



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaïd - TLEMCEM

Faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers

Département de BIOLOGIE

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité

Biologique

MEMOIRE

En vue de l'obtention du
Diplôme de **MASTER**
En **Sciences Biologiques**

Option :
Biochimie

Présente par :
MAHMOUDI Roumaïssa

Thème :

***Etude de l'activité antioxydante de quelques extraits des
Cynara scolymus***

Soutenu le 11/06/2025, devant le jury :

Président :	Mr AZZI Rachid	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur :	Mme MEDJDOUB Houria	MCA	Université de Tlemcen
Encadrent :	Melle MEZOUAR Dounia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2024/2025

Remerciement

C'est dur de trouver les bons mots pour dire combien je suis reconnaissant aujourd'hui. Ce travail est le résultat d'un chemin plein de doutes, d'efforts, mais surtout de belles rencontres et de soutiens précieux.

Avant toute chose, je remercie à ALLAH, qui m'a accordé la capacité, l'énergie et le courage nécessaires pour commencer et achever ce mémoire.

*Je tiens tout particulièrement à remercier mon encadreur, **Dr MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences classe A, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen, pour son soutien indéfectible, ses orientations précieuses et ses conseils éclairés qui ont grandement contribué à la réussite de ce travail.*

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude envers les membres du jury pour l'attention qu'ils ont accordée à ma recherche en acceptant d'évaluer mon travail et de l'améliorer par leurs suggestions.

***Mr AZZI Rachid**, Professeur au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

***Mme MEDJDOUB Houria**, Maître de conférences classe A, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail*

Je remercie également ma famille et mes proches, pour leurs mots rassurants, leurs gestes réconfortants et leur indéfectible soutien dans les moments de doute, vous avez su rendre ce parcours plus doux.

J'aimerais remercier de tout mon cœur Melle MIMOUN Amira, Doctorante à l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse au laboratoire, sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements, tu as été une source d'inspiration et de motivation pour moi

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents, Pour leur amour, leurs sacrifices, leur gentillesse et tous les efforts qu'ils ont déployés tout au long de ma vie, je demande à Dieu de prolonger leur vie et de leur accorder santé et bien-être. J'espère que ce travail est l'expression de ma totale gratitude et de mon profond respect et qui est le fruit de vos efforts et de vos sacrifices.

*A mes chères sœur, **Hanane** et **Drifa**, et mon frère **Younes** qui étaient toujours à mes côtés à toutes les étapes de ma vie, à ceux qui ont partagé mes joies et mes peines avec moi, merci pour votre encouragement, votre conseil, votre soutien et pour votre présence réconfortante.*

*A mes chères copines **Chaïmaa**, **Amína**, **Zahíra** et **Hadíl** qui ont été mes piliers dans les moments difficile et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, vous êtes les meilleurs.*

*A mes neveux et mes nièces et tous la petite famille **MAHMOUDI**.*

A tous personne qui ont participé près ou loin pour de la réalisation de ce travail et qui m'ont soutenue, encouragé et rendu service dans cette période, Merci à tous et à toutes.

Liste des figures :

Figure 1 : Photo de *Cynara scolymus*

Figure 2 : Représentation qui montre l'équilibre oxydant /antioxydant

Figure 3 : Sources des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène

Figure 4 : Filtration de l'extrait brut (photo personnelle)

Figure 5 : Evaporation de l'extrait par Rotavapeur (photo personnelle)

Figure 6 : Extraction liquide-liquide de la fraction (photo personnelle)

Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Figure 9 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante totale

Figure 10 : Piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique

Figure 11 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait eau/éthanol

Figure 12 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Composés bioactifs avec des exemples

Tableau 2 : Rendement des deux extraits de *Cynara scolymus*

Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques des deux extraits

Tableau 4 : Valeurs de CI_{50} de l'acide ascorbique et des deux extraits de *Cynara scolymus*

Listes des abréviations :

AC : Absorbance du contrôle

AE : Absorbance de l'extrait

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ARN : acide ribonucléique

CAT : capacité antioxydante totale

CAT : catalase

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

DHA : Déhydro-L-ascorbique

DPPH : Radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FeCl₃ : Chlorure de fer

GSH-Px : Glutathion peroxydase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HCl : Acide chlorhydrique

Mo : Molybdène

MoO₄⁻² : Molybdate

NADH : Nicotinamide adénine di nucléotide

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NO : Oxyde d'azote

O₂ : Oxygène moléculaire

O₂•⁻ : Radical super oxide

OH : Radical hydroxyle

PI : pourcentage d'inhibition

R : Rendement

ROO • : Radical peroxyde

ROOH: Peroxyde alkyle

SOD : Superoxyde dismutase

v/v : Volume/Volume

µg EAG/mg d'extrait : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

µg EC/mg d'extrait : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait

الملخص

نبات *colymusCynara s*، هو عضو في العائلة النجمية، وهو نبات نموذجي صالح للأكل في منطقة البحر الأبيض المتوسط. ويوجد بكثرة في الجزائر. وهو غني بالمكونات النشطة بيولوجياً ويستخدم في الطب التقليدي.

في هذا العمل، قمنا بتحضير مستخلصين من نبات *Cynara scolymus* بهدف تسليط الضوء على بعض المركبات الثانوية وقياس كميتها وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة. تم إعداد مستخلص خام عن طريق النقع لمدة 48 ساعة في خليط الماء والإيثانول (70/30: ح/ح) وجزء من أسيتات الإيثيل من مستخلص الإيثانول المائي الخام.

كشفت الدراسة الكيميائية النباتية عن وجود التربينويدات والمركبات المختزلة. أظهرت نتائج الفحوصات الكمية للبوليفينول الكلي والفلافونويد أن جزء أسيتات الإيثيل احتوى على أعلى المستويات حيث بلغ (0.02 ± 201.85 ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك لكل ميلغرام من المستخلص) و(0.06 ± 52.12 ميكروغرام مكافئ حمض الكاتيشين لكل ميلغرام من المستخلص)، على التوالي.

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين مختلفتين. أظهرت القدرة الإجمالية المضادة للأكسدة (CAT) أفضل قدرة مضادة للأكسدة لجزء أسيتات الإيثيل (0.7 ± 35.45 ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك لكل ميلغرام من المستخلص)، وكشف تثبيط جذور DPPH أن جزء أسيتات الإيثيل أظهر أفضل نشاط، حيث بلغ معدل التثبيط (0.04 ± 0.713 IC₅₀) مغ/مل.

يمكننا أن نستنتج أن نبات *Cynara scolymus* يمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة مثيراً للاهتمام بسبب غناه بالمركبات البوليفينولية ويمكن اعتباره مصدراً جيداً للمكونات النشطة بيولوجياً.

الكلمات المفتاحية: *Cynara scolymus*، مستخلص الماء/الإيثانول الخام، جزء أسيتات الإيثيل، CAT، DPPH، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Cynara scolymus appartenant à la famille des Astéracées, est un légume comestible typique de la région méditerranéenne et se trouve abondamment en Algérie. Il est riche en composant bioactifs et il est utilisé en médecine traditionnelle.

Dans ce travail, nous avons préparé deux extraits de *Cynara scolymus* dans le but de mettre évidence certains métabolites secondaires, leur quantification et l'évaluation de leur activité antioxydante. Un extrait brut a été préparé par une macération pendant 48hr dans un mélange eau-éthanol (30/70 : v/v) et une fraction d'acétate d'éthyle à partir de l'extrait brut hydro-éthanolique.

L'étude phytochimique a révélé la présence des terpénoïdes et des composés réducteurs. Les résultats de dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux ont révélé que la fraction d'acétate d'éthyle contient les teneurs les plus élevées avec ($201,85 \pm 0,02 \mu\text{g Eq AG/mg}$ d'extrait) et de ($52,12 \pm 0,06 \mu\text{g Eq C/mg}$ d'extrait), respectivement.

L'activité antioxydante a été déterminée par deux méthodes différentes. La capacité antioxydante totale (CAT) qui montre une meilleur capacité antioxydante de la fraction d'acétate d'éthyle ($35,45 \pm 0,17 \mu\text{g eq acide ascorbique/mg}$ d'extrait), et le piégeage de radical DPPH qui a révélé que la fraction d'acétate d'éthyle présente la meilleure activité, avec une CI_{50} de $0,713 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$.

Nous pouvons conclure que *Cynara scolymus* possède une activité antioxydante très intéressante en raison de sa richesse en composées polyphénoliques et il peut être considéré comme une bonne source des composants bioactifs.

Mots clés : *Cynara scolymus*, extrait brut eau/éthanol, fraction d'acétate d'éthyle, CAT, DPPH, activité antioxydante.

Abstract

Cynara scolymus, a member of the Asteraceae family, is a typical edible vegetable of the Mediterranean region and is abundant in Algeria. It is rich in bioactive components and is used in traditional medicine.

In this study, we prepared two extracts of *Cynara scolymus* with the aim of highlighting certain secondary metabolites, quantifying them and assessing their antioxidant activity. A crude extract was prepared by maceration for 48 hours in a water-ethanol mixture (30/70: v/v) and an ethyl acetate fraction from the crude hydro-ethanolic extract.

Phytochemical analysis revealed the presence of terpenoids and reducing compounds. Total polyphenol and flavonoid assay results revealed that the ethyl acetate fraction contained the highest levels with ($201.85 \pm 0.02 \mu\text{g GAE/mg extract}$) and ($52.129 \pm 0.06 \mu\text{g CE/mg extract}$), respectively.

Antioxidant activity was determined by two different methods. Total antioxidant capacity (TAC) showed a better antioxidant capacity of the ethyl acetate fraction ($35.45 \pm 0.07 \text{ eq ascorbic acid/mg extract}$), and DPPH radical scavenging revealed that the ethyl acetate fraction showed the best activity, with an IC_{50} of $0.713 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$.

We can conclude that *Cynara scolymus* has a very interesting antioxidant activity due to its richness in polyphenolic compounds and can be considered a good source of bioactive components.

Key words: *Cynara scolymus*, water/ethanol crude extract, ethyl acetate fraction, CAT, DPPH, antioxidant activity.

Tableaux de matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Partie Bibliographique	
Chapitre 1: <i>Cynara scolymus</i>	
1) Généralités sur les plantes médicinales :	5
2) Plante étudiée : <i>Cynara Scolymus</i>	5
2.1 Généralités :	5
2.2 Classification botanique :	6
2.3 Description botanique	7
2.4 Composition chimique ..	7
2.5 Activités biologiques	8
Chapitre 2: stress oxydatif	
1. Stress oxydatif.....	11
1.1 Définition	11
1.2 Radicaux libres	11
1.3 Origine des radicaux libres	12
1.4 Antioxydants	12
1.4.1 Antioxydants enzymatiques	13
1.4.2 Antioxydants non enzymatiques	14
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
1) Partie 1 : étude phytochimique :	17
1.1 Matière végétale	17
1.2 Protocole de préparation des extraits de <i>Cynara scolymus</i> :	17
1.2.1 Protocole de préparation des extraits bruts de <i>Cynara Scolymus</i> :	17
1.2.2 Protocole de préparation de la fraction de <i>Cynara scolymus</i> :	18
1.2.3 Rendement	19
1.3 Tests phytochimiques	19

1.3.1	Les alcaloïdes	19
1.3.2	Les tanins	19
1.3.3	Les flavonoïdes	20
1.3.4	Les quinones libres	20
1.3.5	Les anthraquinones	20
1.3.6	Les saponines	20
1.3.7	Les terpénoïdes	20
1.3.8	Les composés réducteurs	21
1.3.9	Les coumarines : fluorescence à l'UV :.....	21
1.4	Dosage des composés phénoliques :	21
1.5	Dosage des flavonoïdes totaux :.....	21
2)	Partie 2 : étude de l'activité antioxydante des extraits de <i>Cynara Scolymus</i> :.....	22
2.1	Capacité antioxydante totale (la CAT) :	22
2.2	Piégeage du radical libre DPPH :	23
Résultats et discussion		
1)	Le rendement :.....	25
2)	Etude phytochimique qualitative	25
3)	Dosages quantitatifs.....	27
3.1	Quantification des polyphénols totaux :	27
3.2	Quantification des flavonoïdes	27
4)	Etudes de l'activité antioxydante des extraits de <i>Cynara Scolymus</i> :	29
4.1	Capacité antioxydante totale (la CAT)	29
4.2	Résultats du piégeage du radical libre (DPPH)	30
Conclusion.....		35

Introduction

Générale

Introduction générale :

Malgré l'évolution de la chimie de synthèse, l'usage des plantes médicinales a su garder une grande importance en raison de leur efficacité dans divers traitements thérapeutiques (**Lazri et al., 2019**).

L'utilisation la plus ancienne de plantes médicinales en tant que traitement remonte à des milliers d'années, et fait partie intégrante de la médecine traditionnelle dans de nombreux pays à travers le monde. Les connaissances empiriques relatives à leurs bienfaits ont été transmises au fil des siècles au sein des communautés humaines. Par ailleurs, les caractéristiques biologiques de nombreuses plantes traditionnellement employées et leurs éléments bioactifs sont de plus en plus étudiées. La méthode traditionnelle de recherche de médicaments naturels basée sur des bioessais, ainsi que les méthodes modernes, soulignent l'importance de la procédure d'extraction comme une phase essentielle dans l'analyse des molécules bioactives dérivées des plantes (**Marrelli, 2021**).

Les plantes renferment diverses molécules ayant la capacité de neutraliser les radicaux libres, notamment les composés phénoliques, les composés azotés, les vitamines, etc.

Ces antioxydants d'origine naturelle ont gagné récemment en popularité grâce à leurs vertus bénéfiques pour la santé, étant un moyen efficace pour éliminer et atténuer l'effet des radicaux libres, sources de stress oxydatif (**Madhvi et al., 2020**).

Les antioxydants naturels ont un rôle crucial dans l'inhibition des réactions d'oxydations en chaîne, en neutralisent les radicaux libre intermédiaires, ce qui participe à la prévention des maladies (**Tan et al., 2018**).

Cynara scolymus ou artichauts, est une plante médicinale reconnue depuis de nombreuses années. C'est une plante herbacée vivace d'origine ancienne, provenant du sud de la Méditerranée en Afrique du Nord. Les artichauts sont largement cultivés à l'échelle mondiale, l'Italie et l'Espagne se distinguent en tant que principaux producteurs au niveau international (**Wang et al., 2003**).

Cynara scolymus représente une source enrichie en composées polyphénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques. Elle a est utilisée en phytothérapie traditionnelle pour le traitement de diverses maladies, pour ces propriétés antioxydants et antibactériennes (**Kheder et al., 2022**). Plus spécifiquement, les bractées de cette plante sont riches en polyphénols et flavonoïdes (**Mohamed et al., 2022**).

Introduction générale

Pour cela, dans notre mémoire nous allons étudier le pouvoir antioxydant de deux extraits de *Cynara scolymus*, l'extrait brut eau/éthanol et la fraction d'acétate d'éthyle. Nous allons utiliser deux méthodes différentes : la capacité antioxydante totale (CAT) et le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Cette étude se divise en trois parties :

- ⇒ La première partie présente une étude bibliographie sur la plante utilisée, le stress oxydatif et les antioxydants.
- ⇒ La deuxième partie inclut le matériel et les méthodes employées dans notre étude.
- ⇒ La troisième partie est consacrée à l'interprétation des résultats obtenu et la discussion.

Partie bibliographique

Chapitre 1 :
Cynara scolymus

1) Généralités sur les plantes médicinales :

Une plante médicinale est une espèce végétale dont un ou plusieurs organes contiennent des substances aux propriétés thérapeutiques ou servant de base à la fabrication de médicaments. L'ensemble de la plante ou certaines de ses parties peuvent ainsi être utilisées pour leurs effets bénéfiques sur la santé (Stéphane et al., 2022).

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel en tant que source de composés actifs pouvant aboutir à la découverte de nouveaux traitements. Elles sont employées aussi bien en médecine conventionnelle qu'en médecine traditionnelle. De plus, leur utilisation s'étend à divers domaines tel que les arômes alimentaires et les cosmétiques (Stéphane et al., 2022).

Les plantes agissent comme des usines chimiques vivantes, produisant une large variété de métabolites secondaires. Ces métabolites sont à l'origine de nombreux médicaments pharmaceutiques commerciaux et de traitements issus de la médecine traditionnelle à base de plantes (Pant et al., 2021).

Parmi ces plantes nous nous intéressons à étudier dans notre mémoire de fin d'étude l'activité de *Cynara scolymus*.

2) Plante étudiée : *Cynara scolymus*

Au Moyen-Orient, on appelle souvent l'artichaut « ardhi chouki », ce qui veut dire « chou de la terre ». Littéralement « épine de terre ». Les mots « Artichaut » en français, « Carciofo » en italien, « Artichoke » en anglais, « Alcachofa » en espagnol et « Artishoke » en allemand, trouvent tous leur début avec le mot arabe « Harsciof », qui veut dire « épine de la terre » (Dridi, 2003).

2.1 Généralités :

Le genre *Cynara*, appartenant à la famille des Astéracées, regroupe plusieurs espèces originaires du bassin méditerranéen. Parmi elles, *Cynara scolymus*, plus connu sous le nom d'artichaut, qui est un légume largement intégré au régime méditerranéen (**figure 1**). La partie principalement consommée est le capitule, qui correspond à l'inflorescence immature de la plante (Eleni et al., 2016).

La tête fleurie comestible est utilisée comme légume et transformée en divers produits à valeur ajoutée, notamment en salade, en confiture, en concentré et en boissons en canette (Zhu et al., 2004).

Ses feuilles sont utilisées dans la médecine traditionnelle européenne depuis l'époque romaine pour leurs propriétés (Zhu et al., 2004).

Ces dernières années, on assiste à un regain d'intérêt pour l'artichaut, notamment pour ses propriétés nutritionnelles et médicinales. Originaire du bassin méditerranéen, elle est cultivée dans le monde entier, notamment pour ses capitules comestibles, riches en composés phénoliques, en fibres, en minéraux et en inuline (Lattanzio et al., 2009).

Cynara scolymus est utilisé depuis l'Antiquité par les Égyptiens, les Grecs et les Romains. Les artichauts sont connus pour leurs propriétés hépatoprotectrices, cholérétiques et hypolipidémiantes. L'Italie reste le premier producteur mondial et cette plante joue un rôle économique et nutritionnel important dans la région méditerranéenne (Lattanzio et al., 2009).



Figure 1 : Photo de *Cynara scolymus* (Zaker et al, 2021).

2.2 Classification botanique :

Cette classification est selon (Goetzl et Le jeune, 2007).

Règne	Plantea
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Cynara</i>
Espèce	<i>Scolymus</i>

2.3 Description botanique :

Les plantes d'artichaut ont de grandes feuilles profondément dentées qui peuvent atteindre 90 cm de longueur et mourir chaque année après la floraison. Ils produisent des tiges florales

robustes et ramifiées et des rosettes de capitules violets. La plante existe à l'état sauvage et cultivé (Sharma et al., 2021).

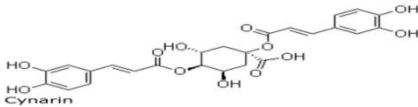

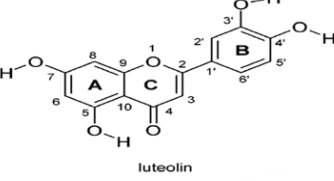
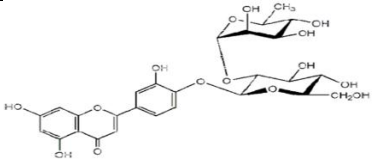
En Amérique du Nord, on retrouve les artichauts dans les zones sauvages. Ils peuvent être cultivés comme légumes. Les bourgeons sont récoltés avant la floraison. Pour être consommés, les bourgeons sont d'abord cuits à la vapeur jusqu'à ce que les bractées soient facilement retirées. Les bractées sont ensuite retirées et mangées, ainsi que la base charnue comestible de chaque bractée (Sharma et al., 2021).

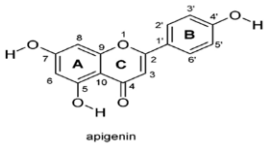
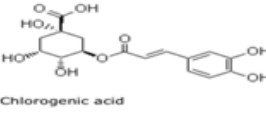
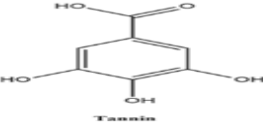
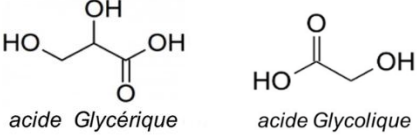
En tant que légume, il atteint 140 à 200 cm de haut, avec des feuilles vertes glauques arquées, profondément lobées, brillantes, de 50 à 80 cm de long (Sharma et al., 2021).

2.4 Composition chimique :

La plante *Cynara scolymus* renferme une grande diversité de composés bioactifs. Le **tableau 1** recapitule les composés actifs identifiés de la plante.

Tableau 1 : Composés bioactifs avec des exemples (Ben Salem et al., 2017 ; Salekzamani et al., 2019)

Familles chimiques	Composés	Exemple	Références
Polyphénols	Cynarine (Acide phénolique)	 Cynarin	(Chinou et Chinou, 2011).
	Acide caféique	 Caffeic acid	(Chinou et Chinou, 2011)
Flavonoïdes	Lutéoline	 luteolin	(Leopoldini et al., 2004)
	Flavone glycoside		(Babu et al., 2014)

	Apigénine	 apigenin	(Leopoldini et al., 2004)
Acides caféoylquiniques	Acide chlorogénique	 Chlorogenic acid	(Chinou et Chinou, 2011)
	Mono et Di-caféoylquinique	Pas de structure	
Tanins et acides organiques	Tanins	 Tannin	(Bigham et al., 2022)
	Acide glycolique et acide glycérique	 acide Glycérique acide Glycolique	(El Roz ,2018)
Glucides	Sucre, inuline	Pas de structure	
Matières minérales	Sels de potassium et magnésium	Pas de structure	

2.5 Activités biologiques :

Les artichauts sont considérés comme une source prometteuse de produits biopharmaceutiques, tels que la lutéoline et l'acide monodicaféoylquinique, qui ont des effets thérapeutiques (Elani et al., 2016).

Comparés à d'autres plantes, les artichauts contiennent des niveaux élevés de polyphénols totaux, les propriétés antioxydants des artichauts seraient liées à leur riche composition phénolique et ils sont considérés comme un aliment fonctionnel (Elani et al., 2016).

De nombreuses recherches ont mis en évidence les propriétés médicinales remarquables de l'artichaut, il possède notamment des effets antioxydants, anticancéreux, antigénotoxiques, hypocholestérolémiants, hépatoprotecteurs et anti-inflammatoires. En outre, il présente également des activités antifongiques et antibactériennes (Elani et al., 2016 ; Abu-Reidah et al., 2013).

Ces bienfaits sont attribués à la richesse de l'artichaut en composés polyphénoliques et en inuline, qui jouent un rôle clé dans ses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques (**Elani et al., 2016**).

En outre, diverses études ont rapporté des activités biologiques de l'artichaut, ses feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés thérapeutiques, antioxydantes et antibactériennes. Ces activités biologiques sont principalement l'effet antioxydant, attribué à l'acide caféoylquinique et ses dérivé (acide chlorogène et cynarine) et aux flavonoïdes (lutéoline 7-O-glucoside) (**Mahmoudi et al., 2013 ; Abu-Reidah et al., 2013**).

Chapitre2 :

Stress oxydatif

1) Stress oxydatif :

1.1 Définition :

Le stress oxydatif est un trouble fonctionnel des cellules vivantes induit par un déséquilibre de l'équilibre pro-oxydant/antioxydant (**figure 2**). Cet équilibre dynamique fait partie intégrante de tous les organismes aérobies, et est essentiel au maintien des niveaux de facteurs oxydatifs qui n'endommagent pas les cellules. Parmi ces facteurs, les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (ARN), qui sont les molécules les plus connues (**Moniczewski et al., 2015**).

Le stress oxydatif a son importance surtout dans les maladies qui viennent avec l'âge (**Conti et al., 2016**).

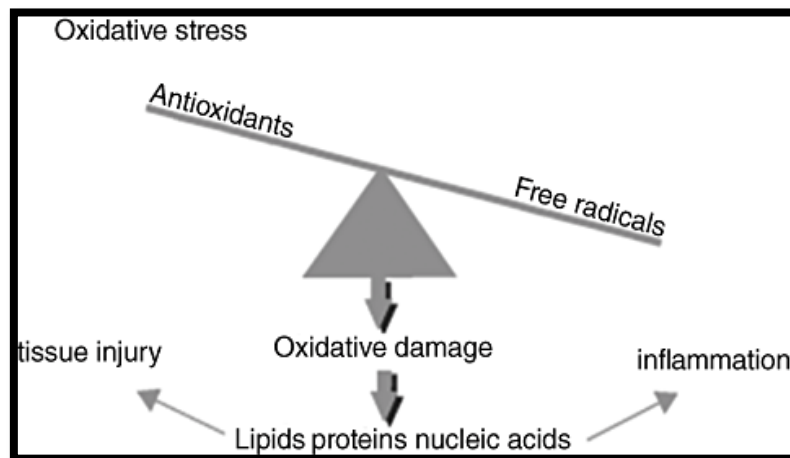


Figure 2 : Représentation qui montre l'équilibre oxydant /antioxydant (**Ristovski et al., 2012**)

1.2 Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des molécules ou des fragments moléculaires, qui contiennent des électrons non appariés dans leurs orbitales atomiques ou moléculaires. Ils peuvent être aussi des espèces réactives simples de l'oxygène et d'autres espèces de l'oxygène, y compris le peroxyde d'hydrogène, qui sont des fractions hautement réactives. Ces molécules sont produites par les cellules pendant la respiration et la fonction immunitaire à médiation cellulaire.

Ils sont produits naturellement par l'organisme car ils jouent un rôle important dans de nombreuses fonctions cellulaires (**Lalhminglui et Jagetia, 2018**).

1.3 Origine des radicaux libres :

Les radicaux libres sont générés par divers mécanismes physiologiques. A doses raisonnables, ils sont bénéfiques pour l'organisme, mais la production peut devenir excessive ou conduire à un phénomène de toxicité exogène. Les organismes peuvent contrer la production de ces substances en excès par divers systèmes antioxydants (Favier, 2003).

Le stress oxydatif (Figure 3) peut résulter de la génération d'un grand nombre de radicaux libres endogènes, activer les macrophages polymorphonucléaires, les cellules endothéliales ou les mitochondries exposées à des générateurs environnementaux (soleil, radioactivité, pollution atmosphérique, tabac, alcool, ...) (Favier, 2006).

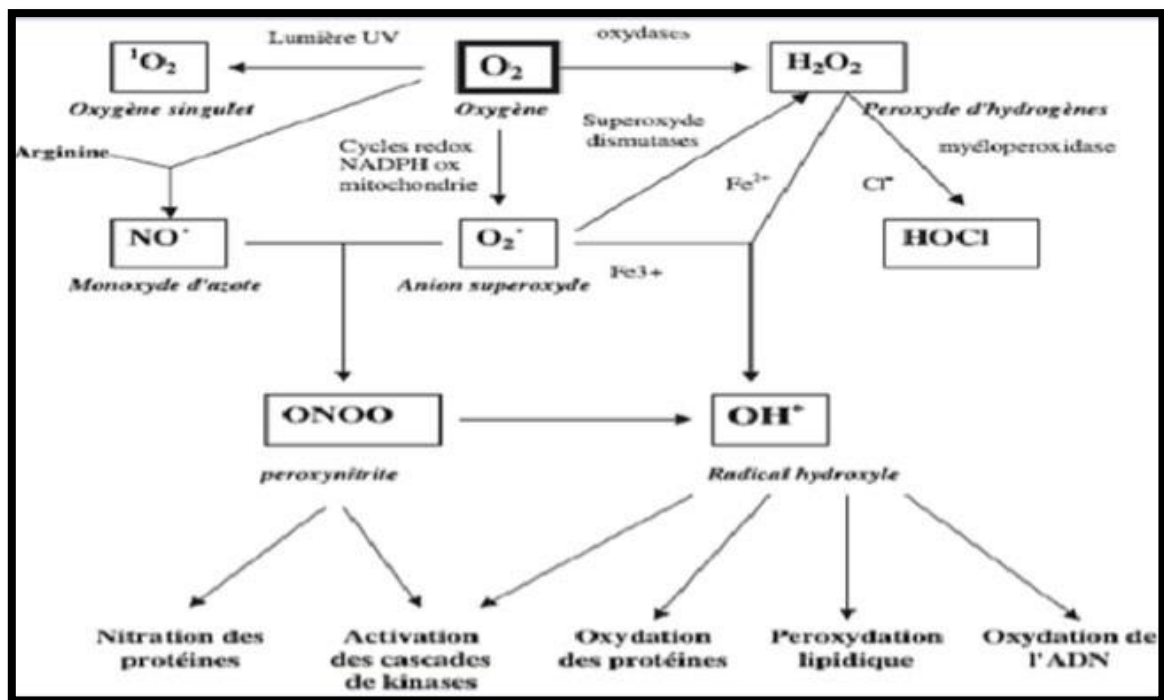


Figure 3 : Sources des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

1.4 Antioxydants:

Les antioxydants sont des composés qui peuvent ralentir le processus d'oxydation ou inhiber la propagation des réactions des radicaux libres pour protéger les cellules humaines (Teh et al., 2014).

Ils ont pour fonctions de piéger les radicaux libres, de réduire leurs actions, d'inhiber la peroxydation lipidique et d'éliminer l'oxygène simple (Teh et al., 2014).

Les antioxydants sont cruciaux pour la santé humaine, la prévention et le soin des maladies en raison de leur capacité à diminuer le stress oxydatif (Munteau et Apetrei, 2021).

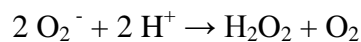
Les antioxydants sont des substances qu'elles soient présentes en très petites quantités dans les aliments ou dans les corps humains, inhibent, régulent ou empêchent les processus d'oxydations responsables de la dégradation de la qualité alimentaire ou de l'émergence et l'avancement des maladies (Munteau et Apetrei, 2021).

1.4.1 Antioxydants enzymatiques :

➤ Superoxyde dismutase (SOD) :

Elle est caractérisée par sa capacité à convertir les radicaux superoxydes (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène, dans la plupart des organismes aérobies, ainsi que dans certains organismes non aérobies (AL-Aloosy et al., 2019).

Étant donné que les radicaux superoxydes sont les premiers radicaux libres générés par la réduction de l'oxygène dans de nombreux systèmes biologiques, la SOD est considérée comme la première ligne de défense des plantes contre le stress oxydatif et sa réduction (AL-Aloosy et al., 2019).



➤ Catalase (CAT) :

La catalase (CAT) est retrouvée dans toutes les cellules végétales et animales, ainsi que dans les bactéries. Elle empêche l'accumulation de peroxyde d'hydrogène nocif, convertissant ainsi H_2O_2 en O_2 , ce qui est nécessaire à l'élimination des ROS toxiques dans des conditions de stress (AL-Aloosy et al., 2019).

Cette enzyme est essentielle pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène issu de l'oxydation des acides gras, de la photorespiration et des peroxydes produites par la dégradation des purines (AL-Aloosy et al., 2019).

➤ Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (Gpx/GR) :

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme antioxydante. Elle permet la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des hydroperoxydes lipidiques, favorisant ainsi la détoxification cellulaire (Ahmed et al., 2010).



1.4.2 Antioxydants non enzymatiques:

Les antioxydants non enzymatiques sont des petites molécules neutralisent les ROS (molécules dérivées d'un processus d'oxydo-réduction), grâce à un processus appelé piégeage des radicaux libres, qui agit en interrompant la réaction en chaîne des radicaux libres (**Nimse et Pal, 2015**).

Les antioxydants non enzymatiques comprennent la vitamine C, la vitamine E, les polyphénols végétaux, les caroténoïdes et le glutathion.

Ce groupe d'antioxydants est constitué de plusieurs composés qui réagissent directement ou indirectement avec les ERO (espèces réactives de l'oxygène) (**Nimse et Pal, 2015**).

➤ **Vitamine C :**

L'acide ascorbique agit en tant qu'agent réducteur et chélateur sous la forme d'acide déhydro-L-ascorbique (DHA), ce qui lui permet de réagir directement avec les radicaux libres et de neutraliser le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Bensakhria, 2018**).

➤ **Glutathion :**

Il sert de cofacteur pour l'enzyme GPx. Il s'agit d'un tripeptide naturel. Le glutathion, en tant que cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes (GPx), favorise la réduction des protéines oxydées par leur conjugaison avec les espèces électrophiles, conformément aux réactions suivantes :



➤ **Vitamine E :**

C'est un antioxydant liposoluble le plus crucial dans l'environnement, inhibe l'oxydation des acides gras polyinsaturés et neutralise les radicaux peroxydes (**Munteanu et Apetrei, 2021 ; Lee et Han., 2018**).

Partie

Expérimentale

Matériel et méthodes

La partie pratique de ce mémoire de master a été effectuée dans le laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et Activités Biologiques (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

1) Partie 1 : étude phytochimique :

1.1 La matière végétale :

Dans notre étude expérimentale, nous avons utilisé les bractées de *Cynara scolymus* (les artichauts) frais sans séchage. L'artichaut est un légume qui est récolté du printemps à l'automne, selon le moment où nous les avons plantés. Ils sont récoltés avant la floraison, lorsque les bractées supérieures commencent à s'ouvrir.

Nous avons acheté la plante *Cynara scolymus* auprès d'un commerçant à Ghazaouet – Wilaya de Tlemcen, au mois de février 2025.

1.2 Protocole de préparation des extraits de *Cynara scolymus* :

1.2.1 Protocole de préparation des extraits bruts de *Cynara scolymus* :

Les bractées coupées de *Cynara scolymus* (20 g), ont été introduites dans 200 ml d'une solution hydroalcoolique, eau / éthanol (30/70) (v/v). L'extraction a été effectuée par la macération (méthode classique d'extraction solide-liquide), pendant 48 heures à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait obtenu a été filtré (**figure 4**), puis, la phase organique a été évaporée avec une Rotavapeur (**figure 5**).



Figure 4 : Filtration de l'extrait brut (photo personnelle)

La phase aqueuse a été séchée dans une étuve à 37° C et le résidu obtenu de cette extraction a été conservé à + 4° C.



Figure 5 : Evaporation de l'extrait par Rotavapeur (photo personnelle)

1.2.2 Protocole de préparation de la fraction de *Cynara scolymus* :

Le fractionnement est une technique appelée l'extraction liquide-liquide. Elle est souvent employée dans l'analyse pour la séparation des mélanges. Elle se base sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases qui ne sont pas miscibles.

Un extrait brut hydro-éthanolique a été préparé comme décrit précédemment. Après évaporation de la phase organique, la phase aqueuse est fractionnée avec l'acétate d'éthyle trois fois à l'aide d'une ampoule à décanter (**figure 6**), jusqu'à son épuisement.

La fraction acétate d'éthyle obtenue est évaporée et le résidu obtenu a été conservé à + 4° C.



Figure 6 : Extraction liquide-liquide de la fraction (photo personnelle)

A la fin de ce fractionnement, nous avons obtenu deux extraits :

- Un extrait brut hydro-éthanolique et sa fraction d'acétate d'éthyle.

1.2.3 Rendement :

Le rendement en extrait végétal, est défini comme la quantité d'extrait obtenue à partir d'une certaine quantité de matière végétale, exprimée en pourcentage. Rendement de l'extrait (R%) de plante est calculé en divisant la quantité d'extrait par la quantité de matière végétale et multipliez ensuite par 100 pour obtenir le pourcentage.

$$R (\%) = (M1/M0) \times 100$$

R (%) : rendement en pourcentage.

M_1 : masse en gramme (g) de l'extrait brut ou de la fraction.

M_0 : masse en gramme (g) de la matière végétale.

1.3 Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques représentent une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration, de précipitation et d'observation sous lumière ultraviolette afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires dans les extraits de bractées de *Cynara scolymus*.

Ces tests ont été réalisés selon les techniques décrites par **Bruneton (1999) et Harbone (1998)**.

1.3.1 Les alcaloïdes :

Un volume de 0,5 ml de l'extrait est divisé dans deux tubes à hémolyse. Après acidification des deux tubes avec quelques gouttes de HCl (1%), 0,5 ml du réactif de Mayer sont ajoutés dans le premier tube et 0,5 ml du réactif de Wagner sont ajoutés dans le deuxième tube. La présence d'un précipité blanc ou marron, respectivement indique la présence des alcaloïdes.

1.3.2 Les tanins :

Un volume de 1 ml de l'extrait a été mélangé avec 250 µl de solution de $FeCl_3$ (0,1%). Après avoir agité, laisser incuber à température ambiante pendant 15 minutes. Une couleur bleu foncé ou brun verdâtre indique la présence de tanins

1.3.3 Les flavonoïdes :

Un volume de 1 ml de de chaque extrait à analyser a été mélangé avec 1 ml de l'acide chlorhydrique HCl concentré et quelques tournures de magnésium. La présence d'une couleur rose, rouge ou jaune montre qu'il y a des flavonoïdes.

1.3.4 Les quinones libres :

Un volume de 1 ml de l'extrait a été mélangé avec un volume de 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1%. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette nous indique la présence de quinones libres.

1.3.5 Les anthraquinones :

Un volume de 1 ml de chaque extrait à analyser est combiné avec 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 1%. L'apparition d'une couleur violette confirme la présence des anthraquinones.

1.3.6 Les saponines :

Un volume de 10 ml de chaque extrait a été introduit dans un tube à vis. Après avoir été vigoureusement agité pendant 15 secondes, les tubes sont laissés à reposer pendant 15 minutes.

La présence de saponines est confirmée par l'apparition d'une mousse qui dépasse une hauteur de 1 cm.

1.3.7 Les terpénoïdes :

➤ **Test de Slakowski :**

Un volume de 1 ml de l'extrait à examiner a été mélangé avec 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. L'apparition de deux phases et une teinte brune à l'interface signale la présence de terpénoïdes.

➤ **Test de Librman-Burchard :**

Un volume de 1 ml de l'extrait à examiner a été mélangé avec 0,1 ml d'anhydride acétique et 0,1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄). Le mélange est incubé pendant 15 minutes. La présence de terpénoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur mauve ou violette.

1.3.8 Les composés réducteurs :

Ajoutez 1 ml de la liqueur de Fehling (mélange de 0,5 ml du réactif A et 0,5 ml du réactif B) à 1 ml d'extrait à examiner, puis placez les tubes dans un bain-marie en ébullition pendant 8 minutes. La formation d'un précipité rouge brique signale la présence de composés réducteurs.

1.3.9 Les coumarines : fluorescence à l'UV :

Pour ce test, divisez le volume de 1 ml de l'extrait dans 2 tubes à hémolyse. Le premier représente le témoin et le deuxième est mélangé avec 0,1 ml d'Hydroxyde d'ammonium (10 %). Mettre une goutte de chaque tube dans un papier filtre et les observer sous une lumière UV à 366 nm. La présence d'une fluorescence confirme la présence de coumarines.

1.4 Dosage des composés phénoliques :

Pour quantifier les composés phénoliques totaux dans l'extrait brut hydro-éthanolique et la fraction d'acétate d'éthyle, nous avons utilisé la technique colorimétrique décrite par **Vermerius et Nicholson en 2006**.

Cette technique repose sur une réaction de coloration utilisant le réactif de « Folin-Ciocalteu », qui est jaune et est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique.

Ce réactif induit l'oxydation des composés phénoliques, entraînant la création d'un complexe bleu « tungstène – molybdène » que nous pouvons mesurer son absorbance à 725 nm.

➤ Mode opératoire :

L'extrait à tester (100 µl) est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée. Après 5 minutes d'incubation à température ambiante, 100 µl de Folin Ciocalteu à une concentration de 1N sont ajoutés. Les tubes sont agités et incubés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 725 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage est réalisée simultanément, sous les mêmes conditions expérimentales, en utilisant l'acide gallique.

Les résultats de la quantification des composés phénoliques dans les extraits sont exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µg Eq AG/mg E).

1.5 Dosage des flavonoïdes totaux :

La quantité totale de flavonoïdes dans chaque extrait a été dosée en suivant la méthode de **Zhishen et al, (1999)**.

➤ **Mode d'opération :**

Un volume de 250 µl de notre extrait brut ou fraction d'acétate d'éthyle, est mélangé avec un volume de 1 ml d'eau distillée et 75 µl du réactif de nitrite de sodium (15 %). Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 75 µl du réactif de chlorure d'aluminium (10 %) sont ajoutés. Après une deuxième incubation de 6 minutes, un volume de 1 ml d'hydroxyde de sodium à 4 % est ajouté et le volume total des tubes a été complété à 2,5 ml par de l'eau distillée. Les tubes sont, ensuite, agités et incubés pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les absorbances sont mesurées à 510 nm contre un blanc.

La gamme d'étalonnage de la catéchine est réalisé, avec des concentrations croissantes, selon la même procédure décrite précédemment.

Les résultats de la quantification des flavonoïdes de nos deux échantillons sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg Eq C/mg E).

2) Partie 2 : étude de l'activité antioxydante des extraits de *Cynara Scolymus* :

L'activité antioxydante des extraits de *Cynara scolymus* a été évaluée par deux méthodes : le piégeage de radical libre DPPH et la capacité antioxydante totale (CAT).

2.1 Capacité antioxydante totale (la CAT) :

L'évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT) des deux extraits est réalisée selon la technique utilisant le phosphomolybdène et proposée par **Prieto et al, (1999)**. Cette méthode repose sur le changement du molybdène Mo (V), présent sous forme d'ions de molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (IV) lorsqu'il est combiné avec l'extrait, créant ainsi un complexe vert de phosphate/Mo (IV) à un pH acide.

➤ **Mode opératoire :**

Un volume de 0,1 ml de notre extrait brut hydro-éthanolique ou fraction d'acétate d'éthyle, et mélangé avec un volume de 1 ml du réactif préparé (constitué d'un mélange d'acide sulfurique (0,6 M), de phosphate de sodium (28m M) et de molybdate d'ammonium (4 mM)).

Après agitation, les tubes sont bien fermés et incubés pendant 90 minutes dans un bain marie à la température de 95° C.

Une fois les tubes refroidies, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 695 nm contre un blanc contenant 1 ml de solution réactif et 0,1 ml d'éthanol.

La capacité antioxydante totale est exprimée en microgramme équivalent acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g Eq Acide ascorbique} / \text{mg E}$).

2.2 Piégeage du radical libre DPPH :

Cette technique est employée couramment pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons. Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est reconnu pour sa capacité à générer des radicaux libres stables. L'apparition de ces radicaux DPPH produit une coloration violet foncé dans la solution, qui absorbe aux environs de 515 nm (**Zahaf et al, 2019**).

La réduction du radical DPPH se traduit par une décoloration de la solution (couleur violette qui vire au jaune).

➤ Mode opératoire :

Un volume de 975 μl de la solution méthanolique de DPPH à la concentration de $6,34 \times 10^{-5}$ M, est mélangé avec un volume de 25 μl de l'extrait brut hydro-éthanolique, la fraction d'acétate d'éthyle ou l'acide ascorbique (utilisé comme contrôle positif), à différentes concentrations.

Simultanément, le tube blanc est préparé pour chaque concentration des échantillons à tester, par ajout de 25 μl de l'échantillon à tester et de 975 μl de méthanol. Un volume de 25 μl de méthanol est mélangé avec un volume de 975 μl de la solution méthanolique de DPPH pour préparer le control négatif.

Après une incubation de 30 minutes, à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances ont été mesurées à 515 nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est déterminé de la manière suivante :

$$PI (\%) = \left(\frac{Ac - Ae}{Ac} \right) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle négatif.

Ae : absorbance de l'extrait à analyser.

**Résultats
Et
Discussion**

1) Rendement :

Dans notre étude, nous avons préparé deux extraits, un extrait brut (eau/éthanol) (30/70) (v/v) par une macération pendant 48h. une fraction d'acétate d'éthyle obtenu à partir de l'extrait brut hydro-éthanolique.

Le rendement des deux extraits a été déterminé par rapport à une masse de 20 g de bractées de *Cynara scolymus*. Suite à l'extraction et à la récupération des extraits, chaque extrait a été identifiée en fonction de sa couleur et de son rendement (**Tableau2**).

Tableau 2 : Le rendement des deux extraits de *Cynara scolymus*

Extraits	Aspect	Couleur	Rendement	Solubilisation
Extrait (eau/éthanol)	Pâteux	Vert	1,0733 %	DMSO
Fraction (acétate d'éthyle)	Pâteux	Vert foncé à noir	0,285%	DMSO

Le rendement est une mesure qui indique l'efficacité de l'extraction. Il symbolise la quantité de substance que nous souhaitons récupérer dans le solvant d'extraction, en comparaison à la quantité initiale de la plante examinée.

Selon les résultats présentés dans le tableau précédent, le rendement obtenu de l'extrait eau /éthanol est légèrement supérieur à celui de l'extrait de fractionnement acétate d'éthyle.

Cette différence est due au fait que le rendement varie en fonction de la méthode d'extraction et de type de l'échantillon utilisé, soit fraîche ou sèche (**Ali-Rachedi, 2018**), et le rendement varie considérablement selon la partie de la plante utilisée et la nature de solvant (**Mahmoudi et al., 2013**).

2) Etude phytochimique qualitative :

Afin de mettre en évidence les divers métabolites secondaires présents dans les extraits de la plante *Cynara scolymus*, une analyse phytochimique a été effectuée sur les deux extraits de ses bractées.

Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 3** ci-dessous.

Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques des deux extraits.

Famille chimiques		Extrait	
		Eau/éthanol	Acétate d'éthyle
Alcaloïdes	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
Tanins		-	-
Flavonoïde		-	-
Quinones libres		-	-
Anthraquinones		-	-
Coumarines		-	-
Saponines		-	-
Terpénoïdes	Slakowski	+	+
	Librman-Burchard	+	-
Composées réducteurs		+	+

(-) : faiblement présent ; (+) : fortement présent

Le criblage phytochimique nous offre la possibilité de déterminer la présence ou l'absence de métabolites secondaires, ainsi que d'autres composés au sein de la plante analysée. La détection des métabolites secondaires repose sur une variation de couleur ou sur l'apparition d'un précipité.

Les résultats obtenus du tableau ci-dessus, nous montre la présence des composées réducteurs dans les deux extraits, la présence des terpénoïdes dans les deux extraits avec le test de Slakowski. Pour le test de Librman-Burchard, les terpénoïdes ont été détectés seulement dans l'extrait (eau /éthanol).

Les résultats des tests de détection des alcaloïdes, des flavonoïdes, des quinones libres, des tanins, des saponines et des anthraquinones se sont révélés négatifs pour les deux extraits.

3) Dosages quantitatifs :

3.1 Quantification des polyphénols totaux :

Nous avons effectué un dosage spectrophotométrique, en employant la méthode de Folin – Ciocalteu décrite par **Vermerius et Nicholson en 2006**, afin de quantifier les polyphénols totaux présents dans nos extraits à une longueur d'onde de 756 nm.

L'équation de la courbe d'étalonnage ($Y=0,0006x$ avec $R^2=0,9983$) a été déduite par la régression linéaire obtenue en utilisant les données de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure 7**).

La quantité des polyphénols totaux est indiquée en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$).

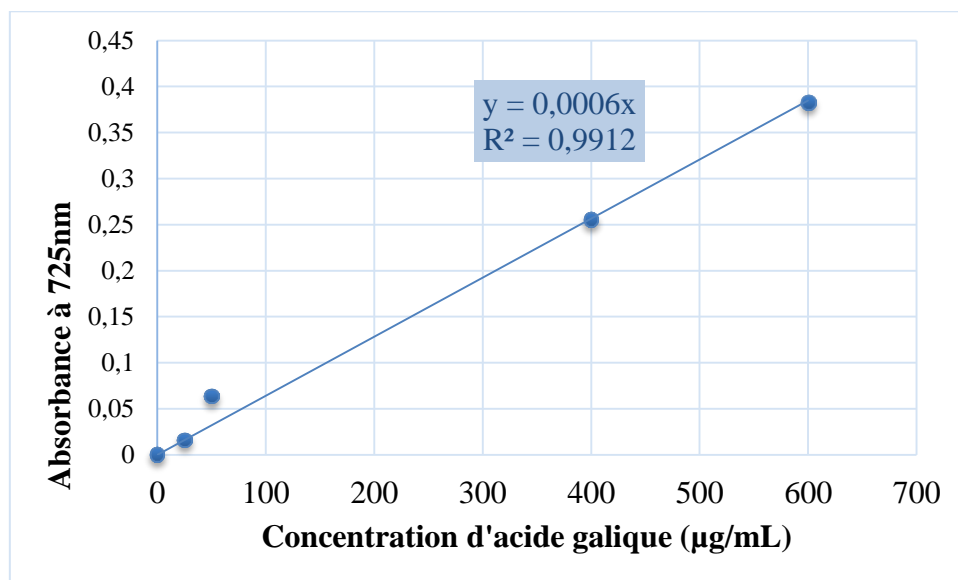


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

D'après nos résultats, la teneur de polyphénols des bractées de *Cynara scolymus* des deux extraits montrent que l'extrait de fraction (acétate d'éthyle) est plus riche en polyphénols avec une teneur de $204,49 \pm 0,08 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$, par rapport à l'extrait brut (eau/éthanol), qui a montré une teneur de $63,17 \pm 0,06 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$.

3.2 Quantification des flavonoïdes :

Nous avons mesuré la quantité de flavonoïdes dans les deux extraits en utilisant une méthode colorimétrique. Cette méthode se base sur l'oxydation des flavonoïdes avec du chlorure d'aluminium et du nitrite de sodium dans un milieu alcalin.

Résultats et discussion

Une courbe d'étalonnage ($Y=0.0022x + 0.0356$ avec $R^2 = 0,9988$) a été tracée avec différentes concentrations de catéchine (**Figure 8**).

La quantité de flavonoïdes totaux est indiquée en microgrammes d'équivalent de catéchine pour chaque milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC}/\text{mg}$ d'extrait).

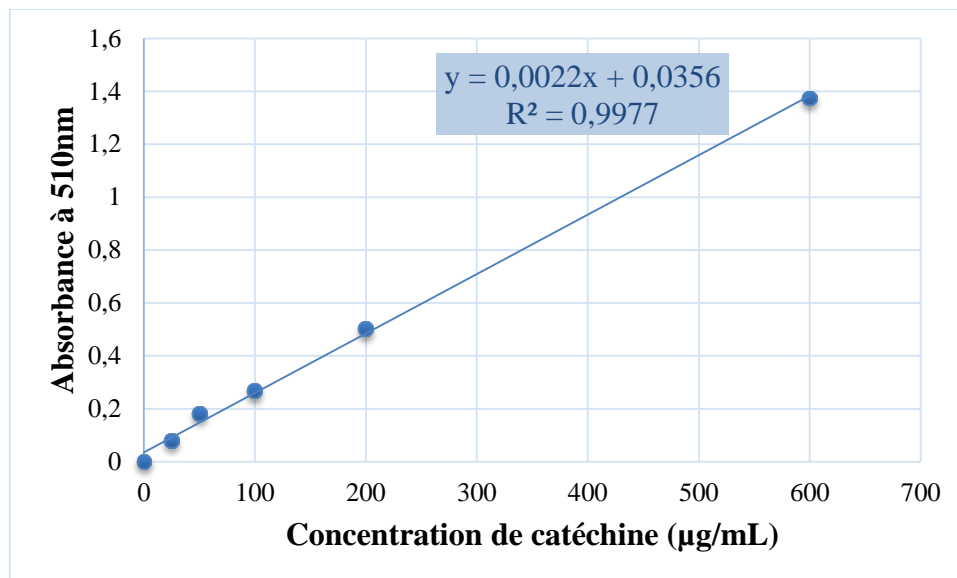


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

D'après les résultats que nous avons obtenus, la teneur des flavonoïdes des deux extraits montrent que la fraction (acétate d'éthyle) est la plus riche en flavonoïdes avec une teneur de $52,72 \pm 0,02 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait par rapport à l'extrait brut (eau/ éthanol), qui a une teneur de $10,58 \pm 0,02 \mu\text{g EC}/\text{mg}$ d'extrait.

Selon l'étude réalisée par **Mohamed et al (2021)** sur les mêmes parties de plante, mais avec une méthode d'extraction et des solvant différents. Les auteurs ont obtenu une teneur des polyphénols de l'ordre de $24,04 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ et une teneur de flavonoïdes de l'ordre de $194,07 \mu\text{g Eq C}/\text{mg}$.

Dans une autre étude de **Khedr et al (2022)** sur les mêmes parties de plantes, mais aussi avec une méthode et des solvant différents. Ils ont trouvé une teneur de polyphénols de $60,94 \pm 3,28 \text{ mg EAG}/\text{mg}$ et une teneur de flavonoïdes égale à $21,89 \pm 0,92 \text{ mg QE}/\text{mg}$.

L'ensemble des analyses effectuées au cours de notre étude a mis en évidence la présence des polyphénols et des flavonoïdes. Il est convenu de souligner que l'extraction de ces composants repose sur la technique d'extraction et les solvants employés qui conservent

leurs caractéristiques biologiques. De plus, l'utilisation des plantes qui ont des origine géographiques et climatiques différents permet de trouver des résultats différents.

4) Etudes de l'activité antioxydante des extraits de *Cynara scolymus* :

4.1 La capacité antioxydante totale (la CAT) :

La capacité antioxydante totale des deux extraits de bractées de *Cynara scolymus* est réalisé selon la technique de phosphomolybdène proposée par **Prieto et al. (1999)**.

Une courbe d'étalonnage ($Y = 0,003x + 0,1889$ avec $R^2 = 0,9894$) a été faite avec différentes concentrations de l'acide ascorbique (**Figure 9**).

L'expression de la capacité antioxydante totale se fait en microgrammes d'équivalents d'acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq acide ascorbique /mg d'extrait}$).

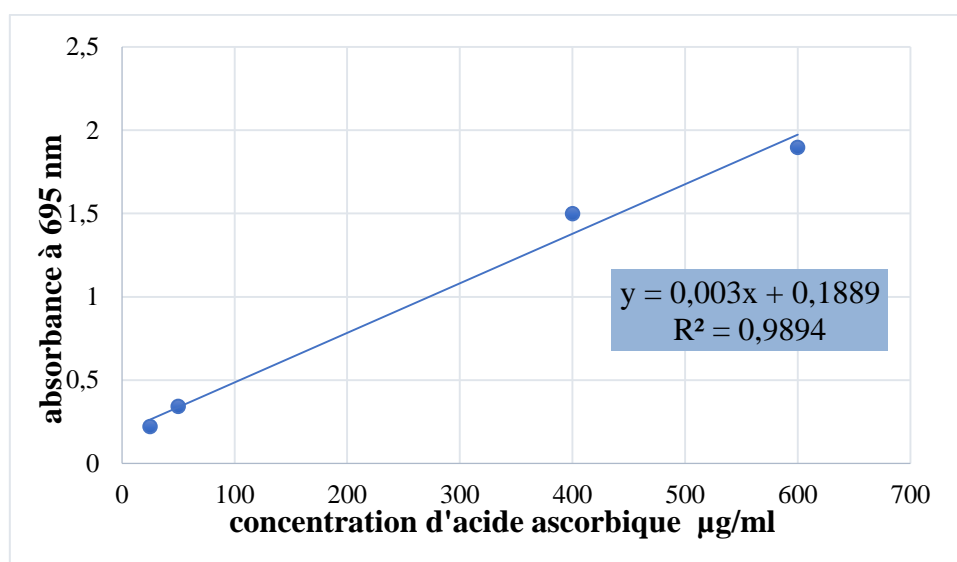


Figure 9 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante totale

Les résultats que nous avons obtenus à partir des deux extraits des bractées de *Cynara scolymus*, montrent que la fraction d'acétate d'éthyle a la capacité antioxydante la plus élevée, avec une valeur de $35,45 \pm 0,07 \mu\text{g eq acide ascorbique/mg d'extrait}$. Cependant, l'extrait brut eau /éthanol a une capacité antioxydante de $19,29 \pm 0,17 \mu\text{g eq acide ascorbique/mg d'extrait}$.

Selon l'étude de **Khedr et al, 2022**, l'extrait brut des bractées de *Cynara scolymus* montre une capacité antioxydante totale de $32,13 \pm 2,49 \text{ mg Eq AG/g}$. En comparaison avec nos résultats, la fraction d'acétate d'éthyle a légèrement la capacité antioxydante totale la plus élevée.

4.2 Résultats du piégeage du radical libre (DPPH) :

Les résultats obtenus de l'activité antiradicalaire des deux extraits des bractées de *Cynara scolymus* et de l'acide ascorbique sont exprimés sous forme de pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des échantillons (Figures 10, 11 et 12).

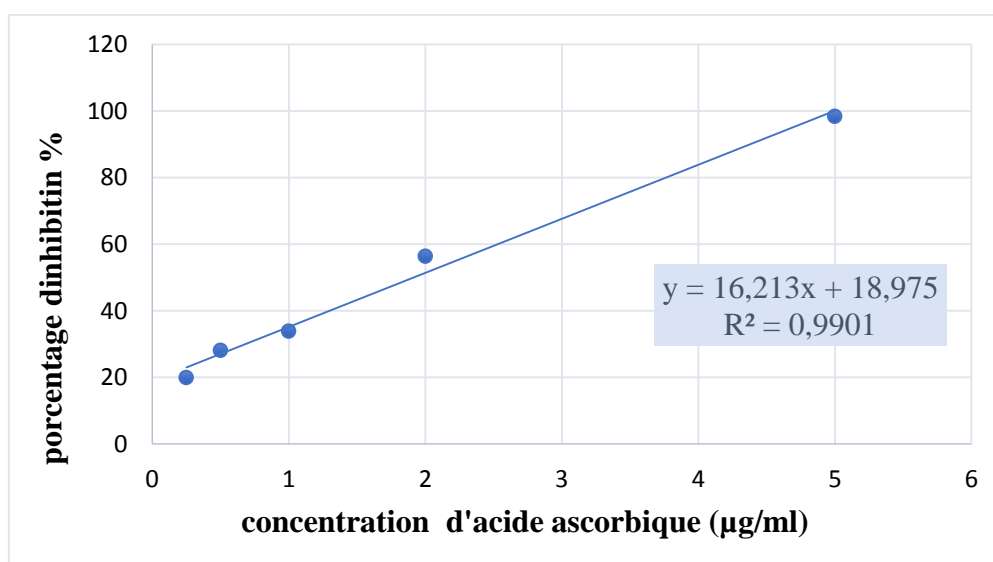


Figure 10 : Piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique

L'acide ascorbique représente le contrôle positif dans notre expérience. Cette molécule a présenté un pourcentage d'inhibition de DPPH de 98,3 % pour une concentration de 5 µg/ml.

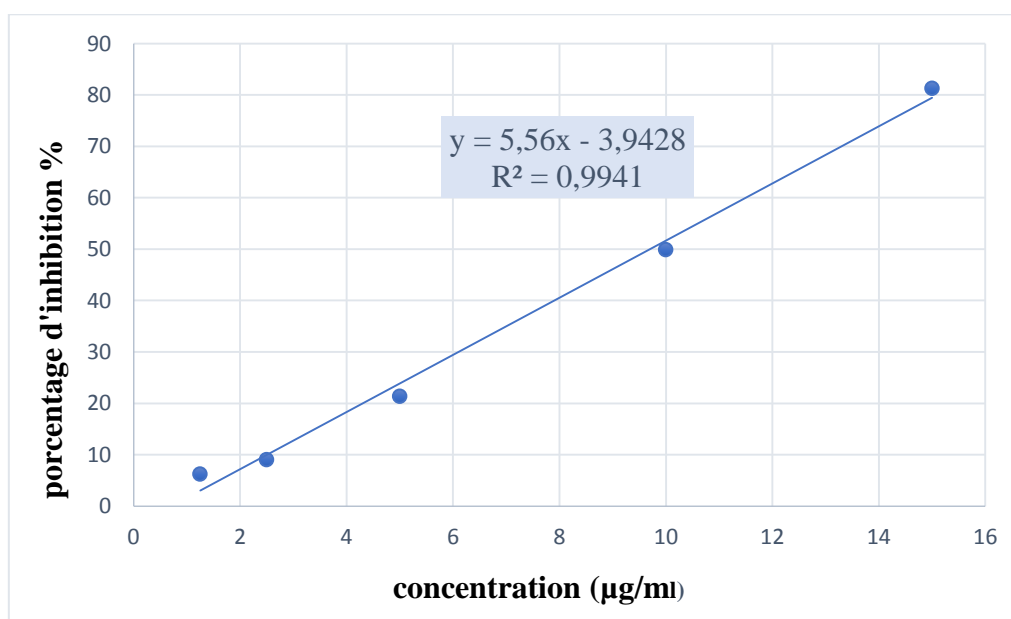


Figure 11 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait eau/éthanol

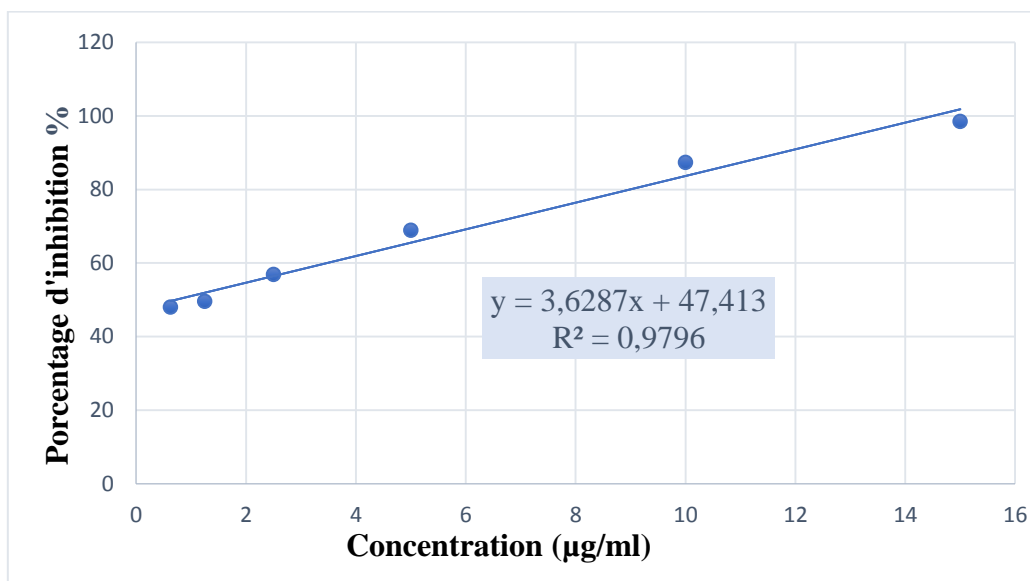


Figure 12 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle

Les résultats des figures 11 et 12 que nous avons obtenus, montrent que l'extrait eau/éthanol présente des pourcentages d'inhibition variant de 7,9 % pour une concentration de 1,25 µg/ml jusqu'à 81,31% pour une concentration de 15µg/ml. Cependant, la fraction d'acétate d'éthyle a présenté des pourcentages d'inhibition supérieurs que l'extrait brut, variant de 47,9 % pour une concentration de 0,625 µg/ml jusqu'à 98,5 % pour une concentration de 15 µg/ml.

D'après les résultats ci-dessus, nous observons que la fraction acétate d'éthyle présente une meilleure activité antiradicalaire avec des concentration qui varient de 0,625µg/ml jusqu'à 15µg/ml.

La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) est la concentration antioxydante nécessaire pour la réduire de 50% de la concentration initiale du radical libre DPPH (Christodoulou et al., 2022).

La valeur de CI₅₀ est calculée sur la base de l'équation de la régression linéaire des courbes des deux extraits et de l'acide ascorbique. La valeur la plus basse indique une capacité importante à piéger le DPPH par la substance, ce qui implique une forte activité antioxydante (Olugbani et al., 2014).

Résultats et discussion

Le **tableau 4** ci-dessous, montre les valeurs des CI_{50} des deux extraits de *Cynara scolymus* et de l'acide ascorbique.

Tableau 4 : Valeurs de CI_{50} de l'acide ascorbique et des deux extraits de *Cynara scolymus*

Echantillons	Acide ascorbique	Extrait eau/éthanol	Fraction d'acétate d'éthyle
Valeur de CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	$1,912 \pm 0,09$	$9,070 \pm 0,09$	$0,713 \pm 0,04$

En comparant les résultats de l'extrait eau/éthanol et la fraction d'acétate d'éthyle avec l'acide ascorbique (antioxydant standard), nous remarquons que la fraction d'acétate éthyle a la valeur de concentration inhibitrice 50 % la plus basse ($0,713 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$). Cette valeur est suivie de la concentration inhibitrice 50% de l'acide ascorbique ($1,912 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$), et enfin de l'extrait eau/éthanol ($9,070 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$). Donc, la fraction d'acétate d'éthyle a la meilleure activité antioxydante.

Extrait eau/éthanol < Acide ascorbique < Fraction d'acétate d'éthyle

Pour cela, l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique et nos extraits sera déterminée dans l'ordre suivant :

Une étude menée par **Kollia et al (2017)** sur les bractées de *Cynara scolymus* en utilisant trois méthodes d'extraction différentes, donne des valeurs différentes pour la concentration inhibitrice 50%. L'extraction classique présente une CI_{50} de $1,13 \pm 0,01 \text{ mg/ml}$, l'extraction assistée par ultrasons présente une CI_{50} de $0,11 \pm 0,04 \text{ mg/ml}$ et l'infusion a une CI_{50} de $1,38 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$.

Selon une autre étude de **Shallan et al (2020)**, les auteurs ont trouvé la valeur de la concentration inhibitrice CI_{50} de l'extrait brut de l'ordre de $6,42 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$.

Cette variation entre les valeurs s'explique par plusieurs facteurs tel que le moment de la récolte de la plante, la localisation géographique, la technique d'extraction et la nature de la

Résultats et discussion

matière végétale, qu'elle soit sèche ou fraîche, la polarité des solvants, voire même les procédures de mesure et l'appréciation des activités.

Aussi, dans notre étude, nous avons utilisé l'eau/éthanol (30 : 70) (v : v). Ce système de solvant nous permet d'extraire les composés phénoliques. Ce choix est lié par rapport à l'activité connue de ces composés.

De plus, le fractionnement liquide-liquide de l'extrait brut nous permet d'extraire plus spécifiquement les flavonoïdes (fraction enrichie). Cette classe est connue pour son activité antioxydante.

Nos résultats montrent des quantités intéressantes en composés phénoliques et en flavonoïdes pour l'extrait brut, et plus élevées dans la fraction acétate d'éthyle. De même, la fraction a montré une activité antioxydante très intéressante. Ces résultats nous suggèrent que l'activité antioxydante est due aux composés phénoliques et surtout aux flavonoïdes.

D'autres tests, comme la purification de la fraction et l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules purifiées sont nécessaires pour confirmer nos hypothèses.

Conclusion

Conclusion :

Les principales caractéristiques biologiques de plusieurs plantes médicinales démontrent leurs usages thérapeutiques et leur potentiel antioxydant. Dans ce travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de deux extraits différents de *Cynara scolymus* : extrait brut et sa fraction d'acétate d'éthyle.

Tout d'abord, l'analyse phytochimique qualitative a montré la présence significative des terpénoïdes et des sucres réducteurs.

Les résultats du dosage quantitatif des polyphénols totaux et des flavonoïdes des deux extraits de *Cynara scolymus* a révélé que la fraction d'acétate d'éthyle contient des teneurs importantes pour les deux dosages par rapport à l'extrait brut.

Deux tests ont servi à évaluer l'activité antioxydante, la capacité antioxydante totale et le piégeage de radical libre DPPH. Les résultats des deux tests montrent que la fraction d'acétate d'éthyle présente le meilleur pouvoir antioxydant comparé à l'extrait brut (eau/éthanol).

Notre étude montre que la plante *Cynara scolymus*, surtout ses bractées, a une activité antioxydante importante et intéressante, en particulier la fraction d'acétate d'éthyle, qui pourrait représenter une source potentielle en composants bioactifs de traitements.

En perspective, ce travail est une exploration initiale qui ouvre la voie à des nouvelles recherches supplémentaires sur cette plante et son utilisation, qui pourrait être complété par d'autres études, dont :

- Explorer de nouvelles techniques d'extraction, tout en choisissant des solvants permettant d'extraire les composés bioactifs à partir de différentes parties de la plante, telles que les feuilles.
- Explorer d'autres activités biologiques, comme l'activité antibactérienne, antifongique et anti-inflammatoire.
- Évaluer l'activité antioxydante avec des techniques différentes comme : FRAP (réduction de fer), piégeage du radical ABTS.
- Identifier les molécules actives de cette plante responsable de son effet antioxydant.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- Abu-Reidah, I. M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. Et Fernandez-Gutierrez, A., (2013). Extensive Characterisation of Bioactive Phenolic Constituents from Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Chemistry* (141): 2269–2277.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30(3),(161-175.
- AL-Aloosy, Y. A. M., AL-Tameemi, A. J., & Jumaa, S. S. (2019). The role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in facing the environmental stresses on plant: a review. *Plant Archives*, 19(1),1057-1060.
- Ali, M. A., Shallan, M. A., Meshrf, W. A., & Marrez, D. A. (2021). Phenolic constituents, antioxidant, and antimicrobial activities of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) aqueous extracts. *Trop J Nat Prod Res*, 5(11), 1986-1994.
- Babu, K. S., Malladi, S., Nadh, R. V., & Rambabu, S. S. (2014). Evaluation of *in vitro* antibacterial activity of *Caralluma umbellata* Haw used in traditional medicine by Indian tribes. *Annual research & Review in Biology*, 4(6), 840.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Bigham, A., Rahimkhoei, V., Abasian, P., Delfi, M., Naderi, J., Ghomi, M., ... & Akbari, A. (2022). Advances in tannic acid-incorporated biomaterials: Infection treatment, regenerative medicine, cancer therapy, and biosensing. *Chemical Engineering Journal*, 432, 134146.
- Chinou, I., & Chinou, A. D. I. B. (2011). Assessment report on *Cynara scolymus* L., folium. *Eur Med agency* [Internet], 44, 1-41.
- Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A., & Hadidi, M. (2022). Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. *Antioxidants*, 11(11), 2213.
- Conti, V., Izzo, V., Corbi, G., Russomanno, G., Manzo, V., De Lise, F., ... & Filippelli, A. (2016). Antioxidant supplementation in the treatment of aging-associated diseases. *Frontiers in pharmacology*, 7, 24.
- Dridi, B. 2003. Un système intégré de micropropagation de l'artichaut (*Cynara scolymus* L).

Références bibliographiques

- El Roz, A. (2018). Valorisation du glycérol vers l'acide glycolique via le glycéraldéhyde (Doctoral dissertation, Université de Lille (2018-2021)).
- Eleni Kollia, Panagiota Markaki, Panagiotis Zoumpoulakis & Charalampos Proestos (2016): Antioxidant activity of *Cynara scolymus* L. and *Cynara cardunculus* L. extracts obtained by different extraction techniques, Natural Product Research
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10), 863-832
- Favier, A. (2006, November). Oxidative stress in human diseases. In Annales Pharmaceutiques Françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396).
- Goetz1, R., Le Jeune, R. (2007). Artichaut, *Cynara scolymus*. Phytothérapie 5 : 219–222)
- Khedr, A. I., Goda, M. S., Farrag, A. F., Nasr, A. M., Swidan, S. A., Nafie, M. S., ... & Abdelhameed, R. F. (2022). Silver nanoparticles formulation of flower Head's polyphenols of *Cynara scolymus* L.: a promising candidate against prostate (PC-3) cancer cell line through apoptosis activation. Molecules, 27(19), 6304.
- Kollia, E., Markaki, P., Zoumpoulakis, P., & Proestos, C. (2017). Antioxidant activity of *Cynara scolymus* L. and *Cynara cardunculus* L. extracts obtained by different extraction techniques. Natural product research, 31(10), 1163-1167.
- Lattanzio, V., Kroon, P. A., Linsalata, V., & Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. Journal of functional foods, 1(2), 131-144.
- Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala, -Nord-est algérien). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.
- Leopoldini, M., Pitarch, I. P., Russo, N., & Toscano, M. (2004). Structure, conformation, and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. The Journal of Physical Chemistry A, 108(1), 92-96
- M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Extensive characterization of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD-ESI-QTOF-MS. Food chemistry, 141(3), 2269-2277.
- Madhvi, S. K., Sharma, M., Iqbal, J., Younis, M., & Sheikh, R. (2020). Phytochemical analysis, Total Flavonoid, Phenolic contents and Antioxidant activity of extracts from

- the Leaves of *Rhododendron arboreum*. Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(4), 1701.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technology, (9), 35.
 - Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technology, (9), 35.
 - Marrelli, M. (2021). Medicinal plants. Plants, 10(7), 1355.
 - Moniczewski, A., Gawlik, M., Smaga, I., Niedzielska, E., Krzek, J., Przegaliński, E., ... & Filip, M. (2015). Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. Pharmacological Reports, 67(3), 560-568.
 - Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. International journal of molecular sciences, 22(7), 3380.
 - Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms RSC advances, 5(35), 27986-28006.
 - Olugbami, J. O., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2014). *In vitro* evaluation of the antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of *Anogeissus leiocarpus*. African journal of medicine and medical sciences, 43(Suppl 1), 101–109
 - Ristovski, Z. D., Miljevic, B., Surawski, N. C., Morawska, L., Fong, K. M., Goh, F., & Yang, I. A. (2012). Respiratory health effects of diesel particulate matter. Respirology, 17(2), 201-212
 - Salekzamani, S., Ebrahimi-Mameghani, M., & Rezazadeh, K. (2019). The antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus*): A systematic review and meta-analysis of animal studies. Phytotherapy Research, 33(1), 55-71.
 - Shallan, M. A., Ali, M. A., Meshrf, W. A., & Marrez, D. A. (2020). *In vitro* antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) bracts and receptacles ethanolic extract. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 29, 101774.

Références bibliographiques

- Sharma, P., Verma, P. K., Pankaj, N. K., & Agarwal, S. (2021). The Phytochemical Ingredients and Therapeutic Potential of *Cynara scolymus* L. Pharmaceutical and Biomedical Research.
- Stéphane, F. F. Y., Jules, B. K. J., Batiha, G. E. S., Ali, I., & Bruno, L. N. (2022). Compounds from Medicinal Plants. Natural medicinal plants, 147.
- Teh, S. S., Bekhit, A. E. D., & Birch, J. (2014). Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants*, 3(1), 67-80.
- Wang, M., Simon, J. E., Aviles, I. F., He, K., Zheng, Q. Y., & Tadmor, Y. (2003). Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 601-608.
- Zahaf, K., Bahloul, M., & Hazourli, A. (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité anticorrosion des extraits des plantes *Thapsia garganica* L et *Marrubium vulgare*).
- Zaker-Esteghamati, H., Seidavi, A., & Bouyeh, M. (2021). Effect of *Cynara scolymus* and its derivatives on broilers: an updated review. *Animal Biotechnology*, 32(5), 656-662
- Zhu, X., Zhang, H., & Lo, R. (2004). Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(24), 7272-7278).