l'acide ascorbique (IC₅₀ = 0.40 mg/ml - ARP=0.25), suivi de loin par l'extrait sélectif des flavonoïdes (IC₅₀= 3.56mg/ml- ARP= 0.28), puis de l'extrait brute acétone/eau (IC₅₀=3.70mg/ml- ARP=0.28), ensuite par l'extrait sélectif des tanins (IC₅₀= 3.95mg/ml- ARP=0.25) et enfin, l'extrait sélectif des alcaloïdes (IC₅₀=5.48- ARP=0.18) (tableau 3).

Tableau 3 : Résultats d'IC₅₀ et l'ARP des cinq extraits

	IC₅₀	ARP (Activité anti radicalaire)
Acide ascorbique	0,4	2,5
Méthanol/eau	0,31	3,22
Acétone/eau	3,7	0,27
Flavonoïdes	3,56	0,28
Tanin	3,95	0,25
Alcaloïde	5,48	0,18

Nous pouvons donc classer, selon les IC₅₀, nos extraits par ordre décroissant : méthanol/eau>acide ascorbique> flavonoïdes>acétone/eau>tanins>alcaloïde.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que les alcaloïdes, les tocophérols, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène). Nos valeurs montrent donc qu'il y a une corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante et confirment que les métabolites secondaires de la racine de *Carlina acaulis* sont en synergie. En effet les extraits végétaux contenant plusieurs familles métabolites secondaires (pour notre cas il s'agit de l'extrait brut méthanol/eau) présentent une forte activité antioxydante, suggérant qu'une majeure partie de cette activité soit due à la combinaison de plusieurs substances (Liu, 2004).

Nos résultats montrent une légère différence avec ceux d'Ais (2016) concernant l'ordre décroissant de l'IC₅₀ des différents extraits de la racine de *Carlina acaulis*, qui est comme suite :

Acide ascorbique> acétone/eau> tanins> alcaloïdes> flavonoïdes.

Par ailleurs, nos extraits présentent une ARP plus forte que celle d'**Ais (2016)**. En effet, les IC₅₀ de l'extrait brute acétone/eau (1.71 mg/ml), extrait des tanins (6.54 mg/ml), les deux extraits de flavonoïdes et d'alcaloïdes ont la même valeur (11.02 mg/ml) et ont une activité très faible par rapport à celle de l'acide ascorbique (0.158 mg/ml). On peut expliquer cet écart entre les deux recherches par la différence du rendement des extraits et par l'influence de l'ensemble des facteurs sur le potentiel antioxydant et la cinétique de la réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH, type de solvant, pH) et le profil phénolique en particulier **Popovici et al., 2009**).

De nos résultats, il convient de considérer que la racine de *Carlina acaulis*, comme une source valorisable de molécules bioactives qui peuvent substituer les antioxydants synthétiques soupçonnés de toxicité.

CONCLUSION GENERALE

Les antioxydants contribuent de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouvelles méthodologies de synthèse et la préparation de molécules à usage thérapeutique constituent un objectif majeur et une préoccupation permanente pour de nombreux chercheurs.

Dans ce contexte, ce travail a pour but d'évaluer le pouvoir antioxydant de *Carlina acaulis* récoltée de la wilaya de Tlemcen pendant le mois d'Avril 2017, pour une valorisation industrielle pharmaceutique et alimentaire.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure :

- Le taux d'humidité est de 78,55 %
- Le rendement le plus élevé est celui de l'extrait brut méthanol/eau avec une valeur de 15,49%, suivi par l'extrait des alcaloïdes avec une valeur de 10,48%, l'extrait brut acétone/eau 7,52%, le rendement le plus bas est celui de l'extrait des flavonoïdes avec une valeur de 1,20% et extrait des tanins 1,18%.
- L'étude de l'activité antiradicalaire, par le test DPPH, varie d'un extrait à un autre, avec une IC_{50} de 0.31 mg/ml pour l'extrait brut méthanol/eau suivi par 3.56 mg/ml pour l'extrait des flavonoïdes, 3.70 mg/ml pour l'extrait brute acétone/eau, 3.95 mg/ml pour l'extrait des tanins, 5.48 mg/ml pour l'extrait des alcaloïdes.

Bien que les résultats présentés dans cette étude apportent des éléments concernant les possibilités d'utiliser ces plantes dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire ou cosmétique, d'autres études doivent être menées :

- Détermination des métabolites primaires, et secondaires des racines et des feuilles de *Carlina acaulis*.
- Une chromatographie par HPLC dans le but d'identifier et de caractériser les différents composés phénoliques existants dans la plante.
- Evaluation du potentiel antioxydant, in vitro, des extraits des feuilles et des racines de *Carlina acaulis* avec d'autres méthodes.
- Extraction des huiles essentielles des racines et des feuilles de *Carlina acaulis*, et obtenir des informations sur leur pouvoir antioxydant, antimicrobienne, anti-

inflammatoire..., par des essais de laboratoire, demeure une exigence très importante pour leur utilisation future.

- Détermination de pouvoir antibactérien de la plante et réalisation d'autres tests biologiques : anti tumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ais M. (2016). Contribution à l'étude d'évaluation du pouvoir antioxydant des racines de *Carlina acaulis* L.(Tafgha) de la région de Tlemcen. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12, 1496- 1547.
- Aruoma O.I. (1997). Scavenging of hypochlorous acid by carvedilol and ebselen in vitro, *Gen Pharmacol*, 28 (2), 269-272.
- Benderitter M., Vincent-Genod L., Pouget J.P., Voisin P. (2003). The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: a multiparameter investigation, *Radiat Res*, 159:471-483.
- Benoît Bock. (2009). Base de Donnée Nomenclaturale de la Flore de France; Nomenclature, taxonomie, synonymie, correspondances.
- Benzie I. F. F., Strain J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of antioxydant power : the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239 :70-76.
- Bernard B. (2001).plantes médicinales du monde, réalité et croyances, 105-107,349-350.
- Blahova B., Brands Tererova E. et Fabulova A. (2004). Isolation and determination of phenolic compounds in fruit-green tea. *Journal of liquid chromatography And Related Technology*, 27(1), 31-48.
- Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arschide (*Arachis hypogaea* L.). 35-45.
- Bonner FT, Burton JD, Grigsby HC (1974). *Gleditsia* L., Honeylocust, In: Schopmeyer CS, Tech Coords Seeds of Woody Plants in The United States, Agric Handb 450, Washington DC: USDA Forest Service.

Bouchriha A. et Habar A. (2009). Evaluation du pouvoir antioxydant des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes de *Carlina acaulis* (Tafgha) et *mesembryanthemum crystallinum* (Fravh n'da) de la région de Tlemcen. Mémoire d'Ingénieur d'état en Biologie. Université de Tlemcen.

Bozin B., Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic L., Simin N., Sa-mojlik I., Couladis M. (2008). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Bekker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* scheele essential oils. *Molecules*. 13(9):2058–2068

Brand-williams W ; Cuvelier M. E ; Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 20 :25-30.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France : Lavoisier. 278-279

Caporal L.M. (1995). Chemical ecology: a new front from pharmaceutical industry. *Proc. North. Acad. Sa. USA*; 92, 75- 82.

Cécile L. (2004). *Les fleurs des montagnes* Edit Jean-Paul Gisserot. 30.

Chalchat JC, (1996). Study of anti-dermatophyte effect of ten herbal methanolic extract J *Kerman Med Univ Sci*, 3 (3) (1996). 115–122

Chan S.W., Lee C.Y., Yap C.F., Wan Aida W.M. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from liman purut (*Citrus hystrix*) peels. *Int. Food Res. J*, 16 :203-213

Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. 17(10): 1195-1214.

Da Silva Pinto M., Maria Lajolo F. et Inés Genovese M. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*. 107: 1629-1635.

Dauguet J.C., Foucher J.P. (1982). Les flavonoides de *arbutus unedo* L. (Ericacées). *Plantes médicinales et phytothérapie*, 16 (3) : 185-191.

Davies MJ (2003). Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*. 305(3): 761-770.

De Pooter H.L., De Buyck L.F., Schamp N.M., Aboutabl E., De Bruyn A. et Husain S.Z. (1986). The volatile fraction of *Senecio glaucus* subsp *Coronopifolius*. *Flavour and Fragrance Journal*. 1(4-5) : 159-163.

Eberhard T, Robert A, Annelise L.(2005.) *Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.

Farag R.S., Daw Z.Y., ewedi F.M. et Baroty G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52 : 665–667

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

Florkin, Marcel. (2000). *Comprehensive Biochemistry*, Elsevier. 216

Foti M.C., Daquino C., Geraci C. (2004). Electron- Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical assay, *Journal Org Chem*. 69 : 2309- 2461.

Galan P., Preziosi P., Bertrais S., Mennen L., Malvy D., Roussel A.M., Briancon S., Favier A., Briancon S. (2004). The SU.VI.MAX study : a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med*, 164 :2335-2342.

Garnier G., Bézanger L. et Debraux G. (1961). Ressources médicinales de la flore Française Tome 1, Paris VIème, Vigot Frères.

Gonzalez-Gomez J.C, Ayala-Burgos A and Gutierrez-Vazquez E. (2006). Determination de fenols totales y taninos condensados en especies arboreas con potencial forrajero de la Region de la Tierra Caliente de Michoacan, México. *Livestock Res. Rural Develop.* 18 Art. 152.

Grouzis M., Heim G et Berger A. (1977). Croissance et accumulation de sels chez deux salicornes annuelles du littoral méditerranéen. *Ecol. Plant.*12 (4) : 307-322.

Guignard J.L. (2000). *Biochimie vegetal*, 2ème edition; Paris, 171- 174.

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

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8): 253-265.

Halliwell B. et Gutteridge J.M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. 3rd edition.

Han X., Shen T., Lou H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci.* 8(9) : 950-988.

Harborne J.B. (1988). *The flavonoids, Advances in research since 1980*. Chapman & Hall. London.

Hayouni E.A, Abedrabba M, Bouix M et Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vivo* of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Junipers phoenicea L.* fruit extracts. *Food chemistry.* 105: 1126-1134.

Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6

Huang D., Ou B. Prior R.I. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric.Food Chem*, 53 :1841-1856

Jacob Bear.(1972) .Dynamics of Fluids in Porous Media, New York, Elsevier Publishing Co 764.

Khan NI, Naz L, Yasmeen G (2006). Obesity. An independent risk factor for systemic oxidative stress.

Pak. J. Pharm. Sci. 19: 62-65

Koechlin-Ramonatxo C. (2006) Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 20, 165-177

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect de la nutrition dans les maladies respiratoires *nutrition clinique et métabolisme*. 20 : 165-177.

Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A., Evstatieva, L.N. (2001). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem Anal*, 13 : 08-17

Laguerre M., Lépez-Giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *Fondamental*, OL, 14 (5) : 278-292.

Le Cren F. (2004). Les antioxydants, la révolution du XXIe siècle, 2eme édition.

Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, 51 : 7292-7295.

Lehucher-Michel M P, Lesagards J F, Delubaco O, Stocker P, Durand P, Prost M (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*. 30-1076-1081.

Lin, J. (2014). Antibiotic growth promoters enhance animal production by targeting intestinal bile salt hydrolase and its producers. *Front. Microbiol*.

Malgalhaes L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, 613 : 1-19.

Marc Fr., Davin A., Deglène-Benbrahim L., et Ferrand C. (2004) Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S: médecine sciences*. 20(4), 458-463.

Max W., Robert A. (1999). *Plantes thérapeutique, tradition pratique officinale, Science et thérapeutique*, 101-104.

Meusel. H , A. Kästner,(1990). *Lebensgeschichte der Gold-undSilberdisteln, Monographie der mediterrän-mittel europäischen Compositen-Gattung Carlina, Band I, Springer-Verlag, Wien, New York, 1990.*

Milardovic S., Ivekovic D., Grabaric B.S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical, *Bioelectrochemistry*, (68) : 175- 265

Mohammedi, Z., (2006). *Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huiles Essentielles et Flavonoïdes de quelques Plantes de la région de Tlemcen*, Thèse de Magistère en Biologie Option: Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse, 2006, 140. ♣ Mompon, B., Lemaire,

Ou B.X., Hampsch-Woodill M., Flanagan J., Deemer E.K., Prior R.L., Huang D.J. (2002). Novel Fluorometric Assay for Hydroxyl Radical Prevention Capacity Using Fluorescein as the Probe, *Journal Agric Food Chem*, 10 (50) : 2772-2777.

Oyedeji O., Olutiola P.O., Owolabi K., Adejo KA. (2011). Multiresistant faecal indicator bacteria in stream and well waters of Ile -Ife city, Southwestern Nigeria: Public health implications. *J.Public Health Epidemiol.*3(8):371-381.

Palmer R.M.J, Rees D.D., Ashton D.S et Moncada S. (1988), « L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation ». *Biochemical and Biophysical Research communications*, vol.153, n°3, . 1251 – 1256.

Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*, (50) : 6882– 90.

Paris R. R. et Moyse H. (1971). *Précis de Matière Médicale, Tome III.*, Paris, Masson, 1971.

Perez C., Sanchez J., Marmol F., Puig-Parellada P., Pouplana R. (2007). Reactivity of Biologically Important NSAID Compounds with Superoxide O₂⁻, nitric oxide .NO and Cyclooxygenase Inhibition, *QSAR Comb Sci*, 26 (3) : 368-377.

Pincemail J, Siquet J, chapel JP, Cheramy-Bien JP, Paulssen G, chantillon AM, Christians G, Gielen J, Limet R, Defraigne JO (2000). Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les Ldl oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann. Biol. Clin.* 85: 178-185.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001). *Antioxydants in food, Practical applications.* Woodhead Publishing Limited.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001). *Antioxydants in food, Practical applications.* Woodhead Publishing Limited.

Poortmans J, Boisseau N. (2003). Biochimie des activités physiques et sportives 2eme edition. 480p.

Popovici, C., Saykova, I. & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4, 25-39.

Rawel H.M., Meidtnr K.et Kroll J. (2005). Binding of selected phenolic compounds to proteins. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 53 : 4228-4235.

Ribeiro M., Bernardo-Gil M., Esquivel M., Melissa L. (2001). Study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids*, 21: 51-60.

Roginsky V., Lissi E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chem*, 92 (2) : 235-254.

Sanchez-Moreno C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*.

Sarni-Manchado P; Cheynier V. Les polyphenols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris 2006, 2-10.

Schaal S. (2010). Les plantes medicinales des pelouses calcaires de la reserve naturelle de Montenach (57). *Université Henri Poincare Nancy* 1. 8, 85-86.

Schauenberg P. et Paris F. (1977). *Guide des plantes médicinales*, Milan, Delachaux et Niestlé.

Scherer R., Godoy H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem*, 112: 654–658.

Schlienger JL, Luca F, Vinzio S, Pradignac A (2009). Obésité et cancer. *Obesity and cancer*.30: 776-782.

Seigler D.S., Seilheimer S., Keesy J., Huang H.F. (1986). Tanins from four common Acacia species of texasand northeastern mexico. *Economic botany*, 2(40) :220-232.

Semeler FW, (1889). Vincent Van Gogh's A Cornfield, with Cypresses, John Leighton, Anthony Reeve, Ashok Roy and Raymond White, National Gallery Technical Bulletin, 1989, Volume 11, pp 42–59.

Shimizu H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, 35 (9) : 2072-2077.

Singleton V.L., Orthofer R., et Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Method.Enzymol.* 299: 152-178.

Soares A.F. (2005). Effet du Stress Oxydant sur le Fonctionnement des Adipocytes: Adiponectines et Prostaglandine, Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 133.

Sofowora A. (1993). *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa*. Spectrum Books Ltd., Ibadan, Nigeria. 191-289.

Suhaj, M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 531–537.

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

Tadhani, M.B., Patel, V.H., et Subhash, R., 2007. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20, 323-329.

Trease E; Evans W.C. (1987). Pharmacognosy. Billiare. Tindall. Londone 13 th Edn : 61- 62.

Tsao R., Yang R., Young J.C. (2003). Antioxidant Isoflavones in Osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid, Journal Agric Food Chem, 51 (22) : 6445-6451.

Valenzuela AB., Nieto SK. (1996). Synthetic and natural antioxydants : food quality protectors. Grasas y Aceites, 47(3) : 186-196.

Van Der Werf R. (2013). Evaluation du pouvoir antioxydant des aliments. Recherche de meur effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète. Université de Strasbourg. 18-20.

Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S. (2009) Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. Bulletin UASVM Agriculture. 66(2), 225- 229.

Virost S. (2004). Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' $\alpha\beta$ - cristalline cristalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1.

Vriesman L , Zach, A., Kominski, G.,, et al. 1997, Volume 1: User's guide. Office of Statewide Health Planning and Development (OSHPD). Sacramento, CA.

Walker, H. G. ; Kohler, G. O. ; Garrett, W. N., 1982. Comparative feeding value of alfalfa press cake residues after mechanical extraction of protein. J. Anim. Sci., 55 (3)

Wichtl M (2002). Teedrogen und Phytopharmaca. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Germany, 114-115.

Wilkinson F, Helman WP, Ross AB. Rate constants for the decay and reactions of the lowest electronically excited singlet state of molecular oxygen in solution. An expanded and revised compilation. J Phys Chem Ref Data. 1995;24.

Yen GC., Hung CY. (1994). Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Food Research International*, 33(6) :487-492.

Yu R, Mandlekar S, Tony kong AN (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity : induction of apoptosis through direct release of cytochrome c. *Molecular pharmacology*, 58: 431-437.

Yu Z et Dahlgren R.A. (2005). Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage. *J. chem. Ecol.* 26: 2119-2140.

Zazzo JF (2002). Stress oxydant au cours des états inflammatoires aigus et des états d'agression : implications pour la pratique clinique. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 268-274.

ANNEXES

Annexe 01 : Préparation des réactifs

1. Réactif de Mayer :

Mélange 01 : dissoudre 1.358g de **HgCl₂** dans 60ml d'eau distillée.

Mélange 02 : dissoudre 5g de **KI** dans 10ml d'eau distillée.

On rassemble les deux mélanges (01 et 02) puis on ajuste le volume total à 100ml d'eau distillée.

2. Réactif de Wagner :

Dissoudre 2g de **KI** et 1.27g d'**I₂** dans 75 ml d'eau distillée.

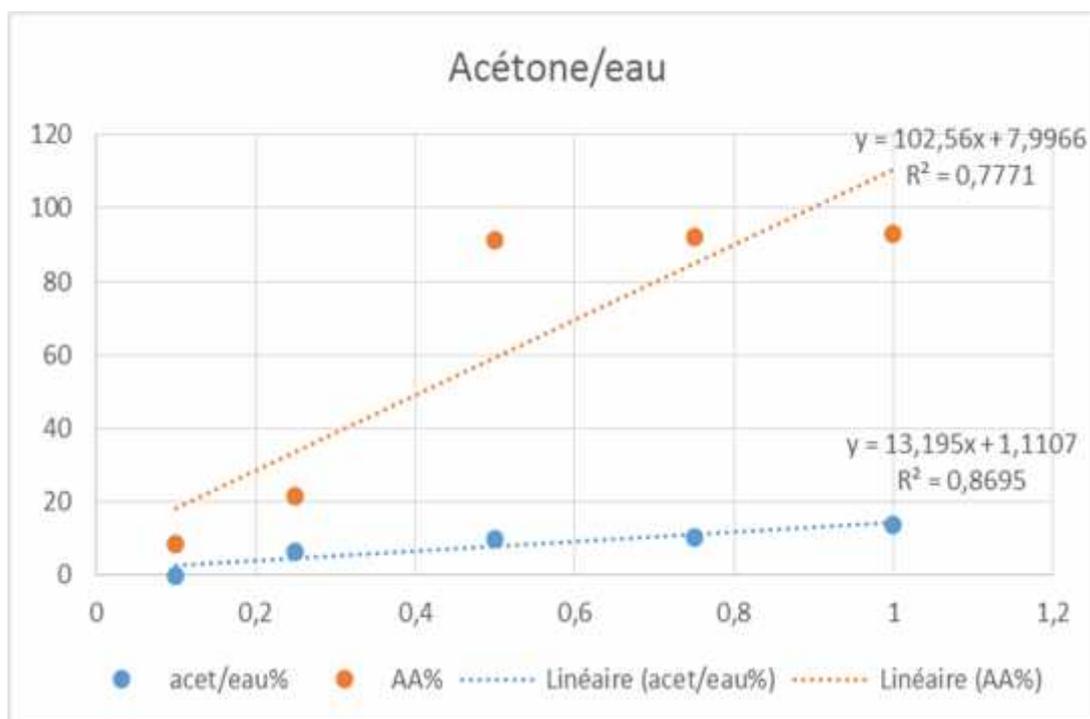
Ajuster le volume total à 100 ml d'eau distillée.

Annexe 02: Résultats de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait brut acétone/eau

	1	0,75	0,5	0,25	0,125
E1	0,717	0,744	0,792	0,778	0,837
E2	0,729	0,744	0,75	0,767	0,831
E3	0,739	0,755	0,799	0,809	0,836
Moyenne	0,734	0,749	0,795	0,793	0,836
% DPPH	11,566	9,76	4,216	4,457	-0,722

DO DPPH = 0,897

DO Contrôle=0.837

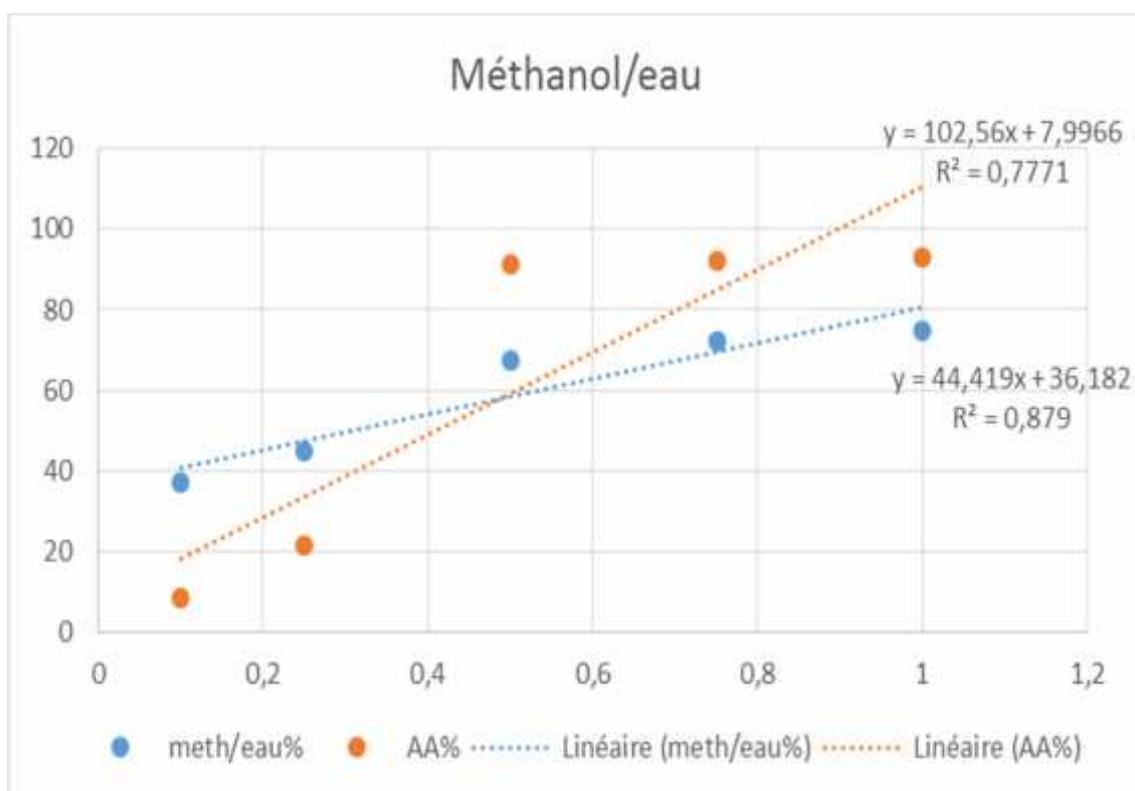


Annexe 03: Résultats de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait brut méthanol/eau.

	1	0,75	0,5	0,25	0,125
E1	0,454	0,515	0,098	0,975	1,131
E2	0,438	0,61	0,525	0,955	0,869
E3	0,343	0,47	0,63	0,991	1,113
Moyenne	0,446	0,492	0,577	0,983	1,122
% DPPH	74,915	72,328	67,547	44,713	36,895

DO DPPH = 0,632

DO Contrôle = 1,778

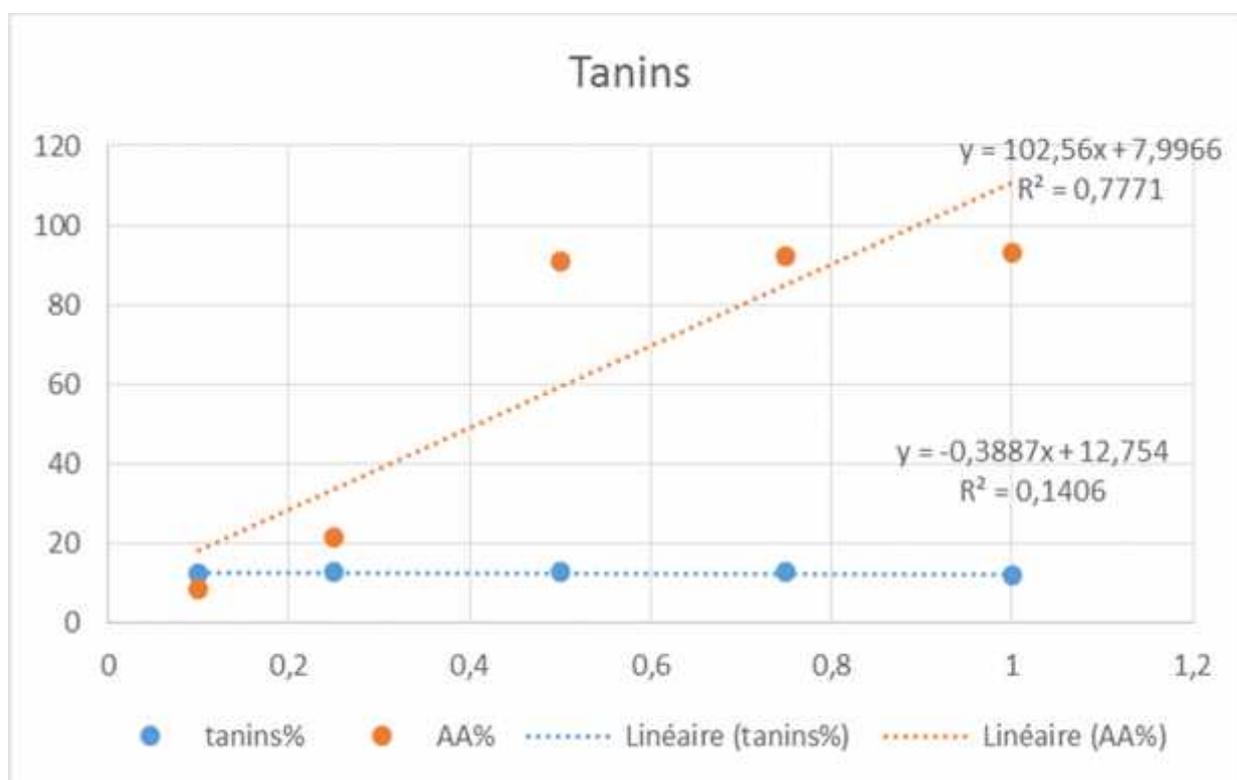


Annexe 04: Résultats de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait sélectif des tanins.

	1	0,75	0,5	0,25	0,125
E1	0,569	0,571	0,562	0,564	0,56
E2	0,578	0,577	0,545	0,568	0,563
E3	0,571	0,564	0,573	0,566	0,566
Moyenne	0,57	0,567	0,567	0,567	0,561
% DPPH	-2,517	-1,978	-1,978	-1,978	-0,899

DO DPPH = 0,646

DO Contrôle = 0,556

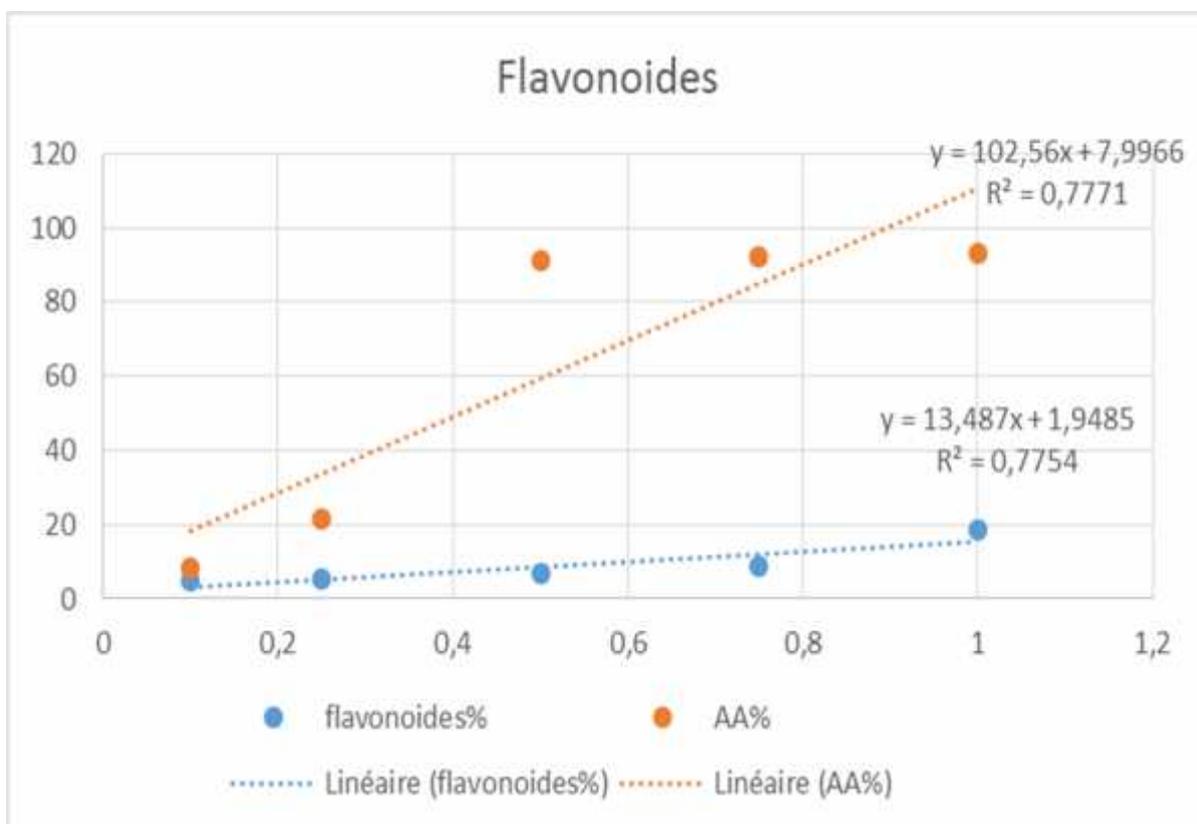


Annexe 05: Résultats de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait sélectif des flavonoïdes.

	1	0,75	0,5	0,25	0,125
E1	0,823	0,823	0,838	0,834	0,829
E2	0,733	0,845	0,846	0,83	0,853
E3	0,84	0,849	0,758	0,852	0,855
Moyenne	0,831	0,847	0,842	0,832	0,854
% DPPH	7,77	6	6,54	7,65	5,21

DO DPPH = 0,893

DO Contrôle = 0,901

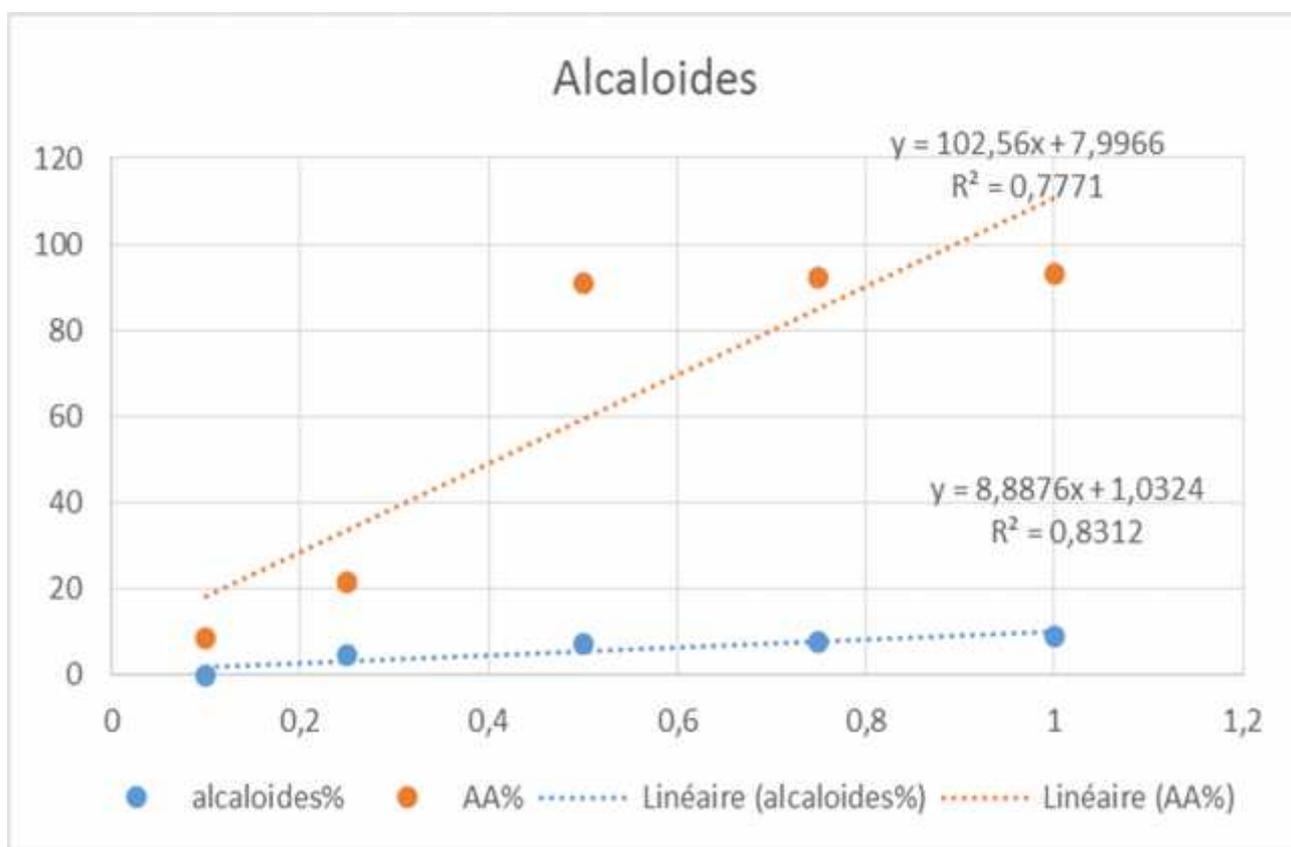


Annexe 06: Résultats de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait sélectif des alcaloïdes.

	1	0,75	0,5	0,25	0,125
E1	0,825	0,825	0,823	0,811	0,055
E2	0,812	0,848	0,838	0,838	0,049
E3	0,84	0,828	0,845	0,828	0,055
Moyenne	0,84	0,82	0,84	0,82	0,055
% DPPH	5,9	8,12	5,9	8,12	93,31

DO DPPH = 0,8897

DO Contrôle = 0,893



Résumé

De nombreuses études s'intéressent, de plus en plus, aux effets thérapeutiques des plantes médicinales. Ces vertus sont dues essentiellement aux activités des métabolites secondaires dont les composés phénoliques occupent une grande place. Dans ce contexte on s'est intéressé à l'étude phytochimique en particulier les composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et les tanins) ainsi que les alcaloïdes des racines de *Carlina acaulis* de la région de Tlemcen : L'étude révèle une forte teneur en eau estimée à 78.55%. Le meilleur rendement est celui de l'extrait brut méthanol/eau estimée à 15.49%, l'extrait sélectif des alcaloïdes avec 10,48%, l'extrait brute acétone/eau avec 7.52% et loin derrière l'extrait sélectif des flavonoïdes estimé à 1.20% et enfin 1.18% pour l'extrait des tanins. L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits avec la méthode du piégeage du radical libre DPPH a révélé que l'extrait brut méthanol/eau à une meilleure activité par rapport aux autres extraits. Mais comparé à celle de l'acide ascorbique, tous les extraits présentent un pouvoir antioxydant faible.

Mots clés : Racine, *Carlina acaulis*, tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, activité antioxydante, DPPH, région de Tlemcen.

Abstract

Many studies are increasingly interested in the therapeutic effects of medicinal plants, these virtues are due mainly to the activities of secondary metabolites of which phenolic compounds occupy a large place. In this context, the phytochemical study was studied, in particular the phenolic compounds (total polyphenols, flavonoids and tannins) and the alkaloids of the roots of *Carlina acaulis* in the Tlemcen region. The study reveals a high water content estimated at 78.55%. The best yield is 15.49% methanol / water crude extract, selective extract of alkaloids with 10.48%, crude extract acetone / water with 7.52% and far behind the estimated selective extract of flavonoids To 1.20% and finally 1.18% for the extract of the tannins. The study of the antioxidant activity of the various extracts with the method of trapping the free radical DPPH revealed that the crude extract methanol / water has a better activity compared to the other extracts. However, compared with ascorbic acid, all extracts have a low antioxidant power.

Key words : Root, *Carlina acaulis*, tannins, flavonoids, alkaloids, antioxidant activity, DPPH, Tlemcen region

ملخص :

تركز العديد من الدراسات، على نحو متزايد، والآثار العلاجية للنباتات الطبية. ويرجع ذلك أساسا إلى أنشطة المرببات الثانوية الفينول تلوح في الأفق كبيرة هذه الخصائص. وفي هذا السياق كان هناك اهتمام في الدراسة الكيميائية النباتي وخصوصا المرببات الفينولية (مجموع البوليفينول، الفلافونويد والعفص) وقلويدات جذور *Carlina acaulis* منطقة تلمسان: توصلت الدراسة إلى نسبة عالية من المياه تقدر 78.55%. أفضل أداء هو ان من الميثانول استخراج النفط الخام / المياه تقدر 15.49%، واستخراج انتقائية من قلويدات مع 10.48%، واستخراج الخام الأسيتون / الماء مع 7.52% وراء استخراج انتقائية من الفلافونويد يقدر إلى 1.20% و 1.18% ثم لاستخراج العفص. كشفت دراسة النشاط المضاد للأسدة لمستخلصات مختلفة مع طريقة محاصرة DPPH الجذور الحرة أن مستخلص الميثانول الخام / المياه النشاط أفضل مقارنة مع مقتطفات أخرى. ولكن مقارنة بما كان عليه من حمض الأسكوربيك، جميع العينات يحمل قوة مضادة للأسدة منخفضة.

كلمات البحث: الجذر، *Carlina acaulis* والعفص والفلافونيدات، قلويدات، والنشاط المضادة للأسدة، DPPH، منطقة تلمسان