

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique



MÉMOIRE DE FIN DE CYCLE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER
Spécialité : Pharmaco-Toxicologie

Thème

Optimisation de l'extraction et activités
biologiques de *Scolymus hispanicus* L.

Réalisé par :

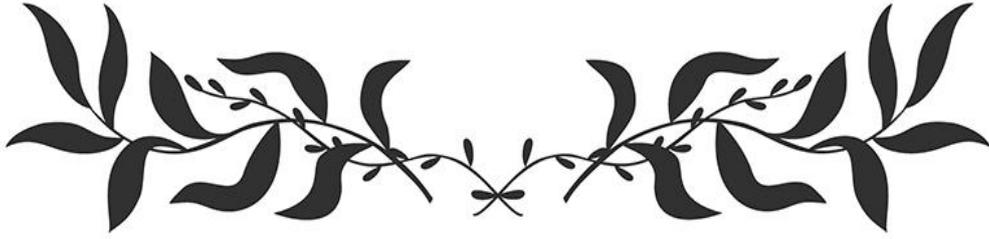
SADMI Melissa et MOUHOUBI Katia

Soutenu le : 25/06/2023

Membre de jury :

Président :	M ^r BRIBI Nouredine	MCA
Promotrice :	M ^{me} YOUS Farah	MCB
Examineur :	M ^{me} LAID Yasmina	MAA

Année universitaire : 2022/2023



Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier le bon Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la force et le courage afin mener à bien notre mémoire de fin d'études.

Un grand merci à notre chère enseignante encadreur madame YOUS Farah.

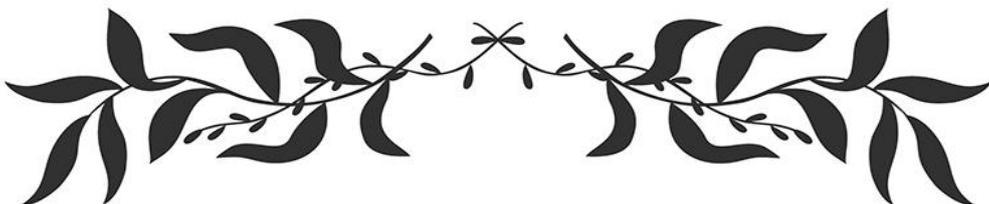
Nous la remercions pour la qualité de son encadrement, pour ses précieux conseils, pour son écoute, sa disponibilité, ça gentillesse, son soutien, et pour le temps qu'elle a consacré pour la réalisation de ce travail.

Au membre de jury monsieur BRIBI et madame LAIB.

Nous sommes honorées que vous ayez accepté de jugé notre mémoire. Vos compétences scientifiques seront d'une valeur inestimable pour enrichir ce travail. Nous vous en remercions très chaleureusement.

On tient à exprimer nos sincères remerciements à l'ensemble du personnel du département biologie, physico-chimique de la faculté SNV.

Pour conclure, nous remerciant toutes personnes qui ont participé de près ou de loin la réalisation et à l'élaboration de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce travail à tous ceux qui m'ont sont chers.

À mes parents Malek et Fadhila, c'est grâce à vous que j'en suis là aujourd'hui.

Aucun dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et pour mon bien-être.

Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera pour toujours.

Que ce travail soit l'exhaussement de vos vœux, le fruit de vos énormes sacrifices.

Que Dieu vous accorde santé bonheur et longue vie.

À mes frères Hicham et Bilal, à ma sœur Lina et sa fille Mélina.

Qui n'ont pas Cessées de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

À Abdelkader KAFIA Merci d'être toujours là pour moi.

À Tous les membres de ma famille.

Sans oublier ma binôme Katia MOUHOUBI pour son soutien moral, pour son esprit de cohésion et de partage qui ont contribué à rendre brillante et enrichissante cette année universitaire.

Mélissa

Dédicaces

Avant tout, je remercie le Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis.

À ma chère sœur Assia, Merci d'être là quand ça ne va pas. Merci de me prêter ton épaule quand j'en ai de besoin. Merci d'apaiser mes pleurs peu importe la situation. Tu as toujours les mots qu'il faut et tu sais reconnaître les moments où j'ai simplement besoin d'une oreille attentive pour m'écouter.

Merci d'être là pour moi et d'être la grande sœur que tu es; sache que je te promets de toujours être là pour toi en retour.

Je dédie ce travail à son mari Salem et à ses enfants Ghilas et Aris.

À mes frères Abdenour et Hakim avec sa femme Saida et son fils Axel.

À toute ma famille sans exception.

À mes chères cousines Naima BOUHAMOUCH et Hadjer TAMZAIT.

À mes chères copines Mounira TENKHI, Tiziri BOUDJEMIEL.

À tous mes amis.

Sans oublier ma binôme Melissa SADMI, pour son soutien moral, son esprit de cohésion et de partage qui a contribué à rendre brillante et enrichissante cette année universitaire.

Katia

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Dédicaces

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I:

Le Stress oxydant.....	2
I.1.1. définition :.....	3
I.1.2. radicaux libres :	3
I.1.2.1. Définition	3
I.1.2.2. L'origine des radicaux libres :.....	4
a. Les radicaux libres endogènes :	4
b. Les radicaux libres exogènes :.....	4
I.1.3. Les maladies causées par le stress oxydant :	6
Les antioxydant.....	8
I.2.1.1.Les antioxydants enzymatiques endogènes :	11
a. La superoxyde dismutase:	11
b. La glutathion peroxydase :	11
c. La catalase :	12
d. La thiorédoxine (TRX) :	12
I.2.1.2.Les antioxydants non enzymatiques exogènes :	12
a.Le glutathion et les protéines-thiols :.....	12
b.La vitamine C :.....	13
c.Vitamine E (α-tocophérol) :.....	13

d. L'acide urique :	13
e. Les caroténoïdes :	13
f. Les polyphénols :	13
Les composés phénoliques :	14
I.1.3.1 Définition :	15
I.1.3.2. Voies de synthèse des polyphénols :	15
I.1.3.3. Les principales classes des composés phénoliques :	15
a. Les acides phénoliques et leurs dérivés :	16
b. Les flavonoïdes :	17
c. Les tanins :	18
1.1.3.4. Les saponines :	18
I.1.3.5. Propriétés biologiques des polyphénols :	19
a. Activités antioxydants des composés phénoliques :	20
b. Les polyphénols ayant une activité antioxydants et/ou anti-inflammatoire :.....	20
I.4.1. Les facteurs influençant l'efficacité de l'extraction:	23
Chapitre II:	
II.1. Matériel végétal « <i>Scolymushispanicus L.</i> »	24
II.1.1. Description botanique :	24
II.1.2. Nomenclature:	24
II.1.3. Distributions géographiques :	24
II.2. Matériel biologique :	25
II.3. Méthodes :	25
II.3.1. Préparation de l'extrait de la plante :	25
II.4. Optimisation des conditions d'extraction par logiciel JMP pro 14 :	25
II.5. L'extraction :	26
II.6. Dosage des polyphénols totaux :	28
II.7. Evaluation de l'activité anti oxydants « Test ABTS » :	28
II.8.1. Test de DPPH :	28

II.8.2. Dosage des flavonoïdes :	29
II.8.3. Dosage des tanins condensés :	29
II.8.4. Dosage des tanins hydrolysables :	30
II.8.5. Dosage des saponines :	30
II.9. Droites d'étalonnage pour le dosage des composants de l'extrait de <i>Scolymus hispanicus</i> L. :	30
II.10. Analyse statistiques :	30
Chapitre III:	
III.1 . Optimisation d'extraction des composés polyphénoliques de <i>Scolymus hispanicus</i> L. :	32
III.2. Composition phytochimique	34
III.2.1.Teneur en polyphénols :	34
III.2.2. Teneur en flavonoïdes :	36
III.2. 3. Teneur en tanins :	36
III.2.4.Les saponines :	37
III.3. Activité antioxydants	38
III.3.1. Test DPPH :	38
III.3.2. Test de l'ABTS:	39
Conclusion :	37

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les systèmes de défenses antioxydants.	10
2	Représentation schématique de la voie générale de biosynthèse des polyphénols, avec les principales classes de polyphénols.	13
3	Structure de base des composantes des acides phénoliques.	14
4	Structure de base des flavonoïdes.	14
5	Structure de base des sous-groupes des flavonoïdes.	14
6	Structure des tanins hydrolysables (A) et condensés(B).	15
7	Structure de base des saponines.	16
8	Propriétés biologiques des polyphénols.	16
9	Mécanisme d'action potentiel des polyphénols dans l'inhibition de l'inflammation.	18
10	Feuilles, fleurs de <i>Scolymus hispanicus</i> L. (photographies originales).	24
11	Schéma représentant le protocole à suivre proposé par GMPpro14.	26
12	Procédure d'extraction à partir des racines de <i>Scolymus hispanicus</i> L.	27
13	Procédure d'extraction à partir des feuilles de <i>Scolymus hispanicus</i> L.	28
14	Coefficient de détermination des protocoles d'extraction polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les feuilles et des racines de <i>Scolymus hispanicus</i> L.	32
15	Résultats obtenus par le logiciel GMPpro14 chez les poudres des feuilles et des racines de <i>Scolymus hispanicus</i> L.	33

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Méthodes, principes, avantages et inconvénients des méthodes d'extraction.	20
II	Résultats d'optimisation obtenus par logiciel JMP pro 14.	33
III	Taux de la teneur en polyphénols totaux.	34
IV	Taux d'extraction des flavonoïdes de SH.	35
V	Taux d'extraction des tanins.	36
VI	Taux d'extraction des saponines.	37
VII	IC50DPPH par l'extrait de SH.	38
VIII	IC50ABTS par l'extrait de <i>Scolymus hispanicus</i> L.	38

Liste des abréviations

ABTS :	Acide 2,2-azino-bis(3-éthylbenzothiazolin-6-sulphonique).
ADN	Adénosine Désoxyribonucléique.
DDPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl.
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène.
GPx	Glutathion Peroxydase.
GSH	Glutathion réduit.
GSSG	Glutathion oxydé.
NADP	Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
P450	Cytochrome P45.
PBS	Phosphate Buffer Salin (tampon phosphate).
SH	<i>Scolymus Hispanicus</i> L.
SOD	Super OxydeDismutase.

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité à ce jour l'homme continue à utiliser de très nombreuses plantes, comme ingrédient ou comme remède en médecine traditionnelle. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Les plantes médicinales sont ainsi importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration de médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (**Aissaoui, 2019**). La recherche actuelle s'intéresse beaucoup à la valorisation directe des composés bioactifs contenus dans les plantes médicinales à l'exemple de la plante *Scolymus hispanicus* L.

Le stress oxydant joue un rôle crucial dans l'apparition et les complications de nombreuses pathologies chroniques. Afin de prévenir ces désagréments, il est important de disposer d'outils de mesure fiables pour évaluer correctement le niveau de stress oxydant. En effet, cela permet de prendre les mesures nécessaires pour renforcer les défenses antioxydants et de réduire les dommages oxydatifs causés par les espèces oxygénées activées (EOA) sur l'ADN, les protéines et les lipides (**Zbadi et al., 2018**).

Le chardon doré (*Scolymus hispanicus* L.) est une plante herbacée vivace épineuse de la famille des Astéracées. Un des légumes sauvages les plus appréciés et consommée dans presque tous les endroits où elle pousse. Il possède de nombreuses propriétés médicinales telles que diurétique, dépurative, digestive, cholérétique et lithiurétique (**Polo et al., 2009**).

L'objectif de cette étude est d'explorer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques présents dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* L. Les paramètres évalués comprennent l'activité antioxydants mesurée par les tests ABTS et pH ainsi que, la quantification des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes, des tanins et des saponines. Les résultats obtenus seront comparés à d'autres études afin de fournir une analyse comparative complète.

***I. Synthèse
bibliographique***

Le Stress oxydant

I.1.1. définition :

Le stress oxydant est causé par un déséquilibre entre les systèmes oxydants (radicaux libres) et antioxydants. Ce déséquilibre, résultant de l'augmentation de la production d'oxydants et/ou la réduction des antioxydants, génère un état de stress dans la cellule (**Favier, 1997 ; Edeas, 2010**).

Plusieurs études épidémiologiques et cliniques suggèrent que le stress oxydant joue un rôle important dans la genèse et l'entretien de nombreuses pathologies humaines ainsi que le vieillissement (**Haleng et al., 2007**). Vu la diversité et la gravité des maladies qu'induit le stress oxydant, plusieurs équipes de chercheurs se sont investis dans la recherche de nouveaux antioxydants en vue de lutter contre le stress oxydant et ses pathologies associées (**Bidie et al., 2011**).

I.1.2. Les radicaux libres :

I.1.2.1. Définition :

Les ERO (Espèce Réactive de l'Oxygène) sont des espèces chimiques oxygénées telles que les radicaux libres, les ions oxygénés et les peroxydes, qui deviennent très réactives en raison de la présence d'électrons non appariés dans leur couche externe. Ces espèces ont une durée de vie très courte en solution en raison de leur réactivité élevée (**Bensakhria, 2019**).

Leur caractère radicalaire persiste car l'électron libre peut se transférer à d'autres molécules, ce qui entraîne une réaction en chaîne d'oxydation. La réactivité des ERO est variable en fonction de la nature du radical et de l'environnement dans lequel ils se trouvent (**Halliwel et Whiteman, 2004**).

La découverte des espèces chimiques radicalaires présentes naturellement dans l'organisme a profondément modifié notre compréhension des mécanismes biologiques. Il est essentiel de distinguer un groupe restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle spécifique en physiologie, appelés radicaux primaires, tels que l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le radical hydroxyle OH^{\bullet} , et le monoxyde d'azote NO^{\bullet} .

D'autre part, les radicaux libres supplémentaires, appelés radicaux secondaires, se forment par réaction des radicaux primaires avec les composés biochimiques présents dans les cellules. (**Favier, 2003**). En effet, les radicaux libres en surnombre auront ainsi un effet visible sur

le vieillissement de la peau, les cancers, les maladies cardiaques et les maladies neuro-dégénératives (pilou,2014).

I.1.2.2. L'origine des radicaux libres :

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes.

a. Les radicaux libres endogènes :

Les radicaux libres internes sont principalement produits par nos propres cellules dans notre organisme. La mitochondrie est la principale source de production d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) dans les cellules intactes. Dans des conditions physiologiques, la formation de ce radical est associée à l'activité physique et à l'intensité de l'oxygénation. Les cellules phagocytaires activées peuvent également produire des radicaux libres par le biais de l'enzyme NADPH oxydase. De plus, plusieurs autres systèmes enzymatiques, tels que la xanthine oxydase, l'hème oxygénase et le cytochrome P450, peuvent générer des radicaux libres au cours de réactions biochimiques (Bensakhria, 2019).

b. Les radicaux libres exogènes :

Les radicaux libres externes sont également produits par des phénomènes extérieurs à notre organisme, provenant principalement de la consommation d'alcools, des résidus de la fumée de cigarette, ou de certains médicaments (chloroquine, adriamycine, acetaminophène). De plus, les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux libres, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets (Hininger et al., 2004).

➤ Les espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) regroupent à la fois les radicaux oxygénés et certains non-radicaux qui sont des agents oxydants et/ou facilement transformables en radicaux ($HOCl$, $HOBr$, O_3 , $ONOO$, $O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2) (Halliwell et Whiteman, 2004).

- **Anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$**

Produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire (Favier, 2003).

Selon la réaction suivante (Barouki, 2006) :



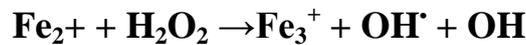
- **Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :**

Le H_2O_2 est un oxydant très puissant, potentiellement toxique pour la cellule, c'est une molécule stable en l'absence de métaux de transition mais hautement diffusible dans le cytoplasme et à travers les membranes. Le H_2O_2 est essentiellement produit lors de la dismutation du $O_2^{\cdot-}$ par la superoxyde dismutase selon la réaction (**Hamma et al., 2015**).



- **Radical hydroxyle (OH^\cdot) :**

Le radical hydroxyle, OH^\cdot , est la forme neutre de l'ion hydroxyde. Le radical hydroxyle a une réactivité élevée, ce qui en fait un radical très dangereux avec une très courte demi-vie in vivo (10–9s) (**Valko et al., 2006**).



Le radical superoxyde participe à la réaction non enzymatique de Haber-Weiss :



- **L'oxygène singulet 1O_2 :**

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou γ , soit en activant des molécules photosensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire de l'oxygène singulet (**favier, 2003**).

L'oxygène singulet n'est autre que l'oxygène moléculaire dont les spins des deux électrons non appariés sont inversés. Les effets néfastes de la lumière du soleil sur de nombreuses matières organiques (exemple : les polymères) sont souvent attribués aux effets de l'oxygène singulet selon la réaction suivants (**Hamma et al., 2015**).



- **Le peroxydinitrite ($ONOO^-$) :**

Le peroxydinitrite est formé selon la réaction (**Valko et al., 2006**) :



Le peroxydinitrite est un puissant oxydant et toxique cellulaire par ses effets sur l'oxydation des lipides et des thiols, sur la chaîne respiratoire mitochondriale et sur la stimulation de la libération de fer et sur la nitration des résidus tyrosines des protéines (**Hamma et al., 2015**). (**Valko et al., 2006**).

I.1.3. Les maladies causées par le stress oxydant :

Le stress oxydatif a été impliqué dans diverses pathologies. En effet, c'est un facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement accéléré (Favier, 2003).

La néphropathie diabétique : La néphropathie diabétique est une complication chronique du diabète de type 1 (DT1) et type 2 (DT2). En l'occurrence, le rein est vulnérable aux dommages causés par les radicaux libres générés par le stress oxydant. Ces radicaux peuvent attaquer les néphrons, perturbant ainsi la filtration de l'urée et de la créatinine, qui s'accumulent ensuite dans le sang (El Khamsi et Farh, 2022).

Le vieillissement : Les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle crucial en attaquant les composants cellulaires tels que les lipides, les protéines et les acides nucléiques, ce qui entraîne des dommages moléculaires oxydatifs cumulatifs dans différents tissus de diverses espèces, contribuant ainsi au processus du vieillissement (Bonfont-Rousselot, 2007).

L'hypertension : le stress oxydatif favorise la modification post-traductionnelle (oxydation et phosphorylation) des protéines et la signalisation aberrante avec pour conséquence des dommages au niveau du système cardiovasculaire (Touyz et al., 2020).

I.1.4. Plats traditionnels de *scolymus hispanicus* L. :

Les feuilles basilaires pelées de *Scolymus hispanicus* L. sont traditionnellement bouillies puis légèrement frites dans de l'huile d'olive avec de l'ail pour être servies en garniture du «cocido», un autre plat traditionnel espagnol (Tardío et al., 2006).

I.1.5. Usages médicinales de *scolymus hispanicus* L. :

Scolymus hispanicus L. a été associé à de nombreuses propriétés médicinales telles que des propriétés diurétiques, dépuratives, digestives, cholérétiques et lithiurétiques. Par ailleurs, en médecine traditionnelle, la consommation de cette plante à l'état vert ou cuit est recommandée pour les maladies du foie et des intestins.

Les tiges feuilletées sont utilisées pour les soins du tube digestif, la bronchite et le rhume et ont des propriétés emménagogues et anti diarrhéiques. Les racines en décoction sont recommandées comme antidiabétique. D'autres utilisations ont été signalées, comme dans la fièvre de Malte et l'infection oculaire. L'activité antioxydant du *Scolymus* a également été rapportée (Berdja et al., 2021).

I.1.6. Les maladies traitées par *Scolymus hispanicus* L. :

Scolymus hispanicus L. est reconnu comme une source naturelle d'antioxydants, comme l'ont souligné (Berdja et al., 2021). Ces antioxydants sont corrélés à la réduction de certaines maladies chroniques dans lesquelles le stress oxydatif peut jouer un rôle, telles que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, etc. En effet, les antioxydants ont la capacité de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'autres espèces réactives impliquées dans la progression de ces maladies. Par conséquent, les plantes dotées d'une activité élevée de piégeage des ROS suscitent un intérêt particulier en raison de leurs potentiels avantages pour la santé (Gonçalves et al., 2018).

L'étude menée par (Marmouzi et al., 2017) a mis en évidence l'activité antioxydants des alpha-tocophérols, telle qu'analyse par HPLC-FD. Les fleurs ont été observées avec les concentrations les plus élevées d'alpha-tocophérols, suivies des feuilles, des racines, et enfin des tiges de *Scolymus hispanicus* L (Morales et al., 2014). Ils ont souligné l'importance des tocophérols dans le maintien de la santé en neutralisant les radicaux libres générés par l'activité cellulaire normale et divers facteurs de stress. En tant qu'antioxydants, les tocophérols réagissent avec les radicaux peroxyde présents dans les lipides insaturés en leur fournissant un atome d'hydrogène. Cette réaction génère un hydroperoxyde et un radical tocophéroxyde. Par la suite, le radical tocophéroxyde peut réagir avec d'autres radicaux peroxyde ou tocophéroxyde, formant ainsi des adduits plus stables.

Scolymus hispanicus L. présente une activité antidiabétique en inhibant l' α -glucosidase et l' α -amylase, comme démontré dans l'étude de (Marmouzi et al., 2017). Ces inhibitions peuvent altérer la digestion des glucides, en particulier l' α -glucosidase, une enzyme présente dans la bordure en brosse de la muqueuse de l'intestin grêle, qui est responsable de la digestion des oligosaccharides en glucose. Par conséquent, en inhibant cette enzyme, la plante peut retarder le taux d'absorption global du glucose dans le sang et réduire l'hyperglycémie postprandiale. Cette propriété pourrait être bénéfique pour prévenir l'apparition du diabète ou les complications diabétiques à long terme (Končić et Bljajić, 2019).

Une étude menée par (Berdja et al., 2021) a évalué les effets de *Scolymus hispanicus* L. sur des souris soumises à un régime hyper gras. Les résultats ont révélé une augmentation des marqueurs de l'inflammation tels que le NO (oxyde nitrique) et NF- κ B (facteur nucléaire kappa B). Cependant, l'administration des composés lipophiles présents dans l'extrait de *Scolymus hispanicus* L. ont démontré des propriétés anti-inflammatoires in vitro. Ces métabolites ont démontré leur capacité à inhiber l'expression de NF- κ B p65 et à réduire la

production de cytokines inflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-1 β et le TNF- α dans les mononucléaires du sang périphérique humain stimulés par le PHA.

Ces résultats suggèrent que les composés lipophiles extraits de *Scolymus hispanicus* L. via ses composants polyphénoliques pourraient avoir un potentiel prometteur en tant qu'agents anti-inflammatoires. Les activités anticancéreuses des saponines comprennent l'anti-prolifération, l'anti-métastase, l'anti-angiogenèse et l'inversion de la résistance multidroge (MDR). Ces effets sont provoqués par l'induction de l'apoptose, la promotion de la différenciation cellulaire, les effets immunomodulateurs, la liaison des acides biliaires et l'amélioration de la prolifération cellulaire induite par les carcinogènes.

Différents mécanismes moléculaires sont impliqués dans l'activité anticancéreuse des saponines Il convient de noter que le mécanisme d'action anticancéreuse des saponines est fortement lié à la nature des fragments structuraux, y compris le fragment aglycone, la longueur et la liaison de la chaîne glycosidique, la présence d'un groupe carboxylique fonctionnel sur la chaîne aglycone, la nombre de molécules de sucre et de groupe hydroxyle, position du groupe hydroxyle, stéréosélectivité et type de molécule de sucre sur la chaîne glycine .Cette section examine les processus critiques du développement des cellules cancéreuses et comment différentes saponines aident à inhiber le cancer à différents stades (Elekofehint et al ., 2021).

Les antioxydants

I.2.1 Définition :

Les antioxydants sont définis comme des substances capables de concurrencer d'autres substrats oxydables à des concentrations relativement basses et donc de retarder ou d'empêcher l'oxydation de ces substrats. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre (Halliwell et Whiteman, 2004). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est exogène l'autre est endogène (Haleng et al., 2007).

I.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques endogènes :

Les systèmes antioxydants enzymatiques comportent un ensemble d'enzymes qui préviennent le stress oxydatif, parmi elles :

a. La superoxyde dismutase:

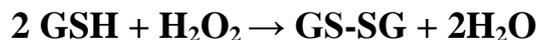
Les SOD représentent l'une des premières lignes de défense antioxydants. Ce sont des métalloprotéines qui catalyse la dismutation mono-électronique du $O_2^{\cdot-}$ comme suit :



Chez l'homme, il existe trois isoformes. La SOD1 cytosolique, et la SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre comme cofacteur nécessaire à l'activité enzymatique et le zinc jouant un rôle structural. Alors que la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse comme cofacteur (Hamma et al., 2015).

b. La glutathion peroxydase :

Les GPx sont des sélénoprotéines qui catalysent la réduction du H_2O_2 et des hydroperoxydes de lipides en H_2O et en alcools lipidiques respectivement en une réaction utilisant le glutathion (glutamyl-cystéinyl-glycine) réduit (GSH) comme co-substrat (Hamma et al., 2015) :

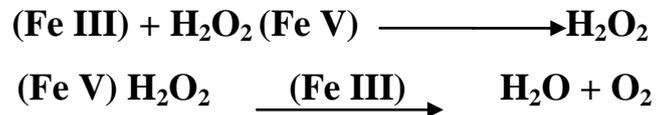


Les GPx sont abondants dans le cytosol et la mitochondrie, et est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (Valko et al., 2006).

Il existe différents types de GPx dont les GPx-1 (cytosolique), GPx-2 (gastro-intestinale), GPx-3 (plasmatique), GPx-4 (cytosolique, mitochondriale et membranaire) et les GPx-5 ou snGPx (intervenant durant la spermatogénèse) (Favier, 2003).

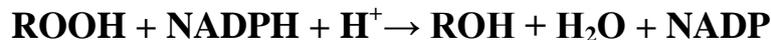
c. La catalase :

La catalase est une enzyme héminique essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les hématies. Elle catalyse la dismutation du H₂O₂ (Hamma et al., 2015) et se fait en deux étapes (Bensakhria, 2019) :

**d. La thiorédoxine (TRX) :**

L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine (Trx) qui est régénérée par le NADPH sous l'action d'une séléno-enzyme, la thiorédoxine réductase (TrxR). La Trx intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène. En ce qui concerne les peroxyrédoxines (Prx), elle constitue un groupe de sélénothiol peroxydases non spécifiques qui contribuent également au contrôle redox cellulaire par l'intermédiaire de leur capacité à éliminer les hydroperoxydes organiques et le H₂O₂ (Hamma et al., 2015).

Selon la réaction suivante (Bensakhria, 2019) :

**I.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques exogènes :**

Parmi les systèmes antioxydants non enzymatiques, certains sont solubles dans l'eau, c'est le cas du glutathion, la vitamine C et l'acide urique. Les autres systèmes antioxydants, tels que les vitamines E, A et le β-carotène, étant liposolubles agissent au sein des membranes, également, d'autres molécules amphipathiques (Hamma et al., 2015).

a. Le glutathion et les protéines-thiols :

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (Hamma et al., 2015).

b. La vitamine C :

Un cofacteur biologique crucial, nécessaire à la santé humaine. son rôle majeur se manifeste en tant qu'agent antioxydant, agissant notamment par la réduction du radical α -tocophéroxyde ou du glutathion oxydé (Warren et Mayer, 2010).

c. Vitamine E (α -tocophérol) :

Fonctionne comme un antioxydant liposoluble essentiel, éliminant les radicaux hydroperoxyde (ROO^{\bullet}) dans un milieu lipidique (Raber et Stevens, 2011).

d. L'acide urique :

L'acide urique, produit final du processus de dégradation des bases puriques. Le potentiel antioxydant de l'acide urique réside dans sa capacité à réagir avec des oxydants puissants, tels que les radicaux peroxyde et HO^{\bullet} (Möller et al., 2011).

e. Les caroténoïdes :

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles. Leurs propriétés chimiques sont étroitement liées à la présence d'un système étendu de doubles liaisons conjuguées qui sont substituées par divers groupes terminaux. Les espèces réactives de l'oxygène qui sont efficacement piégées par les caroténoïdes sont les radicaux O_2 et peroxyde (Marc et al., 2004).

f. Les polyphénols :

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng et al., 2007).

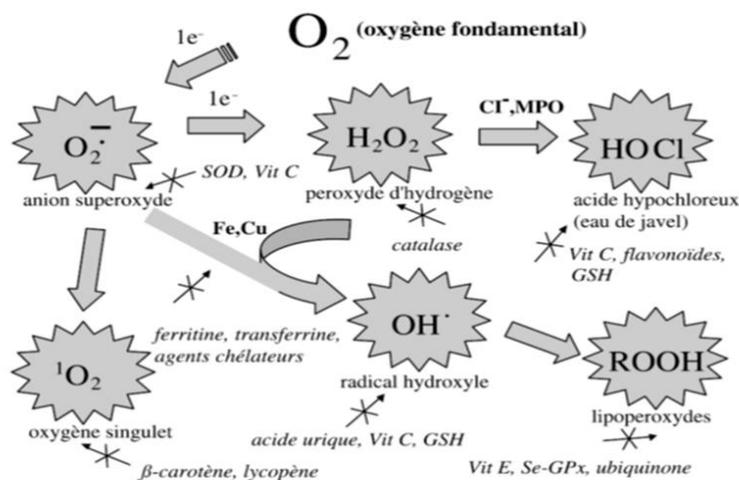


Figure N°1 : Régulation de la production des ROS par les systèmes de défenses antioxydants.

Les composés Phénoliques

I.1.3.1 Définition :

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des substances qui ont un cycle aromatique lié à un ou plusieurs substituants hydroxyle (Elie, 2022). Ils constituent l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires des plantes avec plus de 8000 composés dans diverses espèces végétales rapporté dans la littérature scientifique, ayant plusieurs fonctions importantes et variées (Prabhu et al., 2021).

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants ce qui constitue la base de leurs effets bénéfiques sur la santé associés à des conditions telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neuro-dégénératives et le vieillissement. Ils peuvent être conjugués, avec un ou plusieurs résidus de sucre liés à des groupes hydroxyle ou être liés d'autres composés chimiques carboxyliques ou organiques (pandy et rivzi, 2009).

I.1.3.2. Voies de synthèse des polyphénols :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones.

Certains composés poly phénoliques, sont des résultats de combinaison des deux voies donnant la voie mixte qui est les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

I.1.3.3. Les principales classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être classés de différentes manières dus à leur diversité de structures hétérogènes qui vont des molécules simples aux composés hautement polymérisés sont les acides phénoliques et leurs dérivés, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés (Giada, 2013).

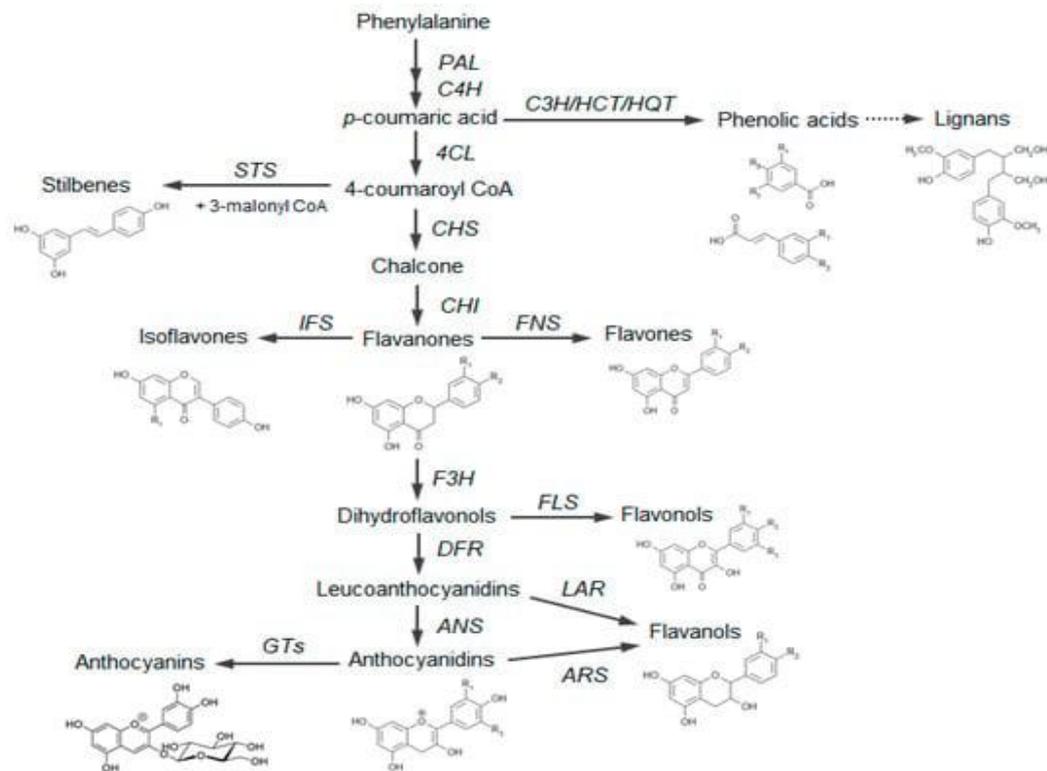


Figure N°2: Représentation schématique de la voie générale de biosynthèse des polyphénols, avec les principales classes de polyphénols (Scarano et al., 2020).

a. Les acides phénoliques et leurs dérivés :

Ces composés aromatiques sont identifiés par une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3) dans la structure. Ils peuvent être répartis en deux familles (Pandey et rivzi, 2009) :

- **L'acides hydrox benzoïques :**

Les acides hydroxy benzoïques sont caractérisés par la présence d'un groupe carboxyle substitué sur un phénol, ils comprennent l'acide p-hydroxy benzoïque, l'acide gallique, l'acide protocatéchuique, l'acide salicylique et l'acide vanillique. Ils sont identifiés par une chaîne latérale à trois carbones (C6- C1) dans la structure. Ils se présentent à la fois sous forme libre et en combinaison avec des esters de glycosides.

- **L'acidehydrocinnamique :**

Ce sont presque exclusivement dérivés de l'acide p-coumarique, de l'acide caféique et de l'acide férulique où l'acide sinapique est, en général, moins rencontré. Ces composés aromatiques sont identifiés par une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3) dans la structure (Lien et al., 2016).

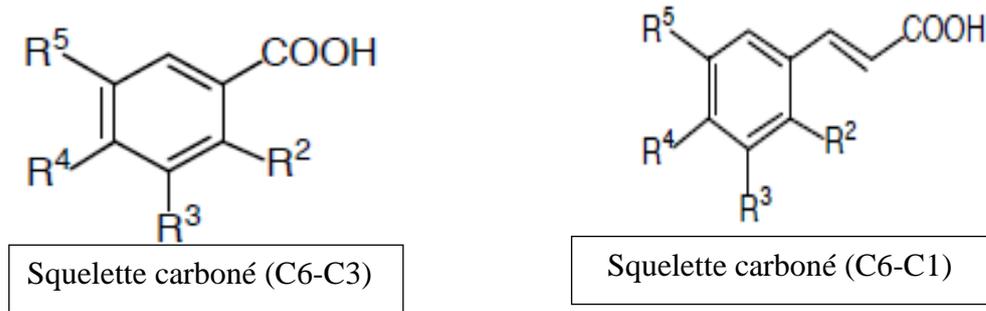


Figure N° 3: Structure de base des composantes des acides phénoliques (Lien et al., 2016).

b. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun à 15 atomes de carbones (C6-C3-C6) correspondant à la structure du diphenylpropane (massaux, 2012).

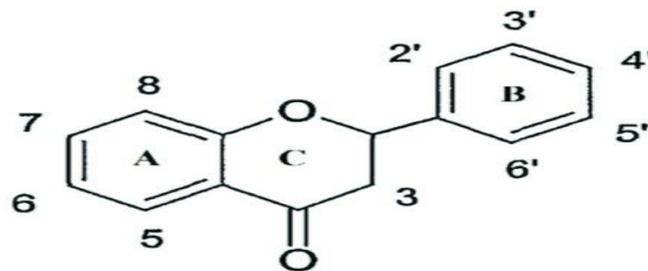


Figure N° 4: Structure de base des flavonoïdes (Cianciosi et al., 2018).

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils ont été répartis en six sous-groupes (Ghedira, 2005).

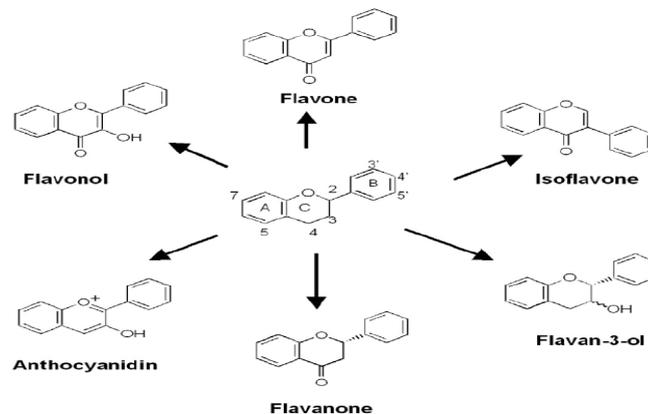


Figure N° 5: structure de base des sous-groupes des flavonoïdes (Di Rio et al., 2013).

c. Les tanins :

Les tanins sont classés comme des métabolites secondaires polyphénoliques, ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 dalton (**Doat, 1978**). Le type et le rapport solvant/eau ainsi que la température d'extraction jouent un rôle crucial dans l'extraction des tanins, qui peuvent être classés en deux groupes principaux :

- **Les tanins hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables sont des molécules complexes, qui sont composés d'acides éllagiques et d'acides avec un noyau de sucre principalement du glucose. Selon l'estérification, les tanins hydrolysables sont subdivisés en gallotanins et en ellagitannins.

- **Les tanins condensés :**

Les tanins condensés sont composés des flavonoïdes (flavan 3-ol ou flavan 3, 4-diol) sans noyau de sucre, et représentant plus de 90% du total des tanins commerciaux du marché mondial.

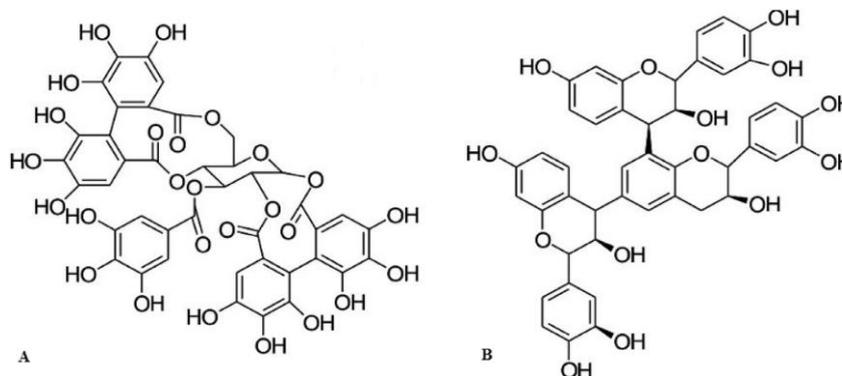


Figure N°6: Structure des tanins (A) hydrolysables et (B) condensés (**Das et al., 2020**).

1.1.3.4. Les saponines :

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo, saponis », qui signifie savon, parce que ces composés qui se dissolvent dans l'eau en formant une solution moussante grâce à leur activité tensioactive (**Chaieb et al., 2010**). Ils sont largement répandus dans la nature, d'origine végétale (**Vincken et al., 2007**), mais également peuvent être obtenues à partir de certains animaux marins comme les étoiles de mer antarctiques et les éponges marines (**Chaiebet al., 2010**).

Les saponines ou saponosides sont des hétérosides lors de l'hydrolyse produisent du glycon (sucre) et de l'aglycone (sapogénine). Selon la structure chimique de l'aglycone ou de la sapogénine, les saponines sont classées en types neutre et acide, les saponines dites neutres

sont des dérivés de stéroïdes à chaînes latérales spirocétales, et les acides qui possèdent une structure triterpénoïde (Desa et al.,2017).

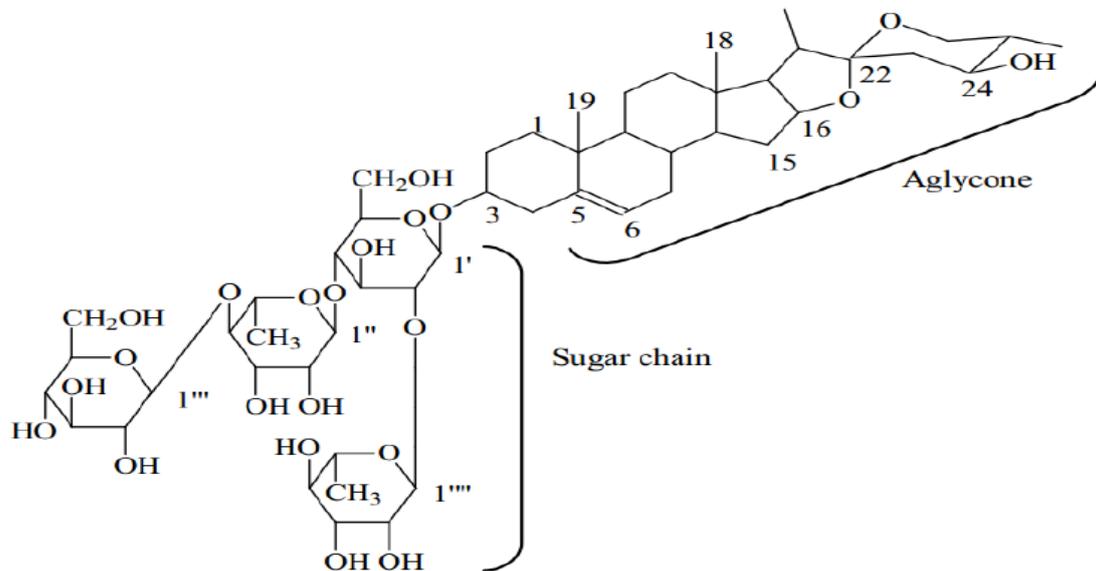


Figure N°7 : Structure commune des saponines : (a)triterpéniques (b)stéroïdiens (Moghimpour et Handali, 2015).

I.1.3.5. Propriétés biologiques des polyphénols :

Les études scientifiques actuelles ont permis de confirmer les propriétés médicinales attribuées aux polyphénols :

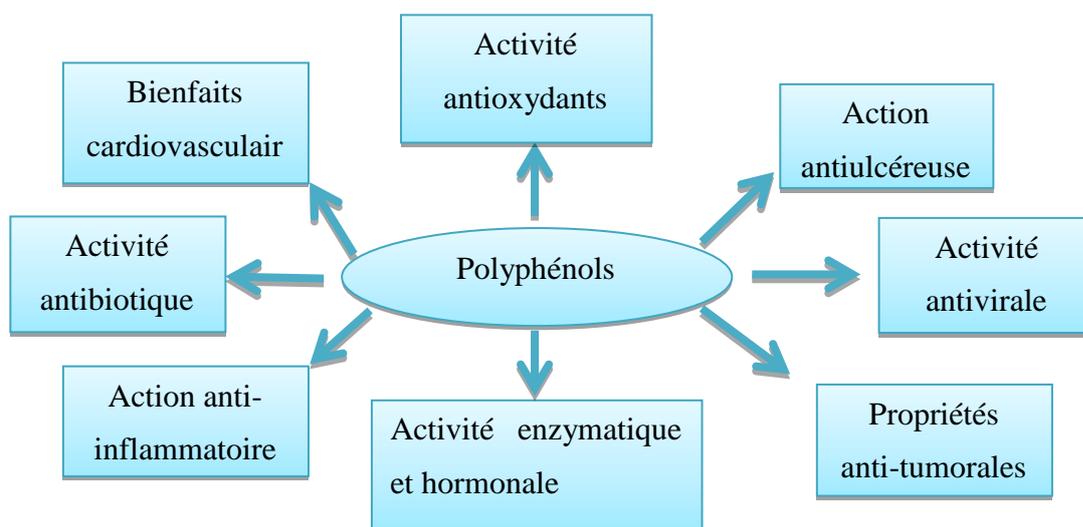


Figure N°8:Propriétés biologiques des polyphénols(Massaux,2012).

a. Activités antioxydants des composés phénoliques :

L'activité antioxydants des composés phénoliques dépend de leurs structures chimiques, à savoir du nombre et de la disposition des groupements hydroxylés (**Oliveira et al., 2012**), et qui sont (**Lien et al., 2016**) :

- la chélation avec des métaux de transition pour former des composés complexés stables. Dans ce mécanisme, l'élimination et la neutralisation des métaux prooxydants les empêchent de rejoindre les réactions génératrices de radicaux libres.
- La capacité d'inhibition des polyphénols sur les enzymes oxydantes est considérée comme un autre mécanisme d'anti oxydation.
- La capacité de piégeage des radicaux libres, dans laquelle les polyphénols inhibent les réactions de propagation en chaîne des radicaux libres, semble être la plus importante.

Selon les résultats de certaines études conduites chez l'homme ces dernières années, les polyphénols seraient impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires et peut-être également d'autres pathologies telles que les maladies neuro-dégénératives, le diabète, l'ostéoporose et les cancers.

Ces composés sont ainsi devenus en quelques années les molécules préférées des nutritionnistes, des épidémiologistes, des industriels de l'agroalimentaire et des laboratoires pharmaceutiques et cosmétiques (**Massaux, 2012**).

b. Les polyphénols ayant une activité antioxydants et/ou anti-inflammatoire :

Il existe plusieurs types de polyphénols ayant des activités antioxydants qui peuvent aider à protéger les cellules contre le dommage causé par les radicaux libres, et ayant des activités anti-inflammatoires. En l'occurrence, l'inflammation chronique est un facteur de risque pour de nombreuses maladies chroniques, et la consommation d'aliments riches en polyphénols peut aider à réduire ce risque (**Shahidi, 2015 ; Prabhu et al., 2021**).

Les polyphénols ont été étudiés comme agents anti-inflammatoires potentiels dans diverses maladies inflammatoires, telles que la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies neurodégénératives. Les polyphénols réduisent le stress oxydatif, ce qui inhiberait la transduction du signal pour la production de médiateurs pro-inflammatoires (**Figure N°9**).

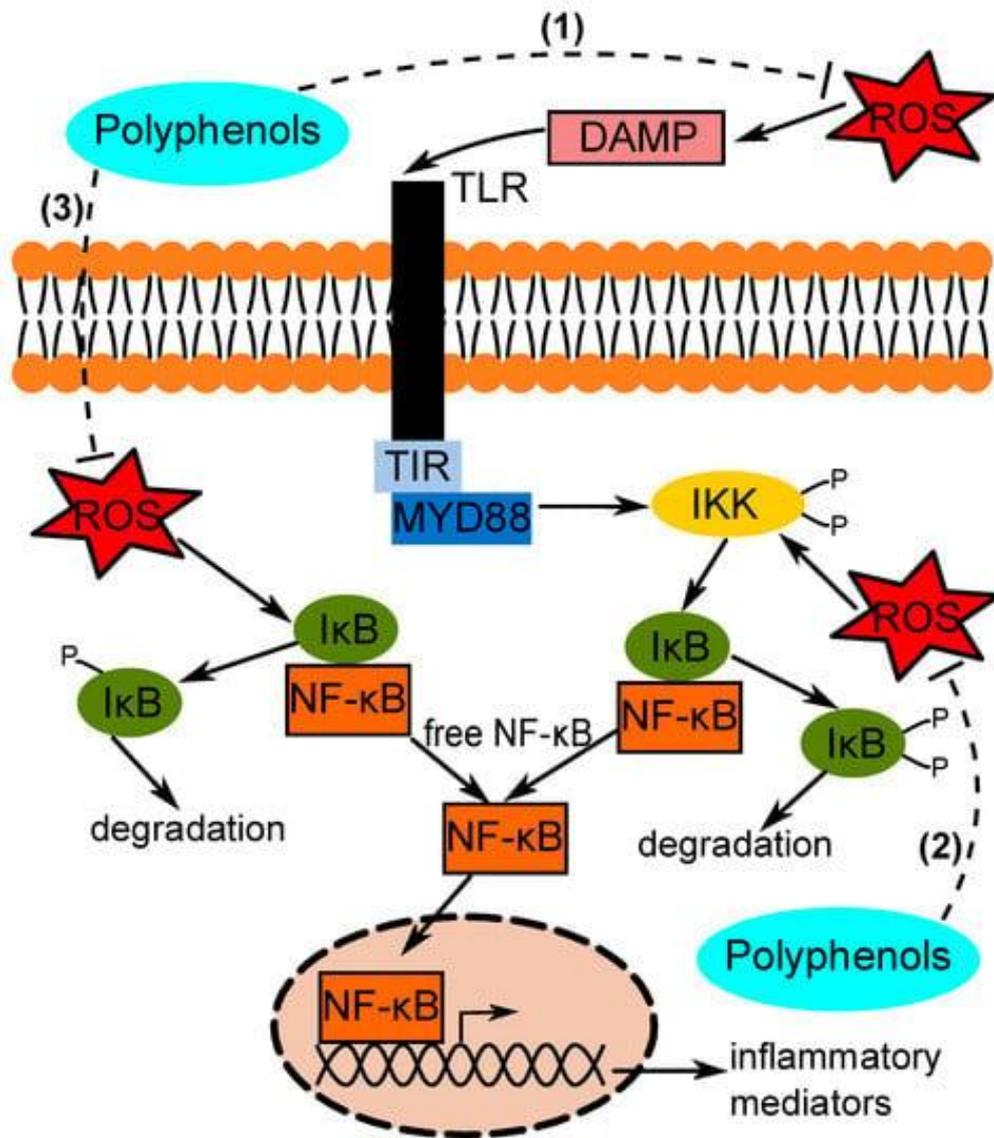


Figure N°9: Mécanisme d'action potentiel des polyphénols dans l'inhibition de l'inflammation (Singh et al., 2020).

Facteurs influençant L'extraction

I.4.1. Les facteurs influençant l'efficacité de l'extraction:**a. Méthode d'extraction :**

Le facteur le plus important est le choix de la bonne technique d'extraction.

Afin d'optimiser l'extraction des composés phénoliques, diverses méthodes ont été exploitées à cet égard, résumées dans le tableau ci-dessous :

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
Infusion	Préparation réalisée en versant de l'eau bouillante sur les herbes séchées(feilles, fleurs, graines, écorce et racines) et en les laissant infuser afin d'en extraire leurs propriétés médicinales.	Facile à réaliser avec un du simple matériel.	La température d'extraction ne peut pas être contrôlée.
Hydro distillation	consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition.	peut s'effectuer avec ou sans colomage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation.	dus à l'action de la vapeur d'eau certains organes végétaux (fleurs)sont trop fragiles.
Macération	Préparé en laissant infuser une tisane dans l'eau froide pendant plusieurs heures pour extraire ses principes actifs.	simple, faible coût, configuration la moins expérimentale, caractéristiques respectueuses de l'environnement.	des variations d'un lot à l'autre entraînant des erreurs. Il faut énormément de temps pour atteindre l'équilibre
Décoction	consiste à plonger la plante dans l'eau bouillante et à maintenir l'ébullition quelques minutes.	simple, faible coût, configuration la moins expérimentale.	inefficace pour les composés sensibles à la chaleur et à la lumière.

Extraction par soxhlet	technique dans laquelle l'échantillon est en contact répété avec l'agent d'extraction, augmentant ainsi le rendement de l'extrait.	Faible coût; opération simple; taux d'extraction élevé.	Temps d'extraction long, réactif important et consommation d'énergie.
Extraction assistée par ultrasons	L'introduction de ces ondes à haute fréquence entraîne une perturbation du mélange soluté-solvant, entraînant la rupture des parois cellulaires et la diffusion du solvant.	Simple, nécessitent moins d'énergie, constituent, technologie d'extraction assistée rapide et efficace.	l'exigence d'un sur plus d'énergie ultrasonore constante pour l'extraction du contenu phénolique.
Extraction assistée par micro-ondes	introduction d'un champ électrique et magnétique entraîne un transfert de chaleur et une conduction, entraînant un moment dipolaire entre le solvant et l'échantillon.	temps d'extraction plus court, un besoin minimal en solvant, un meilleur rapport coût-efficacité et un meilleur rendement d'extraction phénolique	une énorme quantité de chaleur et de perte d'énergie.
Extraction par fluide supercritique	Implique la séparation d'un composant alimentaire (un composé bioactif) de l'échantillon à l'aide de fluides supercritiques comme solvant d'extraction. Le CO ₂ est le solvant supercritique le plus largement utilisé.	Efficacité d'extraction élevée, moins d'utilisation de réactifs toxiques et séparation facile des lipides, protéger les composés bioactifs	trop de conditions opératoires à respecter l'équipement qui est plus cher.

Tableau N°I : Méthodes, principes, avantages et inconvénients des méthodes d'extraction (Kraft et Hobbs, 2004 ; Farhat, 2010 ; Sridhar, 2019 ;Boukhatem et al., 2019).

b. Le pH :

Une règle fondamentale dans le processus d'extraction est que seules les molécules de charge globalement neutre sont extractibles par les solvants organiques. Il est nécessaire d'utiliser un pH bas dans l'extraction par solvant afin d'empêcher l'oxydation des composés phénoliques (*Emuri et al., 2010*).

c. Le soluté :

Le soluté est la substance ou la molécule à extraire. Il possède des caractères physicochimiques qui lui sont propres. Sa structure chimique influence naturellement le coefficient de partage

d. Taille des particules :

La surface de contact entre le solide et le liquide augmente lorsque la taille de la particule diminue à travers l'augmentation de la surface spécifique.

e. La température :

Les températures élevées sont connues pour favoriser une meilleure extraction en améliorant différents aspects du processus. En effet, la chaleur accroît la perméabilité des cellules, les coefficients de diffusion, la solubilité et le taux de transfert de masse des composés étudiés, ce qui conduit à une plus grande efficacité d'extraction.

f. Temps d'extraction :

Le temps d'extraction a un rôle très important dans le processus d'extraction, plus le temps d'extraction est long, plus le rendement d'extrait est élevé.

En général, les solvants d'extraction les plus courants pour l'extraction des polyphénols sont le méthanol, le méthanol acidifié ou des combinaisons méthanol-eau. Le choix du solvant est également primordial pour une extraction optimale. Les solvants peuvent être classés selon leurs similitudes de groupement chimiques :

g. Type du solvant :

- **Solvants protéiques et polaires :** Ces solvants peuvent former des liaisons H, possèdent un fort moment dipolaire (μ élevé) et un fort pouvoir ionisant. Ils sont souvent miscibles à l'eau. Citons comme exemple l'acide formique ou les autres acides carboxyliques (*Fernunndez et al., 2020*).
- **Solvants aprotiques et dipolaires :** Ce sont des solvants miscibles à l'eau le plus souvent, qui ne donnent et n'acceptent pas de liaisons H, et qui ont un fort pouvoir ionisant et un caractère dissociant. Ce sont par exemple l'acétonitrile, l'acétone ou le diméthylsulfoxyde (DMSO).

- **Solvants aprotiques et apolaires :** Ces derniers ne forment pas de liaison H, présentent un moment dipolaire très faible et sont souvent non miscibles dans l'eau : hexane, benzène, toluène ou tétrachlorure de carbone.
- **Solvants aprotiques et peu polaires :** Ce sont des solvants intermédiaires. Ils possèdent un moment dipolaire faible et ne peuvent pas former de liaisons H. On retrouve dans cette famille l'éther, le thioéter ou le tétrahydrofurane

II. Matériel

Et méthodes

II.1. Matériel végétal « *Scolymus hispanicus* L. »

II.1.1. Description botanique :

Scolymus hispanicus L. nommé également chardon doré, est une plante bisannuelle ou vivace épineuses de la famille des Asteraceae, qui pousse dans les pays méditerranéens à climat doux, dont la hauteur atteint 70cm (Tunalier et al., 2006). Ses fleurs sont jaunes et les feuilles caulinaires, rigides, oblongues à ovales, dentées ou légèrement lobées, épineuses, glabres, peuvent atteindre 20 cm de longueur et enserrant la tige. Les tiges ont des ailes épineuses et interrompues (figure 10).

La période et le nombre de récoltes de *Scolymus hispanicus* L. dépendent essentiellement du régime pluviométrique intervenant entre août et en octobre (Sergio et al., 2023).



Figure N°10: Feuilles, fleurs de *Scolymus hispanicus* L. (photographie originale).

II.1.2. Nomenclature:

Scolymus hispanicus L. est connue sous plusieurs appellations (Marmouzi et al., 2017).

- **Nom scientifique:** *Scolymus hispanicus*
- **Nom Français:** Scolyme d'Espagne
- **Nom arabe:** Garnina
- **Nom Kabyle:** taghadiwth
- **Nom anglais:** Golden Thistle

II.1.3. Distributions géographiques :

Scolymus hispanicus L. est l'un des légumes sauvages les plus appréciés du centre de l'Espagne et d'autres régions espagnoles. Il est également consommé dans d'autres pays méditerranéens, comme le Portugal, le Maroc, l'Algérie, la France, l'Italie, la Grèce, Chypre et la Turquie. On peut le trouver dans les champs agricoles non cultivés, et les terres nitrifiées (Polo et al., 2009 ; Vázquez, 2000).

II.2. Matériel biologique :

➤ Réactifs

Eau distillée, Réactif de Folin–Ciocalteu, bicarbonate sodium, solution DPPH, solution ABTS, chlorure d'aluminium (AlCl₃), vanilline, acides sulfuriques, méthanol, HCL concentré, FeCL₃.

➤ Appareillages :

Broyeur électrique (Brandmann), tamiseuse (Retsch), balance de précision (OHAUS)et (RADWAG), centrifugeuse (Sigma1-6) , bain Marie (Raypa), vortex (VELP Z*3), spectrophotomètre (UV-9200), pH-mètre (Hanna PH 211), réfrigérateur (Condor), hôte chimique (HS8P-180).

II.3. Méthodes :

II.3.1. Préparation de l'extrait de la plante :

➤ Récolte :

Scolymus hispanicus L. a été récoltée dans la wilaya de Bejaïa et a été identifiée au laboratoire botanique de l'université de Bejaïa.

➤ Séchage :

La plante a été séparée en deux parties : feuilles et racine puis mis à sécher à l'air et à l'abri de la lumière pendant plusieurs jours.

➤ Broyage et tamisage :

La plante sèche obtenue a été passée dans un broyeur électrique plusieurs fois pendant 10s, ensuite dans une tamiseuse afin d'obtenir une poudre de 250µm de diamètre, conservée par la suite dans des flacons opaque et mis au congélateur.

II.4. Optimisation des conditions d'extraction par logiciel JMP pro 14 :

Afin de déterminer les meilleures conditions des tâtonnements initiaux ont été réalisés en variant les volumes d'éthanol avec les quantités de la poudre de plantes.

Puis, la quantité d'éthanol a été variée de 60% à 100%, la température de 35TC° à 55TC° et le temps d'extraction de 25min à 40min. Ce choix des paramètres a été soumis au logiciel JMP pro14 afin de nous donner une activité ABTS (activité antioxydants) et un taux de poly phénols optimaux.

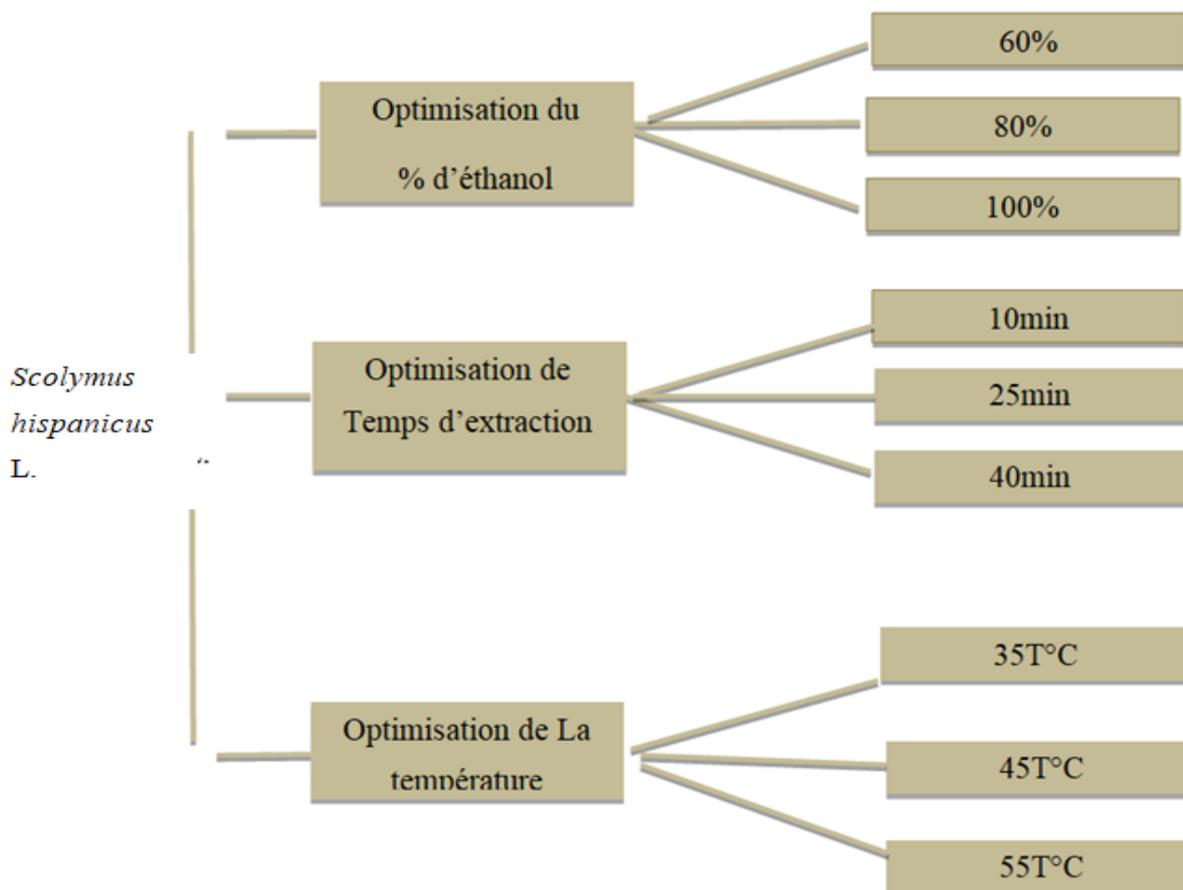


Figure N°11 : Schéma représentant le protocole à suivre proposé par GMPpro14.

Dans des tubes en verre des quantités de poudres de feuilles ou de racines ont été disposés, ensuite une quantité de solvant d'extraction (Ethanol 60 %, 80%, 100%) ont été ajoutée et conservées pendant trois temps de macération différents en les agitant chaque deux minutes à des températures différentes.

Ensuite les échantillons ont été centrifugés et les surnageant sont été utilisés pour déterminer le contenu phénolique total et effectuer le dosage de l'activité anti- radicalaire en utilisant le test ABTS avec trois essais pour chaque tube. Deux droites d'étalonnages pour la quantification des taux de polyphénols des deux parties de la plante ont été réalisées en utilisant l'acide gallique comme standard qui nous a donné les meilleures conditions optimales en température, temps d'extraction et en % d'éthanol.

II.5. L'extraction :

Selon le logiciel JMP pro 14 et après plusieurs essais d'optimisation de l'extraction une étape finale optimale d'extraction a été sélectionnée :

L'évaporation du solvant s'est faite sous une hôte chimique jusqu'à ce que le poids de l'extrait soit stabilisé, à l'abri de la lumière, puis, l'extrait éthanolique de *scolymus hispanicus* L. a été conservé dans des boîtes de pétri afin de préserver ses principes actifs.



Figure N°12: Procédure d'extraction à partir des racines de *scolymus hispanicus* L.

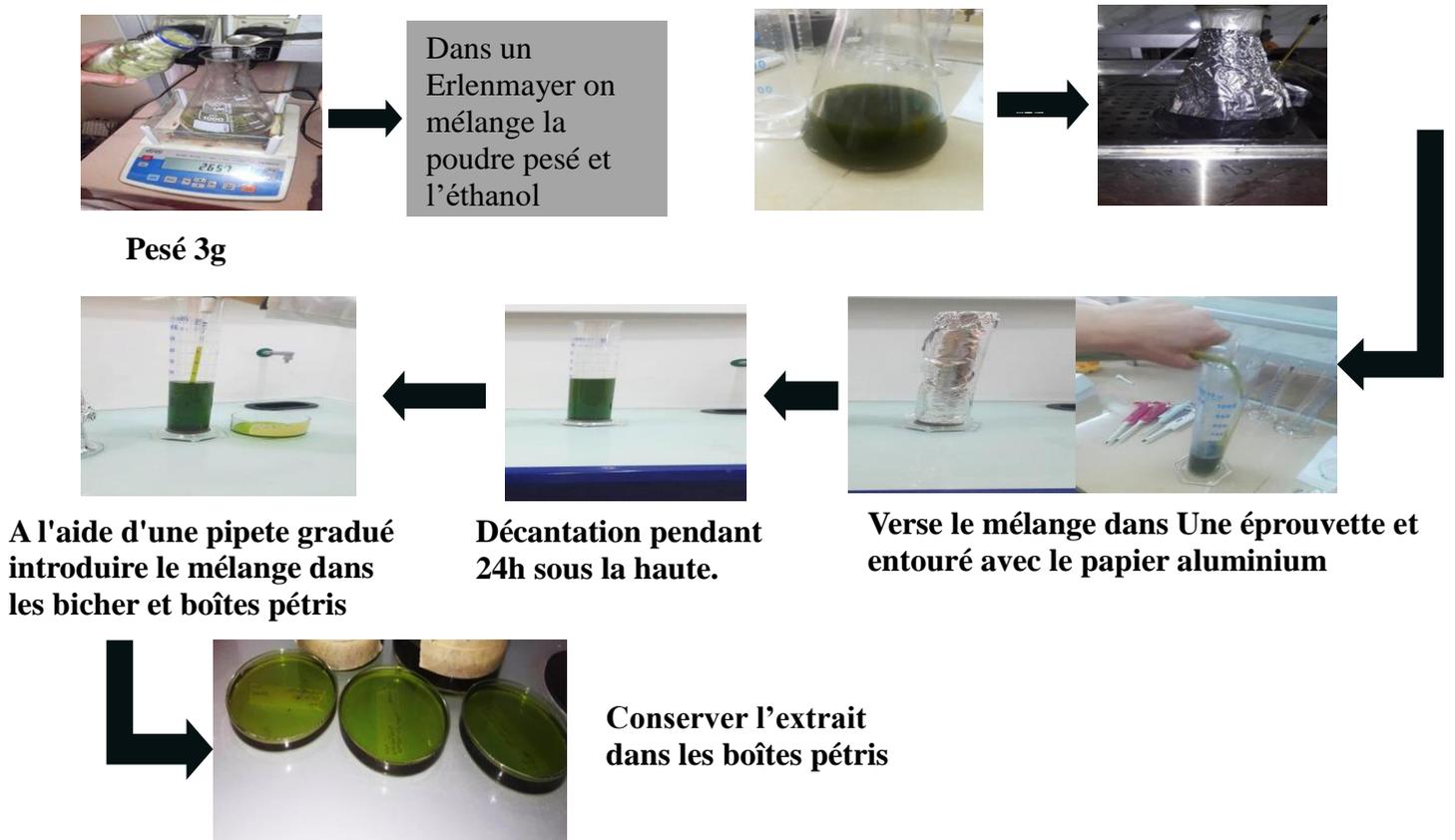


Figure N°13: Procédure d'extraction à partir des feuilles de *scolymus hispanicus*L.

II.6. Dosage des polyphénols totaux :

Principe :

Le réactif de folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune. Qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et molybdène (Li et al., 2007). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Protocole : Basée sur le protocole décrit par (Singleton et Ross, 1965) légèrement modifié :

Feuilles	Racines
Dans des eppendorfs de 2ml, un volume d'extrait dilué a été ajouté à 500µl folin dilué à 1/10 ensuite, 495µl de carbonate sodium 7,5% ont été ajoutés.	Racines : Dans des eppendorfs de 2ml, un volume de l'extrait dilué d'extrait a été ajouté à 500µl folin dilué à 1/10 ensuite ajouté 475µl de carbonate sodium 7,5%.

Le mélange a été incubé une heure à l'obscurité et l'absorbance a été mesurée à 765nm.

II.7. Evaluation de l'activité anti oxydants « Test ABTS » :

Principe:

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence du persulfate de potassium. L'addition d'un antioxydants à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à 734nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydants du composé testé (Hammondi et al., 2015).

Protocole :

Ajouter un volume d'extrait aux eppendorfs de 2ml d'ABTS pour les racines et les feuilles.

Incubation 30 min à l'obscurité puis mesure l'absorbance à 734nm.

II.8. Tests réalisés sur l'extrait brut obtenu à partir de l'optimisation d'extraction :

II.8.1. Test de DPPH :

Principe :

La méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, le DPPH. La réduction induit un changement de sa couleur violette en couleur jaune (**Hammondi et al., 2015**)

Protocole :

En suivant la méthode décrite par (**molyneux ,2003**) légèrement modifié. La solution de DPPH a été préparée en dissolvant 4mg de ce produit dans 100ml d'éthanol.

Feuilles	Racines
on ajoute 25µl d'extrait à 2ml de la solution de DPPH préparée	on ajoute 100µl d'extrait à 2ml de la solution de DPPH préparée

Incubation 6 min à l'abri de la lumière et lecture d'absorbance à 517nm.

II.8.2. Dosage des flavonoïdes :

Principe :

Une liaison covalente entre le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et les groupements hydroxyles (OH) d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes produise un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430nm. (**Ababsa et al., 2018 ;Ali-Rachedi et al., 2018**).

Protocole :

Le présent protocole a été réalisé selon le protocole décrit par (**Boharun, 1996**), avec quelques modifications :

Dans des eppendorfs on verse 500µl de solution AlCl₃ (2%, dans le méthanol) avec 500µl d'extrait laisser réagir à température ambiante pendant 10min, et Mesurer les absorbance à 430nm (**ababsa et al.,2018**).

II.8.3. Dosage des tanins condensés :

Principe :

Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement terminal des tanins et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (**Dif et al., 2015**)

Protocole :

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl décrite par (**Julkunen-Titto, 1985**).

Un volume de 50µl de chaque extrait a été ajouté à la solution vanilline (méthanol à 4 %), puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume d'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu a été laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 550nm.

II.8.4. Dosage des tanins hydrolysables :

Cette méthode est basée sur une réaction avec le trichlorure de fer, le mélange d'extrait tannique plus le réactif du trichlorure ferrique (FeCl₃) provoque une coloration rouge violette du complexe d'où la formation des ions de (Fe³⁺) (Dif et al., 2015).

Protocole : Le dosage des tannins hydrolysables a été réalisé selon le protocole de (Mole et Waterman, 1987). 1 ml d'extrait a été additionné à 3,5 ml d'une solution préparée à base de trichlorure ferrique (FeCl₃) dans l'acide chlorhydrique (HCl). Après 15 minutes, l'absorbance du mélange a été lue à 660nm. (Bouterfas et al., 2013).

II.8.5. Dosage des saponines :

Principe :

La méthode utilisée pour le dosage des saponines totales est celle de (Shiau et al., 2009), avec quelques modifications.

Protocole :

125µl d'extrait est rajoutée à 125µl de vanilline ensuite, l'acide sulfurique a additionné au mélange précédent. L'absorbance a été mesurée à 544nm.

II.9. Droites d'étalonnage pour le dosage des composants de l'extrait de *Scolymus hispanicus* L. :

Des droites d'étalonnage ont été réalisées pour chaque dosage des composants de la plante, incluant des molécules pure utilisées comme standards. Des droites supplémentaires ont été obtenues à partir des pourcentages d'inhibition du DPPH et de l'ABTS afin d'obtenir les IC₅₀ correspondants à chaque radical.

II.10. Analyse statistiques :

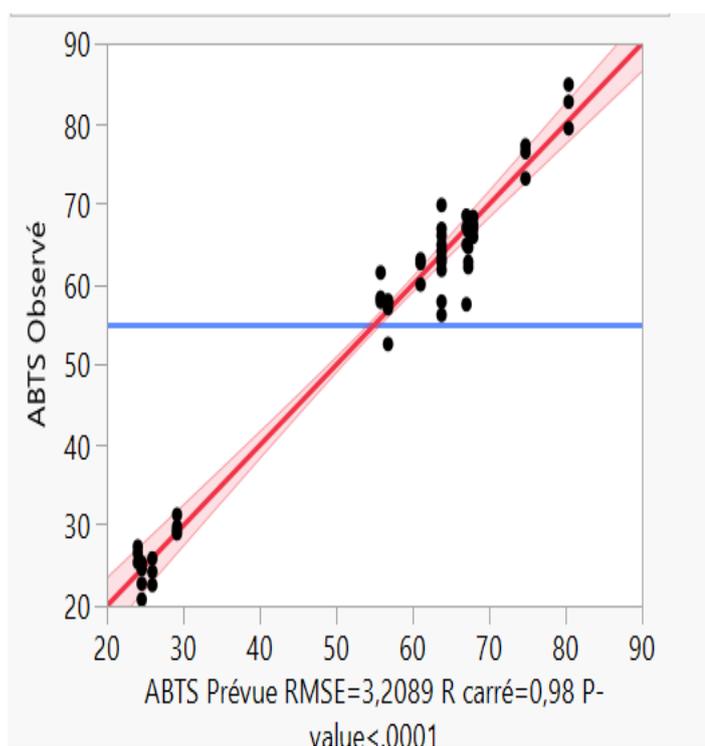
Les résultats ont été exprimés en moyenne ± equartype pour les mesures in vitro. Le logiciel Excel a été utilisé pour réaliser les calculs et le logiciel GMPpro14 a été utilisé pour la réalisation des calculs de l'optimisation.

III. Résultats et discussion

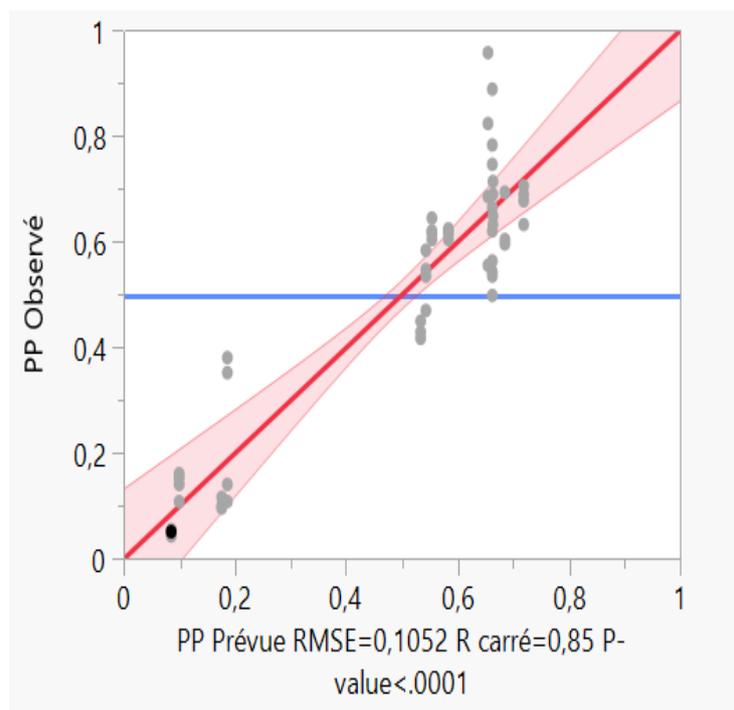
III.1. Optimisation d'extraction des composés polyphénoliques de *Scolymus hispanicus* L. :

Le séchage naturel, à une température ambiante et à l'air libre des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus* L. permet d'améliorer leurs qualité en évitant leurs contamination par les germes, notamment, de conserver leurs molécules bioactifs et d'augmenter leurs durée de vie (Bourkhiset al., 2009).

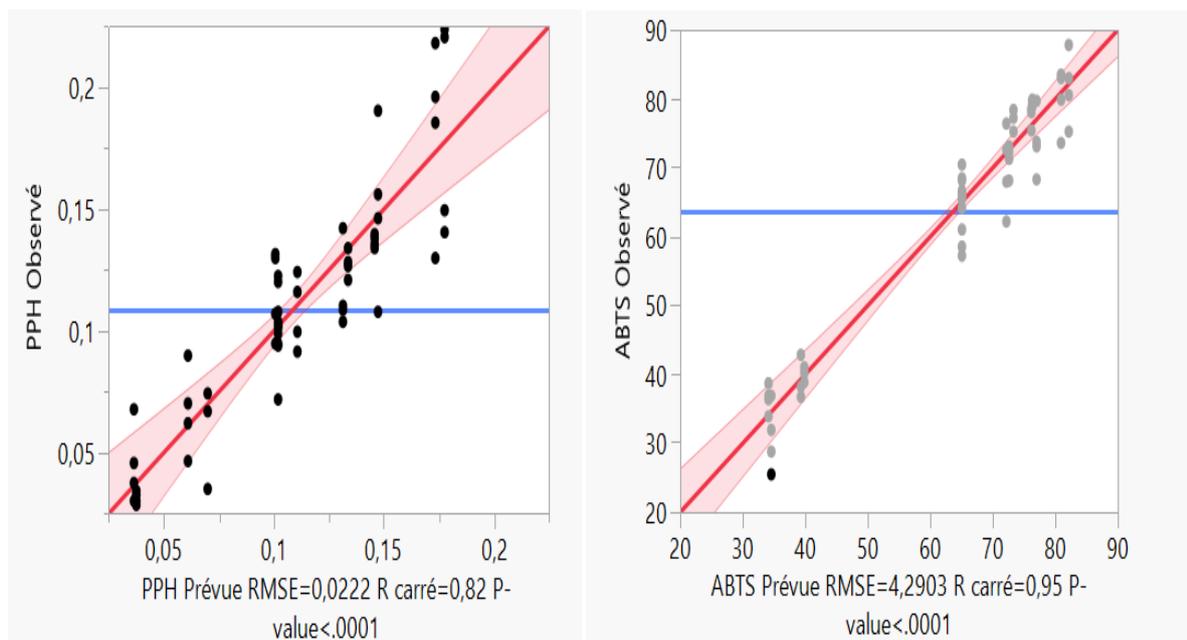
Le protocole d'optimisation nous a permis d'obtenir des conditions d'extraction optimales qui assurent l'obtention d'un extrait brut avec une quantité de composés polyphénoliques optimale ayant une activité antioxydants maximale. Cette action a été réalisée sur les deux parties de la plante (feuilles et racines). Durant le tâtonnement, il a fallu trouver la quantité de poudre adéquate laquelle sera mélangée au volume d'éthanol qui donnera une activité antioxydants mesurable. Après avoir intégré les résultats des taux de polyphénols et les pourcentages d'inhibition correspondants au logiciel JMPpro14, nous avons obtenu des coefficients de détermination (R^2) atteignant des valeurs statistiquement significatifs.



-a-



-b-

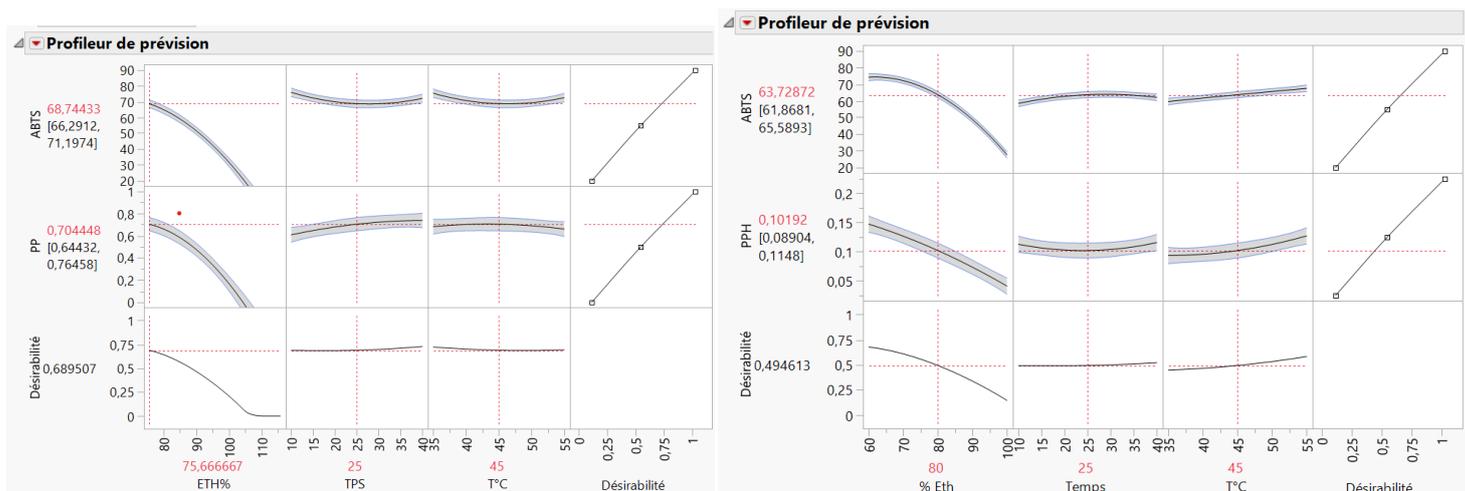


-c-

-d-

Figure N°1 4: Coefficient de détermination des protocoles d'extraction polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus* L.

Les résultats obtenus nous ont orientés vers des valeurs de températures, de pourcentage d'éthanol à utiliser, de la température à respecter afin de choisir les meilleurs paramètres qui vont nous mener à meilleures conditions d'extractions à suivre. Les résultats obtenus sont présentés sur les graphes donnés par le logiciel GMPpro14 de la figure N°2 :



-a-

-b-

Figure N° 15 : Résultats obtenus par le logiciel GMPpro14 chez les poudres des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus* L.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les conditions à suivre sont les mêmes pour les deux parties de la plante. Les résultats obtenus sont représentés sur le tableau N°2 :

Tableau II: résultats d'optimisation obtenus par logiciel JMP pro 14

Feuilles	Racines
Ethanol (75,66%) Temps (25min) Température (45°C)	Ethanol (80%) Temps (25min) Température (45°)

Suivant les recommandations de GMPpro14, l'extraction finale a été réalisée sur les deux parties de la plante. Le protocole de l'extraction par macération dans de l'éthanol nous a permis d'obtenir quelques jours plus tard un résidu sec de l'extrait pure d'une couleur vert pour les feuilles, et marron clair pâteux pour les racines. La couleur verte est due à la présence de la chlorophylle et la texture pâteuses à la présence d'une huile dans les extraits.

En l'occurrence, l'éthanol a été sélectionné comme solvant d'extraction en raison de sa polarité et de sa capacité à interagir avec les molécules phénoliques, facilitant ainsi leur séparation des autres composants ce qui permet d'obtenir des rendements plus élevés en (Cowan et al., 1999).

III.2. Composition phytochimique

III.2.1. Teneur en polyphénols :

Les résultats obtenus après le dosage des polyphénols dans l'extrait brut est présenté dans le tableau N°2. Les teneurs en polyphénols totaux (PT) de l'extrait éthanolique des feuilles et des racines de *Scolymu hispanicus* L. ont été estimés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, à partir d'une droite d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique comme molécule de référence ont données des résultats exprimés en mg GAE/ g d'extrait sec.

Tableau III : taux de la teneur en polyphénols totaux.

Extrait	Teneur polyphénols (mg GAE/g ES)
Feuilles	343,3 ± 1,7
Racines	9,02 ± 0,19

Les résultats du tableau présentent une concentration plus élevée de polyphénols dans les feuilles de *Scolymus hispanicus* L. par rapport aux racines. Les résultats obtenus dans la

présente étude sont assez différents de ceux rapportés par différentes références dans la bibliographie, certainement liés à la différente méthode d'extraction utilisée.

(**Jalab et al., 2020**) ont obtenu une teneur en polyphénols égale à $14,48 \pm 2,695$ mg GAE/g d'extrait sec en utilisant un mélange d'eau et d'éthanol à 95% comme solvant d'extraction, avec une méthode d'extraction par ultrasons, sur les parties feuilles, tiges et fleurs de *Scolymus hispanicus* L. (**Berdja et al., 2021**), quant à eux, ont effectué une extraction en faisant bouillir les tiges et les feuilles, puis en filtrant avec un papier filtre Waterman, obtenant une teneur inférieure à la nôtre, soit $0,27 \pm 0,025$ mg GAE/g d'extrait sec.

(**Sahan et al., 2016**) ont également rapporté un taux de polyphénols plus élevé que les résultats de la présente étude, avec $135,28 \pm 2,09$ mg d'équivalent acide gallique (GAE) par gramme d'extrait sec, en utilisant un mélange d'eau et de méthanol comme solvant d'extraction sur les racines .

(**Gonçalves et al., 2019**) ont réalisé deux extractions par macération avec du méthanol, obtenant une teneur en polyphénols de 52,52mg GAE/g d'extrait sec. Enfin, (**Sergio et al., 2023**) ont extrait les polyphénols de la partie médiane des feuilles à l'aide du méthanol, obtenant une teneur de $6,2 \pm 0,4$ mg CAE/g d'extrait sec. La variation des valeurs obtenues peut être attribuée à différents facteurs qui influencent la teneur en et en polyphénols.

Parmi ces facteurs figurent le moment et le lieu de récolte, la variation saisonnières, le climat, les conditions géographiques, ainsi que, la méthode et le solvant d'extraction utilisé. Ces paramètres peuvent varier considérablement d'une étude à l'autre, ce qui explique les différences observées dans les résultats (**Jalab et al., 2020**).

Il est donc important de prendre en compte ces facteurs lors de la comparaison des résultats entre différentes études, afin de comprendre les variations observées dans la teneur en polyphénols. Les composés phénoliques sont considérés comme les principaux contributeurs à la capacité antioxydants de nombreuses plantes et une partie importante de l'alimentation humaine. Ils sont généralement classés en cinq principales catégories : les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les lignanes et les autres. Parmi ces catégories, les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus abondants dans la nature (**López-Fernández et al., 2020**).

Dans l'étude que nous avons entreprise, les résultats obtenus ont révélé que les feuilles de *Scolymus hispanicus* L. présentaient une teneur supérieure en flavonoïdes par rapport aux racines.

III.2.2. Teneur en flavonoïdes :

Tableau IV: Taux d'extraction des flavonoïdes de SH.

Extrait	Flavonoïde (mg GAE/g ES)
Feuilles	140 ± 0,6
Racines	6,4 ± 0,3

Les résultats obtenus dans notre étude diffèrent des résultats précédemment rapportés par (Jalab et al., 2020) et (Berdja et al., 2021). En effet, contrairement à l'étude de (Jalab et al., 2020) qui a rapporté une teneur en flavonoïdes plus basse de $35,59 \pm 0,739$ mg équivalent rutine/g d'extrait sec en utilisant l'extraction par ultrasons avec de l'éthanol comme solvant sur l'ensemble de la plante (tiges, feuilles et racines), nos résultats ont montré une teneur beaucoup plus élevée en flavonoïdes.

De même, l'étude de (Berdja et al., 2021), laquelle a révélé une concentration plus élevée en flavonoïdes, mesurée à $0,164 \pm 0,009$ mg équivalent quercétine/g d'extrait sec, dans les tiges et les feuilles de *Scolymus hispanicus* L. par rapport à nos résultats. Cette différence peut également être liée à la molécule de référence utilisée pour réaliser la droite d'étalonnage.

III.2.3. Teneur en tanins :

Les résultats montrent clairement une différence significative dans les taux d'extraction des tanins condensés entre les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* L. Les feuilles présentent un taux beaucoup plus élevé de tanins condensés que les racines. Par contre la teneur en tanins hydrolysables est presque similaire entre les feuilles et les racines avec une légère augmentation observée pour les feuilles.

Les tanins ont un rôle de défense dans les plantes, elles sont connues pour dissuader les herbivores et les pathogènes, agissant comme une forme de protection chimique. Les feuilles, étant en contact direct avec l'environnement extérieur, sont plus susceptibles d'être exposées à ces facteurs de stress. Ainsi, la teneur plus élevée en tanins dans les feuilles de *Scolymus hispanicus* L. peut être attribuée à leur fonction de défense accrue, visant à prévenir les attaques des herbivores et à se protéger contre les infections.

Tableau V: Taux d'extraction des tanins.

Tanins	Feuilles (mg/g ES)	Racines (mg /g ES)
Condensé	260,1 ± 14,7	29,23 ± 2,3
Hydrolysable	445,6 ± 32,6	385,18 ± 32,7

En l'occurrence aux résultats obtenus dans la présente étude, l'analyse HPLC-FD des extraits éthanolique de *Scolymus hispanicus* L. a permis de démontré que la plante contient de nombreux composés biologiquement actifs et une teneur élevée en α -tocophérol et a identifié 3 flavonoïdes (catéchine, rutine et acide tannique) et 13 acides phénoliques, tels que l'acide gallique, le pyrogallol, l'acide chlorogénique, l'acide hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide syringique, l'acide *p*-coumarique, l'acide férulique, l'acide sinapique, l'acide salicylique et l'acide rosmarinique et le resvératrol (**Berdja et al.,2021**).

Les racines se distinguaient par une concentration plus élevée en acide sinapique, tandis que les feuilles présentaient des niveaux élevés d'acide gallique, d'acide syringique, d'acide *p*-coumarique, d'acide salicylique, d'acide *p*-hydroxybenzoïque, de pyrogallol et de resvératrol. En revanche, les fleurs étaient riches en acide chlorogénique, acide caféique, acide rosmarinique, catéchine, rutine et acide tannique. Ces résultats mettent en évidence la diversité des acides phénoliques présents dans *Scolymus hispanicus* L., avec des variations significatives entre les racines, les feuilles et les fleurs (**Jalabetal.,2020**). En outre, ces résultats appuient les résultats obtenus dans la présente étude.

III.2.4.Les saponines :

Tableau VI: Taux d'extraction des saponines.

Extrait	Saponines (mg/g ES)
Feuilles	820 ± 44
Racines	70 ± 0,7

Les résultats indiquent clairement que les feuilles de *Scolymus hispanicus* L ont un taux d'extraction des saponines beaucoup plus élevé que les racines. Cela suggère que ses feuilles de peuvent être une source plus riche en saponines par rapport aux racines. La différence observée dans les taux d'extraction des saponines entre les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* L. suggère une distribution sélective des saponines dans les différentes parties de la plante. Il est probable que les voies de biosynthèse des saponines soient plus actives dans les feuilles, ce qui conduit à une concentration plus élevée de ces composés par rapport aux

racines. Cela implique que les feuilles de *Scolymus hispanicus* L. sont plus efficaces dans la production de saponines par rapport aux racines.

III.3. Activité antioxydants

III.3.1. Test DPPH :

Pour évaluer l'activité antioxydants des extraits de plantes et leur capacité à neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif, différents tests sont utilisés. Parmi lesquels, les tests couramment utilisés, figurent l'ORAC, l'ABTS, le DPPH et le FRAP. Il est recommandé d'employer plusieurs tests complémentaires afin de réaliser une évaluation complète de l'activité antioxydants d'un extrait végétal.

L'activité antioxydants des extraits éthanoliques de *scolymus hispanicus* L. vis-à-vis du radical DPPH en utilisant une méthode spectrophotométrique qui repose sur le don d'électrons contenus dans les extraits polyphénoliques, lesquels réagissent avec le radical DPPH, ce qui entraîne un changement de couleur observable, passant du mauve au jaune. L'intensité de la couleur formée est directement liée à la capacité des antioxydants à transférer des protons (Munteanu et al., 2021).

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %) est une mesure utilisée pour évaluer l'effet anti radicalaire d'un échantillon ou d'un composé. Elle représente la concentration du substrat qui

entraîne une réduction de 50 % de l'activité de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire de 50 % l'absorbance de la solution de DPPH. Les valeurs d'IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet antiradicalaire, ce qui signifie que des valeurs faibles d'IC₅₀ reflètent un effet anti-radicalaire plus important (Villano et al., 2007).

Les résultats IC₅₀ de DPPH de l'extrait de *Scolymus hispanicus* L. sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII: IC₅₀ pour le test de DPPH par l'extrait de SH.

Extrait	IC ₅₀ de DPPH
Feuilles	0,63 mg/ml
Racines	2,18 mg/ml

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait des feuilles de *Scolymus hispanicus* L. présente une capacité de piégeage des radicaux libres supérieure par rapport à celle des racines. Ces résultats suggèrent que l'extrait des feuilles de *Scolymus hispanicus* L. possède une activité antioxydants relativement plus faible que celle rapportée dans l'étude menée par (Berdjaet al., 2021) sur la même plante, où un IC50 de 0,0038 µg/ml a été obtenu pour l'extrait aqueux (tiges et feuilles) de *Scolymus hispanicus*L.

Par contre, l'étude réalisée par (Jalabetal., 2020) utilisant une extraction à l'éthanol à 95% et à l'eau distillée avec ultrasons a obtenu un IC50 de 0,883 mg/ml supérieur à celui obtenu dans notre étude. En l'occurrence, ces résultats indiquent que différents modes d'extraction et conditions expérimentales peuvent influencer les propriétés antioxydants.

III.3.2. Test de l'ABTS:

Les résultats IC50 de ABTS sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII: IC50 ABTS par l'extrait de *Scolymus hispanicus* L.

Extrait	IC50d'ABTS
Feuilles	0,847 mg/ml
Racines	1,77 mg/ml

Les résultats indiquent que la valeur IC50 des feuilles (1,77 mg/ml) est inférieure à celle des racines (0,847 mg/ml) de *Scolymus hispanicus* L.

Cette observation suggère que les composés présents dans les feuilles de la plante ont potentiellement une meilleure capacité à inhiber l'activité de l'ABTS mesurée par rapport à ceux présents dans les racines. Ces résultats mettent en évidence une différence notable dans les propriétés biologiques entre les parties aériennes et souterraines de la plante.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion :

L'objectif principal de ce travail était d'explorer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques et de réaliser une analyse phytochimique et des mesures des activités antioxydantes des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus* L.

Le protocole d'optimisation nous a permis d'obtenir des conditions d'extraction optimales qui nous a assuré l'obtention d'un extrait brut avec une quantité de composés polyphénoliques optimale ayant une activité antioxydante maximale. Notamment, il a été démontré que *Scolymus hispanicus* L. possédait des propriétés antioxydantes significatives d'intérêt biologique et thérapeutique.

Ces propriétés sont vraisemblablement attribuables à sa teneur élevée en acides phénoliques, flavonoïdes, tannins hydrolysables, tanins condensés et saponines. La capacité antioxydante via les tests DPPH et ABTS des extraits de cette plante ont révélé un puissant pouvoir antioxydant des deux parties de la plante avec une certaine différence en faveur des feuilles.

Cette étude met en évidence le potentiel de *Scolymus hispanicus* L. en tant que source prometteuse d'antioxydants naturels et justifie davantage de recherches sur ses applications potentielles dans le domaine de la santé et de la médecine.

Perspectives :

- Il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de l'extrait des deux parties de la plante afin d'isoler les molécules responsables des activités observées. Les futures études devraient se concentrer sur des maladies provoquées par le stress oxydant.
- Évaluer l'effet des extraits sur des activités enzymatiques à savoir, la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- **Ababsa Z A, Kara Ali W, Abidli N, Akkal S, Medjroubi K.** Chemical characterization and biological study of the species *Senecio cineraria*. *World Journal of Environmental Biosciences* ; 2018, 7(3) : 112-121.
- **Abe E, Delyle S G, Alvarez J C.** Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. In *Annales de Toxicologie Analytique* ;2010, 22(2) : 51-59.
- **Ali-Rachedi F, Meraghni S, Touaibia N, Mesbah S.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 2018, 87 : 13-21.
- **Altiner D D, Sahan Y.** A functional food additive: *Scolymus Hispanicus* L. Flour. *International Journal of Food Engineering* ; 2016, 2(2) : 124-27.
- **Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Cazin JC, Pinkas M.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung* ; 1996, 46(11) : 1086-1089.
- **Barouki R.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/ Sciences* ; 2006, 22(3) : 266-272.
- **Bensakhria, A.** Le stress oxydatif *Toxicologie générale* ; 2018, 70-86.
- **Berdja S, Boudarene L, Smail L, Neggazi S, Boumaza S, Sahraoui A, Haffaf E M, Kacimi G, Bouguerra S A.** *Scolymus hispanicus* (Golden Thistle) Ameliorates Hepatic Steatosis and Metabolic Syndrome by Reducing Lipid Accumulation, Oxidative Stress, and Inflammation in Rats under Hyperfatty Diet. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ; 2021, 1-14.
- **Bidie AP, N'Guessan BB, Yapo AF, N'Guessan JD, Djaman AJ.** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature* ; 2011, 8(2) : 1-12.
- **Bonnefont-Rousselot D.** Stress oxydant et vieillissement. *Spectra biologie* ; 2007, 157 : 23.

- **Boukhatem M N, Ferhat A, Kameli A.** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une* ; 2019,3(4) : 1653-1659.
- **Bourkhiss M, Hnach M, Bourkhiss B, Ouhssine M. Chaouc A. Satrani B.** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions* ; 2009, 20.
- **Bouterfas K, Mehdadi Z, Latreche A, Hazem Z, Bouredja N.** Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire* ; 2013, 8(31).
- **Chaieb I.** Saponins as insecticides: a review. *Tunisian journal of plant protection* ; 2010, 5(1) :39-50.
- **Cowan M M.** Plante products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* ; 1999, 12(4) :564-582.
- **Das A K, Islam M N, Faruk MO, Ashaduzzaman M, Dungani R.** Review on tannins : extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany* ; 2020, 135 :58-70.
- **Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer J P, Tognolini M, Borges G, Crozier A.** Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling* ;2013,18(14) :1818-1892.
- **Desai S D, Desai, D G, Kaur H.** Saponins and their biological activities. *Pharma Times* ; 2009,41(3) : 13-16.
- **Dif M M, Benchiha H, Mehdadi Z, Benali-Toumi F, Benyahia M, Bouterfas K.** Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie* ; 2015,13(5) : 314-319.
- **Doat J.** "Les tanins dans les bois tropicaux." *Bois & Forêts Des Tropiques* ; 1978, 182 :37-54.
- **Edeas M, Attaf D, Mailfert A S, Nasu M, Joubet R.** Maillard reaction, mitochondria and oxidative stress: potential role of antioxidants. *Pathologie Biologie* ; 2010, 58(3) : 220-225.
- **El Khasmi M, Farh M.** Impact des plantes médicinales sur le rein / Impact of medicinal plants on the kidney ; 2022, 2 : 32-40.

- **Elekofehinti O, Iwaloye O, Olawale F, Ariyo E O.** Saponins in cancer treatment: Current progress and future prospects. *Pathophysiology* ; 2021 ,28(2) :250-272.
- **Élie, F.** Phénols et polyphénols, (2022).
- **Favier A.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* ; 2003, 108-115.
- **Favier, A.** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de biologie clinique* ; 1997, 55(1) : 9-16.
- **Farnsworth N R, Akerele O, Bingel A S, Soejarto D D, Guo Z.** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization* ; 1986, 64(2) : 159.
- **Ghedira K.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* ; 2005,3(4) : 162-169.
- **Giada M D L R.** Food Phenolic Compounds : Mains classes, Sources and Their Antioxydant Power. In : José A. Morales-González. Oxydative stress and chronic degenerative diseases - a role for antioxidants. Brazil : *Intech* ; 2013, 87-112.
- **Gonçalves S, Moreira E, Andrade P B, Valentão P, Romano A.** Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the total phenolic contents and antioxidant activity of wild Mediterranean edible plant extracts. *European Food Research and Technology* ; 2019, 245 : 753-762.
- **Haleng J, Pincemail J, Defraigne J-O, Charlier C, Chapelle J-P.** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège* ; 2007, 62(10) : 628-638.
- **Halliwell B, Whiteman M.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do the results mean ? *British Journal of pharmacology* ; 2004, 142(2) : 231-255.
- **Hammoudi R, Dehak K, Hadj-Mahammed M, Ouldelhadj M D.** Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Deverrascoparia Coss. et Dur.* (Apiaceae). *Lebanese Science Journal* ; 2015, 16(2) :27-36.
- **Hadjadj k, Benaissa M, Mahammedi M, Ouragh A, Rahmoune A.** "Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud ouest algérien)." *Lejeunia, Revue de Botanique* ; 2019, 33-36.

- **Hininger I, Chollat-Namy A, Sauvaigo S, Osman M, Faure H, Cadet J, Favier A, Roussel A.M.** Assessment of DNA damage by comet assay on frozen total blood: method and evaluation in smokers and non-smokers. *Mutation Research* ; 2004, 558 : 75-80.
 - **Jalab J, Kitaz A, Abdelwahed W, Kayali R A.** Green synthesis of silver nanoparticles using some medicinal plants. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry* ; 2020, 21(24) : 13-26.
 - **Julkunen-Tiitto R.** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry* ; 1985 ,33(2) : 213-217.
- Končić M Z, Bljajić K.** Traditional herbal products used for the management of diabetes in Croatia: linking traditional use with α -glucosidase-inhibitory activity ;In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*; 2019 : 647-664.
- **Kraft K, Hobbs C.** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York ; 2004: p16.
 - **Li J W, Fan L P, Ding S D, Ding X L.** Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food chemistry* ; 2007, 103(2) : 454-460.
 - **Lien D T P, Tram P T B, Toan H T T.** Antioxidant properties of food natural phenolic compound—A review. *Innov. Food Res* ; 2016,2 :1-5.
 - **López-Fernández O, Domínguez R, Pateiro M, Munekata P E, Rocchetti G, Lorenzo J M.** Determination of polyphenols using liquid chromatography–tandem mass spectrometry technique (LC–MS/MS): A review. *Antioxidants* ; 2020, 9(6) : 479.
 - **Marc F, Davin A, Deglene-Benbrahim L, Ferrand C, Baccaunaud M, Fritsch P.** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S: médecine sciences* ; 2004,20(4) : 458-463.
 - **Marmouzi I, El Karbane M, El Hamdani M, Kharbach M, Mrabti H N, Alami R, Dahraoui S, El Jemli M, Ouzzif Z, Cherrah Y, Derraji S, Faouzi E L.** Phytochemical and pharmacological variability in Golden Thistle functional parts: comparative study of roots, stems, leaves and flowers, *Natural Product Research* ; 2017, 31(22) :2669-2674.
 - **Martin S, Andriantsitohaina R.** Mécanisme de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'angiologie* ; 2002, 51 : 304-315.
- Massaux C.** Polyphénols: des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie* ; 2012, 149(4).

- **Mole S, Waterman P G.** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies: II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia* ; 1987,72 : 148-156.
- **Möller MN, Orrico F, Villar SF, Villar S F, López A C, Silva N, Donzé M, Thomson L, Denicola A.** Oxidants and Antioxidants in the Redox Biochemistry of Human Red Blood Cells. American Chemical Society *Omega* ;2022, 8(1):147-168.
- **Molyneux P.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*; 2003, 26(2) : 211-219.
- **Morales P, Ferreira I C, Carvalho A M, Sánchez-Mata M C, Cámara M, Fernández-Ruiz V, Pardo-de-Santayana M, Tardío J.** Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity. *LWT-Food Science and Technology*. 2014 ,55(1) : 389-396.
- **Munteanu I G, Apetrej C.** Analytical methods used in determining antioxidant activity : a review. *International Journal of Molecular Sciences* ; 2021, 22 : 2-18.
- **Oliveira A, Pintado M, Almeida D P.** Phytochemical composition and antioxidant activity of peach as affected by pasteurization and storage duration. *LWT-Food Science and Technology* ; 2012, 49(2) : 202-207.
- **Pandey K B, Rizvi S I.** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* ; 2009, 2(5) : 270-278.
- **Polo S, Tardío J, Velez-del-Burgo A, Molina M, Pardo-de-Santayana M.** Knowledge, use and ecology of golden thistle (*Scolymus hispanicus* L.) in Central Spain. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* ; 2009, 5 : 1-13.
- **Prabhu S, Molath A, Choksi H, Kumar S, Mehra R (2021).** Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *International Journal of Physiology, Nutrition and Physical* ; 2021,6(1) :293-301.
- **Raber MG, Stevens JF.** Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med* ; 2011,51(5):1000-13.
- **Sergio L, Di Venere D, Gonnella M, D'Imperio M, Baruzzi F, Pinto L, Boari F, Cantore V, Candido V.** Quality and Safety of Ready-to-Eat Golden Thistle (*Scolymus hispanicus* L.): A New Product for Traditional Italian Dishes. *Plants* ; 2023, 12(8) : 1622.

- **Singh A, Yau Y F, Leung K S, El-Nezami H, Lee J C Y.** Interaction of polyphenols as antioxidant and anti-inflammatory compounds in brain–liver–gut axis. *Antioxidants* ; 2020, 9(8) : 669.
 - **Singleton V L, Rossi J A.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* ; 1965, 16 : 144-158
 - **Sridhar A, Ponnuchamy M, Kumar P S, Kapoor A, Vo DV N, Prabhakar S.** Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review. *Environmental Chemistry Letters* ; 2021, 19 : 3409-3443.
 - **Tardío J, Pardo de Santayana M, Morales R.** Examen ethnobotanique des plantes sauvages comestibles en Espagne. *Journal botanique de la Linnean society* ; 2006, 152 : 27-71.
 - **Touyz R M, Rios F J, Alves-Lopes R, Neves K B, Camargo L L, Montezano A C.** Oxidative stress: a unifying paradigm in hypertension. *Canadian Journal of Cardiology* ; 2020, 36(5) : 659-670.
 - **Tunalier Z, Kirimer N, Baser K H C.** Demise of a 60-year-old Turkish herbal medicine: Lityazol Cemil. International Congress of Ethnobotany (ICEB2005) ; 2006, 17 : 213-216.
 - **Valko M, Rhodes C J, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions* ; 2006, 160(1) : 1-40.
 - **Vazquez, F.M.** The Genus *Scolymus* L. (Asteraceae) taxonomy and distribution. *Anales jardin botanico Madrid* ; 2000, 58(1) : 83-100.
 - **Villaño D, Fernández-Pachón M S, Moyá M L, Troncoso A M, García-Parrilla M C.** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* ; 2007, 71(1) : 230-235.
 - **Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H.** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* ; 2007, 68(3): 275-297.
- Warren JJ, Mayer JM.** Tuning of the thermochemical and kinetic properties of ascorbate by its local environment: solution chemistry and biochemical implications. *Journal of the American Chemical Society* ; 2010, (22):7784-7793.

Annexes

Annexes

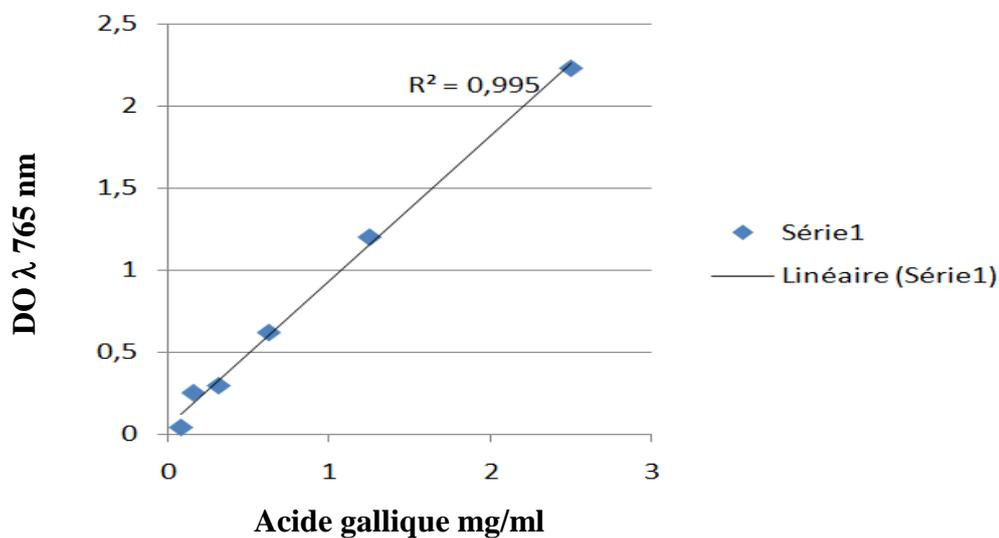


Figure N°16 : Droite étalonnage pour dosage des polyphénols avec l'acide gallique comme standard.

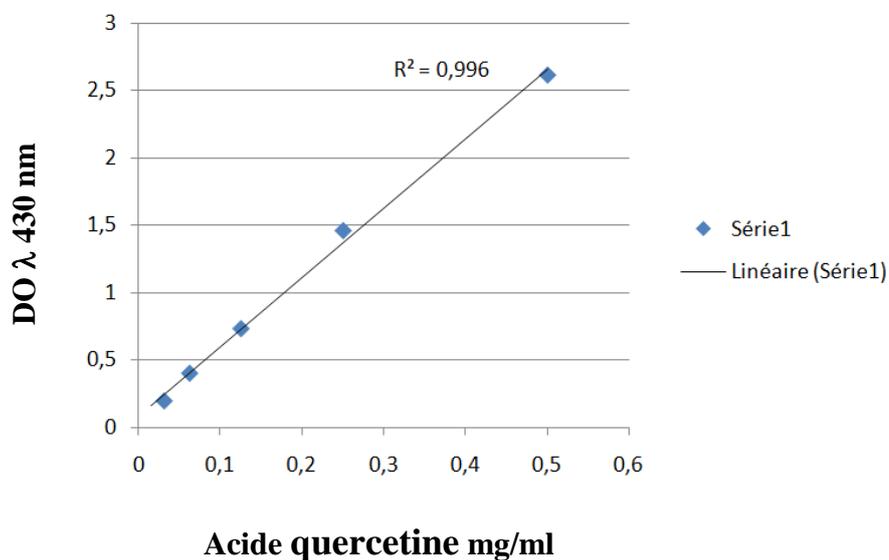


Figure N°17 : Droite d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes avec la quercetine comme standard

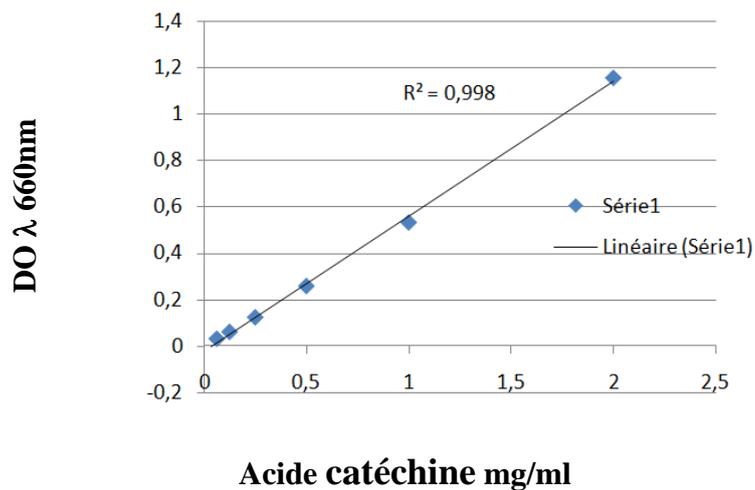


Figure N°18 : Droite étalonnage pour le dosage des tannins hydrolysables avec la catéchine comme standard.

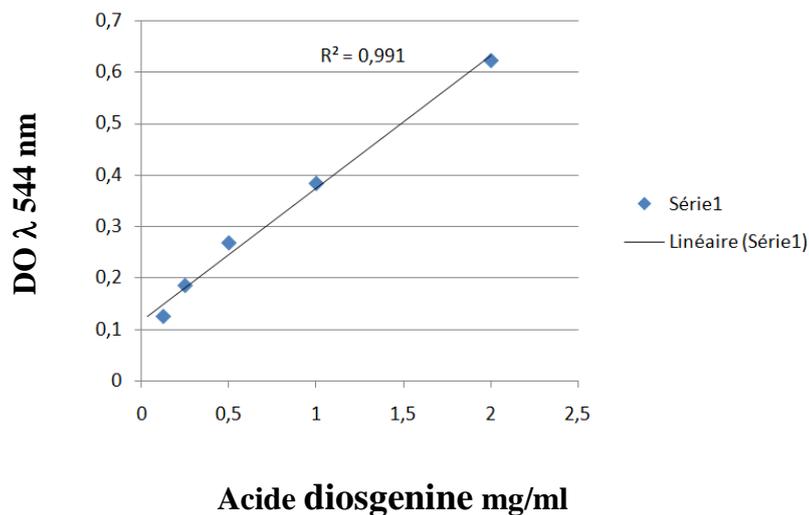


Figure N°19 : Droite étalonnage pour le dosage des saponines avec la diosgenine comme standard.

Résumé :

La présente étude portée sur *Scolymus hispanicus* L., une plante utilisée en médecine traditionnelle, où les racines sont recommandées comme antidiabétiques et les maladies du foie et des intestins. L'objectif de l'étude était d'optimiser l'extraction des composés phénoliques de deux parties de la plante, de déterminer leur teneur en molécules polyphénoliques et en saponines. En l'occurrence, leurs activités antioxydants a été réalisé.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits de feuilles présentaient une teneur en polyphénols totaux de 343,3 mg GAE/g d'extrait sec, tandis que les racines avaient une teneur de 9,02 mg GAE/g. Les extraits ont également montré une importante activité antioxydants avec des valeurs d'IC50 de 0,63 mg/ml (feuilles) et 2,18 mg/ml (racines) pour le test DPPH, et de 0,847 mg/ml (feuilles) et 1,77 mg/ml (racines) pour le test ABTS.

Les feuilles présentaient une teneur en flavonoïdes de 140 mg GAE/g ES, tandis que les racines avaient une teneur de 6,4 mg GAE/g ES. Les feuilles montraient également des teneurs plus élevées en tanins condensés (260,1 mg/g ES) et en tanins hydrolysables (445,6 mg/g ES) par rapport aux racines. Les feuilles présentaient une teneur en saponines de 820 mg/g ES, tandis que les racines avaient une teneur de 70 mg/g ES. Comme conclusion, *Scolymus hispanicus* représente une plante de référence pour le traitement des maladies liées aux stress oxydant.

Mots clés : polyphénols, Optimisation de l'extraction, *Scolymus hispanicus* L, activités antioxydants.

Abstract :

The present study on *Scolymus hispanicus* L., a plant used in traditional medicine, where the roots are recommended as antidiabetics and liver and intestinal diseases. The objective of the study was to optimize the extraction of phenolic compounds from two parts of the plant, to determine their content of polyphenolic molecules and saponins. In this case, their antioxidant activities were carried out.

The results obtained showed that the leaf extracts had a total polyphenol content of 343.3 mg GAE/g dry extract, while the roots had a content of 9.02 mg GAE/g. The extracts also showed significant antioxidant activity with IC50 values of 0.63 mg/ml (leaves) and 2.18 mg/ml (roots) for the DPPH test, and 0.847 mg/ml (leaves) and 1.77 mg/ml (roots) for the ABTS test.

The leaves had a flavonoid content of 140 mg GAE/g ES, while the roots had a content of 6.4 mg GAE/g ES. The leaves also showed higher levels of condensed tannins (260.1 mg/g ES) and hydrolyzable tannins (445.6 mg/g ES) compared to the roots. The leaves had a saponin content of 820 mg/g ES, while the roots had a content of 70 mg/g ES.

As a conclusion, *Scolymus hispanicus* represents a reference plant for the treatment of diseases related to oxidative stress.

Keywords : polyphenols, Extraction optimization, *Scolymus hispanicus* L, antioxidant activities.