



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

En Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante du rhizome *d'Atractylis gummifera*

Préparé par : **KENDIL Wafaa**

Soutenu le : **28/06/2020**

Devant le jury composé de :

Présidente	M ^{me} BOUCHERIT- OTMANI Zahia	Pr	Université de Tlemcen
Examineur	M ^r CHERRAK Sabri Ahmed	MCB	Université de Tlemcen
Encadrant	M ^r CHAOUCHE Tarik Mohammed	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2019-2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire des Produits Naturels (**LAPRONA**). Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Je remercie en premier lieu **Allah** le tout-puissant, pour l'aide, le courage, la force et la patience qu'il m'a comblé pour la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements à mes parents, ceux qui ont été toujours là pour moi, leur aide, conseils et encouragements furent pour moi une source de motivation.

Mes remerciements les plus profonds s'adressent à mon encadrant **M^r CHAOUCHE Tarik Mohammed** maître de conférences classe « A » au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, pour sa disponibilité, ses conseils judicieux, sa patience et ses encouragements. Ce travail est pour moi une occasion de vous témoigner ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier mon enseignante **M^{me} BOUCHERIT- OTMANI Zahia**, Professeur au département de Biologie, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, de me faire l'honneur de présider ce jury, une belle histoire se termine et je suis heureuse que cela fasse en votre présence.

Je remercie également **M^r CHERRAK Sabri Ahmed** maître de conférences classe « B » au département de Biologie à l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen pour avoir accepté d'être membre de ce jury et examiner ce modeste travail.

Je souhaite également remercier chaleureusement **M^{me} HADDOUCHI Farah** pour son aide, ses précieux conseils et son agréable gentillesse, les doctorantes **Imene** et **Wahiba** et l'ensemble du personnel du laboratoire **LAPRONA** à l'Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Et enfin, je tiens à remercier tous mes enseignants durant mon cursus universitaire.



Dédicaces

À l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à

Mes parents

Ceux qui me sont les plus chers au monde, aucun hommage ne pourrait récompenser les sacrifices qu'ils ont fait pour mon éducation et mon bien être, leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui

À ma source de force... à la lune qui m'éclaircit le chemin de la vie... à
ma chère mère

À celui qui souffre sans laisser souffrir... à celui qu'on lui demande
l'étoile, il revient avec la lune... à celui qui a partagé avec moi les
moments les plus émotionnels lors de la réalisation de ce travail... à mon
cher père

À mes deux frères **Zaki** et **Anes**... qu'Allah vous garde pour moi

En témoignage de mon amour, je dédie ce travail à mes copines
Shizlène, Imene, Kafsia, Ahlem, Samira, Bouchra et **Kawther**, pour
le gout à l'effort qu'elles ont suscité en moi, qu'Allah vous garde et
renforce nos liens d'amitié

À toute la famille **Kendil**



Résumé

Cette étude vise à évaluer le potentiel antioxydant de la croûte et de la pulpe du rhizome d'*Atractylis gummifera*, une plante épineuse appartenant aux Astéracées.

Les deux parties souterraines ont été soumises à une extraction à reflux dans des solvants à polarité croissante, initialement une extraction à l'hexane pour une délipidation, ensuite au dichlorométhane, et enfin à un mélange du méthanol/acétone/eau (70/20/10).

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été déterminées par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium et de la vanilline, respectivement. L'étude de l'activité antioxydante a été réalisée par trois techniques, la capacité antioxydante totale, la technique du piégeage du radical libre DPPH et la technique de réduction du fer.

Les résultats montrent que la croûte est la source de composés phénoliques à potentiel antioxydant du rhizome d'*Atractylis gummifera*. Les dosages ont révélé que l'extrait de la croûte est le plus riche en polyphénols (9,90 mg EAG/g MS). Il contient des flavonoïdes et des tanins, à des teneurs moyennement faibles (2,85 mg EC/g MS et 2,93 mg EC/g MS, respectivement), mais toute fois supérieures à celles de l'extrait de la pulpe. Pour l'activité antioxydante, l'extrait de la croûte a enregistré les meilleurs résultats, avec une capacité antioxydante totale de 7,92 mg EAG/g MS, trois fois plus importante à celle de la pulpe. Une CI_{50} (DPPH) de 0,16 mg/mL toute fois inférieure à celle du BHA et une CE_{50} réductrice du fer faible, de l'ordre de 3,41 mg/mL.

Mots clés : *Atractylis gummifera*, croûte, pulpe, composés phénoliques, activité antioxydante.

ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لقشرة ولب جذر نبات *Atractylis gummifera* وهو نبات شائك ينتمي إلى *Astéraceae*.

خضع كل من الجزأين لعملية الاستخلاص بمذيبات متزايدة القطبية، في البداية كان استخلاص بالهكسان من أجل إزالة الدهون، ثم بثنائي الكلوروميثان، وأخيراً بخليط من الميثانول/الأسيتون/الماء (70/20/10). تم تحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويدات والتانان المكثفة بواسطة طرق الفولين-سيوكالتو وثلاثي كلوريد الألمنيوم والفانيلين على التوالي. أجريت دراسة النشاط مضاد للأكسدة بواسطة ثلاث تقنيات، القدرة الاجمالية المضادة للأكسدة، تقنية تثبيط الجذر الحر DPPH و تقنية ارجاع الحديد.

أظهرت النتائج أنّ القشرة هي مصدر المركبات الفينولية ذات الامكانيات المضادة للأكسدة في الجزء الجذري من *Atractylis gummifera*. أظهر التحليل النوعي أنّ مستخلص القشرة هو الأغني في مادة البوليفينول (9,90 مغ مكافئ حمض غاليك/غ مادة جافة) كما يحتوي على الفلافونويد والتانان المكثفة بنسب منخفضة بشكل معتدل (2,85 مغ مكافئ كاتشين /غ مادة جافة و 2,93 مغ مكافئ كاتشين /غ مادة جافة على التوالي) ولكن أعلى من مستخلص اللب. بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة سجل مستخلص القشرة أفضل النتائج، مع القدرة الاجمالية المضادة للأكسدة تبلغ 7,91 مغ مكافئ حمض غاليك/غ مادة جافة أكبر بثلاث مرّات من اللب وقيمة CI_{50} (DPPH) مقدرة ب 0,16 مع /مل أقل من ذلك من مستخلص اللب وأبعد من تلك المسجلة من طرف BHA وارجاع الحديد منخفض بقيمة $CE_{50}=3,41$ مع/مل.

الكلمات المفتاحية: *Atractylis gummifera* , القشرة، اللب، المركبات الفينولية , النشاط مضاد للأكسدة.

Abstract

This study aims at evaluating the antioxidant potential of the crust and pulp in the rhizome of *Atractylis gummifera*, a thorny plant belonging to the Asteraceae.

Both underground parts were subjected to reflux extraction in increasing polarity solvents, initially hexane extraction for delipidation, then dichloromethane, and finally a mixture of methanol/acetone/water (70/20/10).

Total polyphenols, flavonoids and condensed tannins were determined by Folin-Ciocalteu, aluminium trichloride and vanillin methods, respectively. The study of antioxidant activity was determined by three methods, the total antioxidant capacity, the free radical scavenging DPPH and the Ferric reducing antioxidant power.

The results revealed that the crust is the source of phenolic compounds with antioxidant potential in the rhizome of *Atractylis gummifera*. It's the richest in polyphenols (9,90 mg EGA/g DW), it contains flavonoids and condensed tannins with moderately low values (2,85 mg EC/g DW and 2,93 mg EC/g DW respectively) however better than the extract of the pulp. For the antioxidant activity, the crust extract marked the best results, with a total antioxidant capacity of 7,9180 mg EGA/g DW three times better than that of the pulp, an IC₅₀ (DPPH) of 0,1602 mg/mL lower than that of the pulp extract, however far from that of the BHA and a low iron reducing EC₅₀, with a value of 3,41 mg/mL.

Keywords: *Atractylis gummifera*, crust, pulp, phenolic compounds, antioxidant activity.

Liste des abréviations

A. gummifera : *Atractylis gummifera*

BHA : Butylhydroxyanisol

CE₅₀ : Concentration efficace correspondante à une absorbance égale à 0,5

CI₅₀ : Concentration qui correspond à 50% d'inhibition

DO : Densité optique

DPPH : 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

Rdt : Rendement

SOD : Superoxyde dismutase

Liste des figures

Figure 1 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	3
Figure 2 : Structure de l'acide L-ascorbique	5
Figure 3 : Exemples de β -carotène et xanthophylle	5
Figure 4 : Structure chimique d'un phénol	7
Figure 5 : Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique ..	7
Figure 6 : Structure chimique des flavonoïdes	8
Figure 7 : Structure chimique d'un polymère proanthocyanidolique	8
Figure 8 : Structure d'un alcaloïde (la morphine)	9
Figure 9 : Structure chimique d'un isoprène	9
Figure 10 : Forme réduite du radical DPPH	18
Figure 11 : Courbes d'étalonnage de l'acide gallique pour les polyphénols totaux	21
Figure 12 : Représentation des teneurs en polyphénols totaux pour les deux extraits	21
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour les flavonoïdes	22
Figure 14 : Représentation des teneurs en flavonoïdes pour les deux extraits	23
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour les tanins condensés	24
Figure 16 : Représentation des teneurs en tanins condensés pour les deux extraits	24
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la capacité antioxydante totale	25
Figure 18 : Représentation de la capacité antioxydante totale des extraits	25
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits	26
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de BHA	26
Figure 21 : Evolution des absorbances en fonction des concentrations des deux extraits ...	28
Figure 22 : Evolution des absorbances en fonction des concentrations du BHA	28

Liste des photos

Photo 1 : <i>Atractylis gummifera</i>	10
Photo 2 : Les différentes parties de la plante <i>Atractylis gummifera</i>	12
Photo 3 : Le rhizome de <i>Atractylis gummifera</i>	15

Liste des tableaux

Tableau 1 : les rendements des extraits	20
Tableau 2 : Les valeurs des CI_{50} des extraits et du BHA	27
Tableau 3 : Les valeurs des CE_{50} des deux extraits et du BHA	39

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures, Liste des photos et liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Le stress oxydatif

1. Les radicaux libres	2
2. Sources des radicaux libres	2
2.1. Production endogène	2
2.2. Production exogène	2
3. Le stress oxydatif	3
3.1. Les conséquences du stress oxydatif	3
4. Les antioxydants comme moyens de défense	3
5. Classification des antioxydants	4
5.1. Antioxydants enzymatiques	4
5.1.1. La superoxyde dismutase SOD	4
5.1.2. La catalase	4
5.1.3. La glutathion peroxydase	4
5.2. Antioxydants non enzymatiques	4
5.2.1. La vitamine C	4
5.2.2. Les caroténoïdes	5

Chapitre 2 : Les plantes médicinales comme sources d'antioxydants

1. Plante médicinale	6
2. Métabolites secondaires	6
3. Classification des métabolites secondaires	6
3.1. Les composés phénoliques	6
3.1.1. Les acides phénoliques	7

3.1.2. Les flavonoïdes	7
3.1.3. Les tanins	8
3.2. Les alcaloïdes	8
3.3. Les terpénoïdes	9

Chapitre 3 : Etude botanique de la plante

1. La famille des Astéracées	10
2. Le genre <i>Atractylis</i>	10
3. L'espèce d'étude <i>Atractylis gummifera</i>	10
3.1. Etude botanique	11
3.1.1. Systématique de la plante	11
3.1.2. Noms vernaculaires de la plante	11
3.1.3. Description botanique	11
3.2. Etat naturel et répartition	12
3.3. Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques	12
3.4. Toxicité d' <i>A. gummifera</i>	13
3.5. Travaux antérieurs	13

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	15
2. Extraction à reflux par des solvants à polarité croissante	15
3. Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits	16
3.1. Les polyphénols totaux	16
3.2. Les flavonoïdes	16
3.3. Les tanins condensés	17
4. Détermination de l'activité antioxydante, <i>in vitro</i>	17
4.1. La capacité antioxydante totale	17
4.2. Le piégeage du radical libre DPPH	18
4.3. Le pouvoir réducteur du fer	19

Résultats et discussion

1. Les rendements des extraits	20
2. Les teneurs en composés phénoliques	20

2.1. Les polyphénols totaux	20
2.2. Les flavonoïdes	22
2.3. Les tanins condensés	23
3. L'évaluation de l'activité antioxydante	25
3.1. La capacité antioxydante totale	25
3.2. Le piégeage du radical libre DPPH	26
3.3. Le pouvoir réducteur du fer	27
Conclusion générale et perspectives	30
Références bibliographiques	31

Introduction générale

L'homme depuis la nuit des temps utilise des plantes pour se nourrir et se soigner. Actuellement et malgré un système de soins moderne bien implanté, la phytothérapie reste très utilisée (**Dusser-Lauge, 2017**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux, elles doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances actives qu'elles contiennent notamment les métabolites secondaires. Ces substances synthétisées par diverses voies métaboliques présentent une large variété d'activités biologiques : antitumorales, antivirales, antimicrobiennes, antioxydantes, etc. (**Pothitirat et al., 2009**).

L'oxygène est indispensable à la vie, malgré son rôle primordial dans l'apport d'énergie à l'être humain, il est impliqué dans le déclenchement du stress oxydatif en générant des radicaux libres très réactifs qui peuvent aussi être le résultat de facteurs externes comme le rayonnement ultraviolet (UV), la pollution, le tabac etc. Ce stress oxydatif est lié à de nombreuses pathologies en particulier le cancer et le diabète du type 2 (**Guillouty, 2016**).

C'est pour cela, la recherche de nouvelles molécules est entreprise pour sélectionner les plantes potentiellement actives qui pourraient résoudre ce problème croissant. Les scientifiques favorisent le développement d'une nouvelle génération de substances actives d'origine végétales pour remplacer celles de synthèse (BHA, BHT, etc.) (**Chaouche et al., 2015**).

L'Algérie, par sa richesse, sa diversité végétale et son climat particulier constitue une région privilégiée pour l'exploitation des plantes, dont certaines poussent spontanément, comme *Atractylis gummifera*. Cette plante cosmopolite, épineuse et vivace est très peu étudiée ce qui lui rend un sujet de recherche très intéressant sur lequel on a mis de lumière dans ce travail de mémoire.

Ce présent travail a pour objectif d'étudier la différence du potentiel antioxydant entre la croute et la pulpe de la partie souterraine d'*Atractylis gummifera*. Il est scindé en deux parties :

- ✚ La première est une partie bibliographique sur le stress oxydatif, les oxydants et les antioxydants, la classification et l'intérêt des métabolites secondaires et enfin une présentation de la plante étudiée,
- ✚ La seconde décrit la partie expérimentale, avec une présentation de la technique d'extraction, des dosages spectrophotométriques et des tests antioxydants. Cette partie synthétise l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion.

Ce travail s'achève par une conclusion générale qui évoque les limites et les perspectives de notre travail.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Le stress oxydatif

1. Les radicaux libres

Quand la cellule utilise de l'oxygène, il se passe un grand nombre de réactions d'oxydation, le résultat est la production d'énergie, mais aussi de différents sous-produits appelés espèces réactives de l'oxygène « ERO » (**Pokorny et al., 2001**). On distingue :

- **Les radicaux libres primaires** : qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels : l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote, tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} .
- **Les radicaux libres secondaires** : qui se forment par réaction des premiers sur des composés chimiques de la cellule.
- D'autres espèces actives de l'oxygène qui peuvent être des précurseurs de radicaux comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$) (**Dalton, 1999**).

Ces radicaux libres sont des entités chimiques contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé, soit par l'acceptation d'un électron, soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (**Afonso et al., 2007**).

2. Sources des radicaux libres

2.1. Production endogène

Les ERO ne sont pas uniquement produits en réponse à un stress, mais sont également produits naturellement par l'organisme au cours de processus biologiques où la consommation d'oxygène est élevée (**Migdal et Serres, 2011**). La plupart des ERO intracellulaire sont produits dans la mitochondrie, au niveau des deux principaux sites : le complexe NADH déshydrogénase et le complexe ubiquinone cytochrome C réductase, ou encore au niveau du réticulum endoplasmique par l'enzyme cytochrome p-450. Autres sources endogènes des ERO comprennent les réactions immunitaires à savoir l'inflammation et la phagocytose, l'auto-oxydation de l'adrénaline, les infections, le vieillissement, etc. (**Phaniendra et al., 2015**)

2.2. Production exogène

Les ERO peuvent également être générées sous l'effet d'oxydants environnementaux, tels que, la pollution, les rayons UV, un effort physique intense, le stress, une mauvaise alimentation, la fumée de cigarette, l'ingestion d'alcool, les herbicides/insecticides, une hygiène de vie déséquilibrée, etc. (**Thorin-Trescases et al., 2010**).

3. Le stress oxydatif

L'oxygène malgré son rôle essentiel dans l'apport d'énergie à l'être humain, il est impliqué dans le déclenchement du stress oxydatif qui se définit comme le résultat de déséquilibre de la balance entre les oxydants (production d'espèces réactives) et les antioxydants (systèmes de défense) en faveur des premiers (**figure 1**). Il favorise la survenue de nombreuses physiopathologies comme le cancer, l'athérosclérose, les maladies inflammatoires, le diabète et le vieillissement (**Hybertson et al., 2011**).

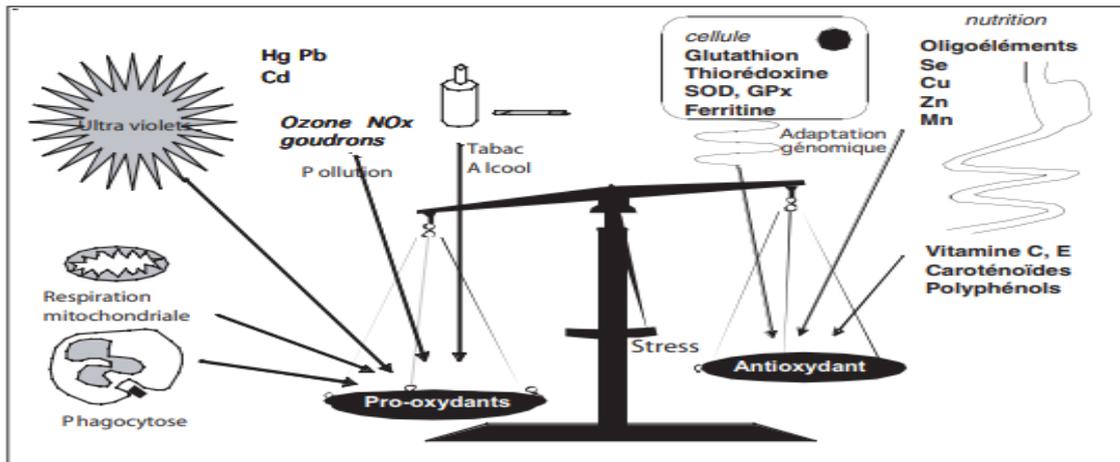


Figure 1 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (**Favier, 2006**)

3.1. Les conséquences du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres, qui interagissent avec de nombreuses molécules, entraîne certaines modifications de ces derniers, aboutissant à une perte de leurs activités, causant des effets moléculaires comme l'altération des protéines, de l'ADN et des membranes lipidiques (**Haleng et al., 2007**). Ou encore des perturbations biologiques notables comme : diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, anomalies de récepteurs, dépôts de lipides, affaiblissement musculaire, voire mort neuronale ou apparition de mutations (**Favier, 2006**).

4. Les antioxydants comme moyens de défense

Un antioxydant est tout composé qui, ajouté à faible dose à un produit oxydable, est capable d'assurer un ralentissement, voire une inhibition du phénomène d'oxydation, par libération d'un ou plusieurs électrons, et donc une protection des systèmes biologiques (**Park et al., 2001**). Certains antioxydants sont fabriqués par l'organisme, d'autres proviennent de l'alimentation avec une grande diversité (**Pokorny et al., 2001**).

5. Classification des antioxydants

5.1. Antioxydants enzymatiques

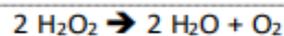
5.1.1. La superoxyde dismutase SOD

La SOD est une métalloenzyme qui constitue la première ligne de défense contre les ERO (Vergely et Rochette, 2003). Elle catalyse la dismutation de $O_2^{\bullet -}$ en dioxygène et H_2O_2 (Jacques et André, 2004)



5.1.2. La catalase

C'est une enzyme présente essentiellement dans les peroxysomes, elle assure la transformation de deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (Jacques et André, 2004)



5.1.3. La glutathion peroxydase

C'est une enzyme localisée dans le cytosol, la mitochondrie et le réticulum endoplasmique, elle permet de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau et en parallèle l'oxydation du glutathion (Therond, 2003).

5.2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques eux, comprennent majoritairement les vitamines C, les caroténoïdes et les composés phénoliques.

5.2.1. La vitamine C

La vitamine C ou l'acide L-ascorbique est un composé organique hydrosoluble (**figure 2**). Elle est prédominante dans la peau avec un pouvoir antioxydant à la fois intracellulaire et extracellulaire (Zussman *et al.*, 2010).

L'acide L-ascorbique se transforme en ascorbyle au contact de radicaux libres et stoppe ainsi la réaction radicalaire en chaîne empêchant la dégradation des constituants cellulaires (Martini et Seiller, 2006).

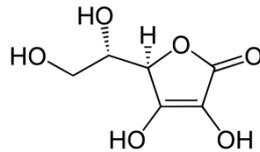


Figure 2 : Structure de l'acide L-ascorbique (Bruneton, 2009)

5.2.2. Les caroténoïdes

Ce sont des pigments, dont on dénombre environ 600, issus des plantes et des microorganismes, regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles (figure 3) (Valko *et al.*, 2006). Ils doivent leurs pouvoirs antioxydants à leur structure polyène riche en doubles liaisons conjuguées, qui leur permettent de réagir avec les radicaux ROO^\bullet , HO^\bullet , O_2^\bullet , R^\bullet , par simple addition électrophile et transfert d'électron, ceci est principalement responsable de leur excellente capacité à neutraliser l'oxygène singulet sans dégradation (Valko *et al.*, 2006).

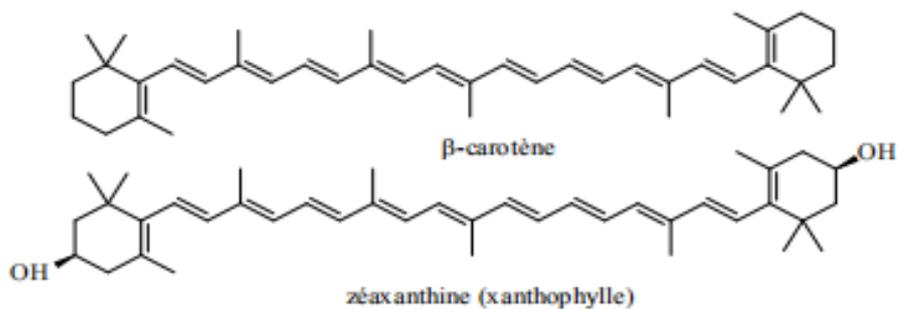


Figure 3 : Exemples de β -carotène et xanthophylle (Bruneton, 2009).

Chapitre II :
Les plantes médicinales
comme sources d'antioxydants

1. Plante médicinale

Une plante médicinale est une plante dont au moins un de ses organes possède des vertus curatives ou préventives, lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. L'action d'une plante médicinale provient de ses composés chimiques, métabolites primaires ou secondaires ou de la synergie entre eux, ces différents constituants possèdent des activités biologiques qui peuvent améliorer la santé humaine via les produits pharmaceutiques et alimentaires, comme ils représentent également une valeur importante dans l'industrie des parfums, agrochimique, et cosmétique (Li, 2020).

2. Métabolites secondaires

Les plantes sont des usines vivantes pour la biosynthèse d'un vaste éventail de métabolites secondaires et en fait, ce sont ces métabolites qui constituent la base de nombreux médicaments pharmaceutiques commerciaux, ainsi que des remèdes à base de plantes (Li, 2020). Par opposition aux métabolites primaires (protéines, lipides et glucides), les métabolites secondaires eux ne sont pas directement impliqués dans les processus de croissance des organismes vivants, ils peuvent en effet intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante, dans les interactions des plantes avec leur environnement, ou encore dans les critères de qualité des plantes, comme ils interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leurs propriétés antioxydantes (Macheix, 2005).

3. Classification des métabolites secondaires

On distingue trois grands groupes de métabolites secondaires selon leurs voies de biosynthèse : les composés phénoliques, les composés azotés (dont les alcaloïdes) et les terpènes (Fang *et al.*, 2011).

3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des micro-constituants présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs, ils ont en commun la présence d'un cycle aromatique (phénol) (figure 4) portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec une autre fonction (Korzeniowska *et al.*, 2020). Au niveau de l'organisme, les polyphénols sont perçus comme des molécules signales qui stimulent les systèmes de défense enzymatiques, d'une part via la modulation des voies de signalisation contrôlant l'expression des enzymes antioxydantes et d'autre part, via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes (Morand *et*

Milenkovic, 2014). Ainsi, ils ont un rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies, telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Siacor et al., 2020**).

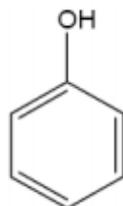


Figure 4 : Structure chimique d'un phénol (**Bruneton, 2009**)

On distingue trois principales classes des composés phénoliques : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins.

3.1.1. Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques simples renfermant une fonction carboxylique, le nombre de carbones dans la chaîne contenant la fonction acide définit le type d'acide phénolique : acide caféique, acide gallique, etc. Ils sont présents sous forme liée y-compris amide, ester ou glycoside et rarement sous forme libre. Ils sont principalement divisés en deux sous-groupes : l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique (**figure 5**) (**Kumar et Goel, 2019**).

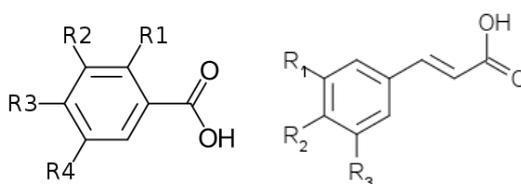


Figure 5 : Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique (**Bruneton, 2009**).

3.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus vaste dans le règne végétal avec plus de 6 000 composés. Ce sont des pigments responsables de la coloration des différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**). Ils sont formés de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui se lient en formant un cycle oxygéné (**Figure 6**), et du fait ils sont classés selon le degré de l'oxydation en six grandes classes : anthocyanes, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone et flavanol (**Del Rio et al., 2013**). Ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment une activité antioxydante et piègeurs de radicaux libres, des propriétés anti hépatotoxiques, anti-inflammatoire et même antitumorales (**Ghedira, 2005**).

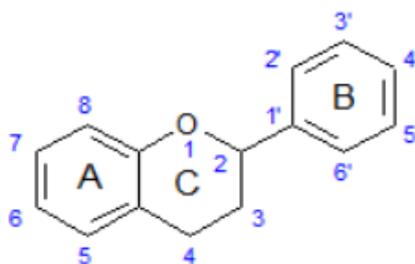


Figure 6 : Structure chimique des flavonoïdes (**Bruneton, 2009**)

3.1.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques non azotés, solubles dans l'eau, qui constituent un groupe très diversifié en structure partageant la capacité de précipiter les protéines, ils sont aptes à la préparation du cuir grâce à leur propriété astringente qui sert aussi au plan thérapeutique à la guérison des blessures et des muqueuses enflammées (**Sereme, 2008**). Ils sont également capables de piéger les radicaux libres par l'inactivation des ions pro-oxydants (**Bruneton, 2009**).

Les tanins sont classés en deux groupes, selon la nature des assemblages moléculaires :

- Les tanins hydrolysables : formés d'une molécule glucidique, sur laquelle est estérifié l'acide gallique ou un de ses dérivés, ils sont facilement hydrolysables par voie enzymatique ou chimique (**Bruneton, 2009**).
- Les tanins condensés ou proanthocyanidols (**figure7**) : résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavane et sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques » avec un degré de polymérisation entre deux et plus de cinquante unités (**Bruneton, 2009**).

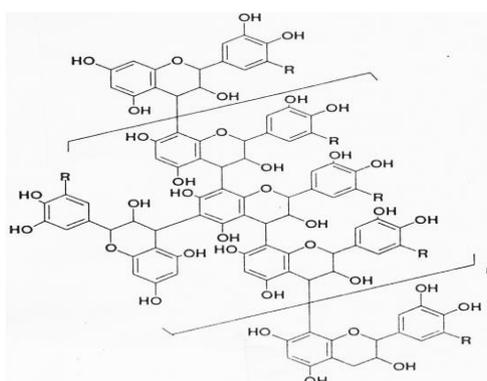


Figure 7 : Structure chimique d'un polymère proanthocyanidolique (**Sereme, 2008**)

3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques azotés (**figure 8**), généralement dérivés des acides aminés. Ils ont un caractère alcalin et sont dotés d'un goût amer (**Rosale et al.,**

2020). En se basant sur leurs structures chimiques et leurs précurseurs moléculaires, les alcaloïdes sont classés en trois types (Aniszewski, 2007) :

- Les alcaloïdes vrais qui dérivent d'acides aminés et possèdent un atome d'azote dans un système hétérocyclique ;
- Les proto-alcaloïdes dont l'atome d'azote dérivé d'un acide aminé, n'est pas inclus dans le système hétérocyclique ;
- Les pseudo-alcaloïdes qui ne dérivent pas d'acides aminés.

Plusieurs alcaloïdes sont utilisés à des fins thérapeutiques comme la morphine antalgique, la tubocurarine spasmolytique, les vasodilatateurs vincamine et ajmalicine, la codéine antitussive, la quinidine avec son activité antiarythmique et la galanthamine pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Stöckigt *et al.*, 2002). Comme ils interviennent également dans la protection des plantes contre les agents pathogènes (Singla, 2010).

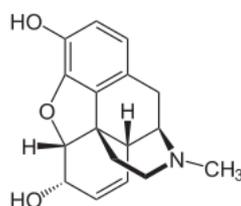


Figure 8 : Structure d'un alcaloïde (la morphine) (Aniszewski, 2007)

3.3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des hydrocarbonés naturels issus des plantes, qui partagent la structure de base : isoprène de formule (C₅H₈) (figure 9), leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité isoprène : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (Christianson, 2017). Ces métabolites sont responsables de l'odeur et la couleur des plantes (piment, curies), certains ont des propriétés toxiques répulsives ou attractives pour d'autres organismes, ce qui les rend d'excellents antiseptiques et agents antimicrobiens. Des études antérieures ont démontré que l'activité prooxydante des terpénoïdes est très efficace dans la réduction du volume tumoral par effet apoptotique et/ou nécrotique comme ils sont capables de piéger les radicaux libres (Bakkali *et al.*, 2008).

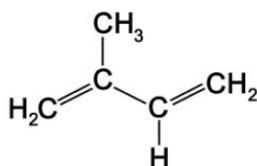


Figure 9 : Structure chimique d'un isoprène (malecky, 2008).

Chapitre III :

Étude botanique de la plante

1. La famille des astéracées

« Aster » du grec signifie étoile, par analogie avec la forme de l'inflorescence (**Harkati, 2011**). Il s'agit de la plus vaste famille des plantes à fleurs avec 2500 espèces réparties en 100 genres. Les astéracées sont connues par leur inflorescence en capitule composée de nombreuses petites fleurs, sous forme d'une grappe condensée sur un axe court et aplatie, qui est leur caractère morphologique principale, en plus de leur appareil sécréteur bien développé et la richesse de leurs organes de réserve en inuline (un glucide de réserve).

Les astéracées sont distribuées dans le monde entier, mais particulièrement abondantes dans les régions tempérées, sèches et montagneuses comme le bassin méditerranéen, l'Afrique australe et le sud-ouest des Etats unis (**Grimaud, 2009**).

2. Le genre *Atractylis*

Au sein de la famille des Astéracées, le genre *Atractylis* comporte une trentaine d'espèces largement distribuées, particulièrement localisées sur le bord et les îles de la Méditerranée, du Maroc jusqu'au Moyen-Orient, dont au moins seize espèces sont présentes en Algérie où *Atractylis gummifera* (**Hamliche et al., 2013**).

3. L'espèce d'étude *Atractylis gummifera*

Atractylis gummifera (*A. gummifera*) est une espèce cosmopolite qui a été répertoriée par Linné en 1753, mais elle a été déjà connue chez les anciens Grecs et les Romains, sous le nom de Caméléon (**Daniele et al., 2005**). Cette plante est aussi indiquée chez les botanistes avec les synonymes de *Acarna gummifera* W. et *Carlina gummifera* Less. Dans l'index Kewensis (1895), un ancien répertoire des noms génériques, cependant on utilise toutefois la nomenclature Linnéenne (**photo 01**) (**Fassina et contessa, 1961**).



Photo 1 : *Atractylis gummifera* (**Daniele et al., 2005**)

3.1. Étude botanique

3.1.1. Systématique de la plante

Classification systématique de *Atractylis gummifera* (Bouabid et al., 2019)

Règne	Végétal
Embranchement	Embryophytes
Sous-embranchement	Trachéophytes
Classe	Angiospermes
Clade	Dicotylédones
Ordre	Astrales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Atractylis</i>
Espèce	<i>Atractylis gummifera</i>

3.1.2. Noms vernaculaires de la plante (Bouabid et al., 2019)

- Noms Arabes (Algérie, Maroc, Tunisie) : Addad, Chouk el alek.
- Noms Français : Chardon à glu, Caméléon blanc, Carthame gummifère.
- Noms Anglais : Bird-lime, Glue thistl.

3.1.3. Description botanique

A. gummifera est une plante herbacée, épineuse et vivace. Elle a des feuilles profondément découpées en lobes dentés et regroupés en rosettes au niveau du sol formant un tapis défensif. Sa tige est réduite ou non apparente, les fleurs sont duveteuses, hermaphrodites et de couleur rose au rouge pourpre, elles apparaissent en été et restent assez longtemps après que les feuilles sèchent, elles sont groupées en capitules entourés de bractées hérissées d'épines qui laissent exsuder à leurs aisselles un latex blanc jaunâtre qui se solidifie en sorte de glu, d'où le nom vernaculaire « chardon à glu », ou gomme d'où le nom latin « *gummifera* » (Zaim et al., 2008 ; Bouabid et al., 2019). Le fruit est un akène ellipsoïdale surmonté d'une aigrette assurant sa dispersion. La partie souterraine consiste en un rhizome volumineux qui peut atteindre 30 à 40 cm de longueur, il est très dur, fibreux et jaunâtre, il permet à la plante de se maintenir pour de nombreuses années (photo 02) (Bouabid et al., 2019).



Photo 2 : Les différentes parties de la plante *Atractylis gummifera* (Bouabid *et al.*, 2019)

3.2. Etat naturel et répartition

A. gummifera est un chardon distribué dans le monde entier mais particulièrement abondant dans les régions méditerranéennes : en Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie) et dans le sud-Europe (Italie, Portugal, Grèce et Espagne) (Daniele *et al.*, 2005).

En Algérie, cette plante se rencontre dans l'étendue de la région littorale et du Tell, tant en montagne qu'en plaine, à partir du niveau de la mer jusqu'au sommet du Tababor et de l'Ouarsenis à des altitudes de 1500-1900m (Lefranc, 1866). Elle recouvre les broussailles, les forêts ou les terrains herbeux plus ou moins arides ou encore à l'état sauvage au bord des chemins et des champs de culture qui sont à l'abandon (Derraji, 2014).

3.3. Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques

Cette plante malgré sa mauvaise réputation, est largement utilisée en médecine alternative. En usage interne, la racine desséchée est utilisée pour provoquer les vomissements et arrêter les hémorragies, comme elle guérit les œdèmes et l'épilepsie, en fumigation, on l'emploie dans le traitement des rhumes, des vertiges et des céphalées. En usage externe, elle est réputée de traiter en friction ou en cataplasme, la gale, les boutons d'acné, l'abcès et des chancres syphilitiques (Skalli *et al.*, 2002).

De plus, selon les travaux de Khadhri *et al.*, (2015) *A. gummifera* a un effet sur le piégeage des radicaux libres qui sont les déclencheurs de plusieurs maladies métaboliques comme le diabète et la prévention du stress oxydatif. D'après les travaux de Bouabid *et al.*, (2018) cette plante est capable d'inhiber les enzymes clés responsable de la dégradation des polysaccharides : alpha-amylase, alpha-glucosidase et bêta-galactosidase.

3.4. Toxicité d'*A. gummifera*

A. gummifera est considérée comme toxique, mais sa toxicité dépend de la dose, de la méthode de préparation et de la partie de la plante ingérée. La racine étant la plus toxique suivie par la tige, les bractées, la fleur, la graine, et enfin la feuille. (Vallejo *et al.*, 2009).

Cette toxicité est due à la présence de deux glycosides : l'atractyloside et la gummiférine qui sont des poisons mitochondriaux qui inhibent la phosphorylation oxydative, ce qui provoque une augmentation de la consommation du glucose et inhibition de son métabolisme et donc la mort par hypoglycémie aigue dans la majorité des cas (Bouabid *et al.*, 2018 ; Skalli *et al.*, 2002).

3.5. Travaux antérieurs

Peu de travaux phytochimiques et biologiques ont été consacrés pour cette plante, parmi, on trouve l'étude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de deux extraits d'*A. gummifera* (traditionnel et méthanolique) pour différentes parties de la plante, dont l'extrait traditionnel du rhizome présente une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait méthanolique (Khadhri *et al.*, 2015).

Benbouziane et Beneddra, (2016) ont contribué à une étude botanique et chimique d'*A. gummifera*, dont l'analyse botanique a élucidé une description générale de la plante ainsi que la présence de nombreux laticifères et cristaux d'inuline au sein du rhizome. L'analyse chimique a montré la présence de polyphénols, de tanins et sa richesse en hétérosides toxiques (Atractylosides et gummiférine).

Par la suite une étude phytochimique et une évaluation de l'activité inhibitrice de alpha-amylase, alpha-glucosidase et bêta-galactosidase des extraits aqueux et organiques réalisés par Bouabid *et al.*, (2018), ont révélé la richesse des extraits en flavonoïdes, en tanins et qu'ils ont une activité inhibitrice significative sur les trois enzymes, particulièrement l'extrait méthanolique obtenu par macération suivie par l'extrait aqueux.

Le même groupe de chercheurs (Bouabid *et al.*, 2019) a effectué une étude complémentaire en évaluant *-in-vivo-* l'effet anti-diabétique des extraits aqueux et méthanoliques obtenus par macération, dont le premier a été le plus efficace pour réduire la glycémie à jeun à 62.7%, de plus, cet extrait a rétabli les paramètres biochimiques de souris diabétiques à la normal. Ensuite, en (2020) ils ont réalisé une investigation phytochimique et une étude des propriétés antioxydantes *in vitro* et *in vivo* des extraits organiques d'*Atractylis gummifera*.

En ce qui concerne la toxicité d'*A. gummifera*, plusieurs études ont été réalisées, la plus récente étant celle de Bouabid *et al.*, (2019), qui ont indiqué que la dose mortelle de plante

dépend de la voie d'administration et du modèle animal et que la racine étant la plus toxique, et que cette toxicité est due aux deux glycosides : Atractyloside et gummiférine.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), elle se compose de deux parties :

- La première partie : dosages quantitatifs des polyphénols totaux, flavonoïdes et des tanins.
- La deuxième partie : évaluation de l'activité antioxydante en utilisant trois techniques : La capacité antioxydante totale, le piégeage du radical libre (DPPH) et le pouvoir réducteur de fer.

Toutes les manipulations ont été répétées trois fois.

1. Matériel végétal

La plante *Atractylis gummifera* a été récoltée dans la région de Beni Mestar- Tlemcen (34° 52' 00" nord, 1° 25' 00" ouest), le mois de juillet 2019.

Le rhizome (**Photo 3**) a été séparé en deux, la croûte et la pulpe. Les deux parties ont été séchées dans un endroit bien aéré, à une température ambiante.



Photo 3 : Le rhizome d'*Atractylis gummifera* (photo originale)

2. Extraction à reflux par des solvants à polarité croissante

10 g de chacune, la croûte et la pulpe du rhizome d'*Atractylis gummifera*, ont été broyées séparément et soumises à une extraction à reflux dans des solvants à polarité croissante selon la méthode décrite par **Chaouche et al. (2015)**. D'abord dans 100 mL d'hexane pendant 1 heure et demi pour éliminer les matières grasses, ensuite dans 100 mL de dichlorométhane pendant 2 heures et enfin dans un mélange de trois solvants (méthanol-acétone-eau) (70/20/10 : V/V/V) pendant 2 heures également. Les extraits obtenus sont filtrés puis évaporés *via* un rotavapeur et maintenus à sec pour les analyses ultérieures.

Le rendement (Rdt) de l'extrait sec est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rdt \%} = [P_1 - P_2 / P_3] \times 100$$

P₁ : Poids du ballon après évaporation ;

P₂ : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide) ;

P₃ : Poids de la matière végétale sèche de départ.

3. Quantification de quelques classes phénolique dans les extraits

3.1. Les polyphénols totaux

Le réactif utilisé « Folin-Ciocalteu », est un mélange de complexes d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) et d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est réalisé par la comparaison de la densité optique (DO) observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris *et al.* (2006)** : Une prise de 100 µL de l'extrait est mélangée avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont additionnés au mélange, le tout est laissé à température ambiante pendant 30 min et la lecture est réalisée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.

Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 µg/mL. Les teneurs en Polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS).

3.2. Les flavonoïdes

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et le nitrite de sodium (NaNO₂). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. La comparaison de la DO observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto *et al.* (2002)**. Une prise de 250 μL d'extrait dilué est ajoutée de 75 μL d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après incubation pendant 6 min à température ambiante, 150 μL d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10%) est ajouté au mélange. Après repos à température ambiante pendant 5 min, 500 μL de soude (NaOH , 1M) est ajouté au mélange. Le volume final est porté à 2,5 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée contre un blanc à 510 nm. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 $\mu\text{g/mL}$. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

3.3. Les tanins condensés

Les tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm. Une prise de 50 μL d'extrait est ajoutée à 3 mL de vanilline à 4% et 1,5 mL du chlorure d'hydrogène (HCl). Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation pendant 15 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 500 $\mu\text{g/mL}$), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/ g MS) (**Sun *et al.*, 1998**).

4. Détermination de l'activité antioxydant, *in vitro*

4.1. La capacité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte. Une prise de 100 μL d'extrait est combinée dans un tube avec 1 mL de solution composée d'acide sulfurique (0,6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95 °C pendant 90 min. Après un repos de 6 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait. Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydant totale est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) (**Prieto *et al.*, 1999**).

4.2. Le piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm. La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites « antioxydants » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (**figure10**). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

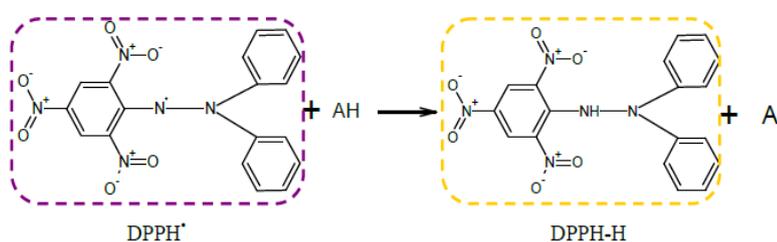


Figure10 : Forme réduite du radical DPPH.

A différentes concentrations, 50 μL de chaque échantillon, sont ajoutés à 1950 μL d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \times 10^{-5}$ M (0,0025 g dans 100 mL méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μL du méthanol avec 1950 μL d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la réduction de DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le témoin positif utilisé est le butylhydroxyanisol (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, à l'aide de la formule suivante (**Atoui *et al.*, 2005**) :

$$\text{PI} = (\text{DO}_{\text{témoin}} - \text{DO}_{\text{extrait}} / \text{DO}_{\text{témoin}}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

$\text{DO}_{\text{témoin}}$: absorbance du témoin négatif.

$\text{DO}_{\text{extrait}}$: absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI_{50}). Une valeur faible de CI_{50} correspond à une grande efficacité de l'extrait.

4.3. Le pouvoir réducteur du fer

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ fournit des ions Fe^{3+} qui seront réduits en Fe^{2+} par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu, (1986)**. Cette méthode consiste à mélanger 1mL de l'extrait à différentes concentrations avec 2,5 mL de tampon phosphate 2,2 M à pH 6,6 et 2,5 mL d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 min à 50°C, puis 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10% (m/v) sont ajoutés pour arrêter la réaction.

2,5 mL du mélange sont additionnés de 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de $FeCl_3$ à 0,1% (m/v). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace (CE_{50}), concentration de l'extrait correspondante à une absorbance égale à 0,5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire ($D.O = f([])$). L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle de témoin positif, le butylhydroxyanisole (BHA).

Résultats et discussion

1. Les rendements des extraits

Suite à une extraction à polarité croissante (hexane, dichlorométhane et méthanol/ acétone/ eau) sous reflux, réalisée sur deux parties du rhizome d'*Atractylis gummifera* : la pulpe et la croûte. On a obtenu les résultats représentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : le rendement des extraits.

Les extraits	La croûte	La pulpe
Rendement	13,76%	11,93%

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait de la croûte a un rendement légèrement supérieur (13,46%) que celui de la pulpe (11,93%), ces résultats sont proches à ceux de **Bouabid *et al.*, (2020)** qui ont obtenus un rendement de 15% par une extraction sous reflux par méthanol de tout le rhizome (croûte et pulpe). Néanmoins, l'extraction aqueuse a donnée de meilleurs résultats : 35% par décoction et 24,5% par macération.

2. Les teneurs en composés phénoliques

Afin de quantifier les extraits étudiés, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été effectué, par des méthodes spectrophotométriques, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) pour les polyphénols totaux, en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS) pour les flavonoïdes et les tanins condensés.

2.1. Les polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux ont été calculées par extrapolation des valeurs d'absorbances obtenues à 750 nm, en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure 11**) et sont représentés dans la **figure 12**.

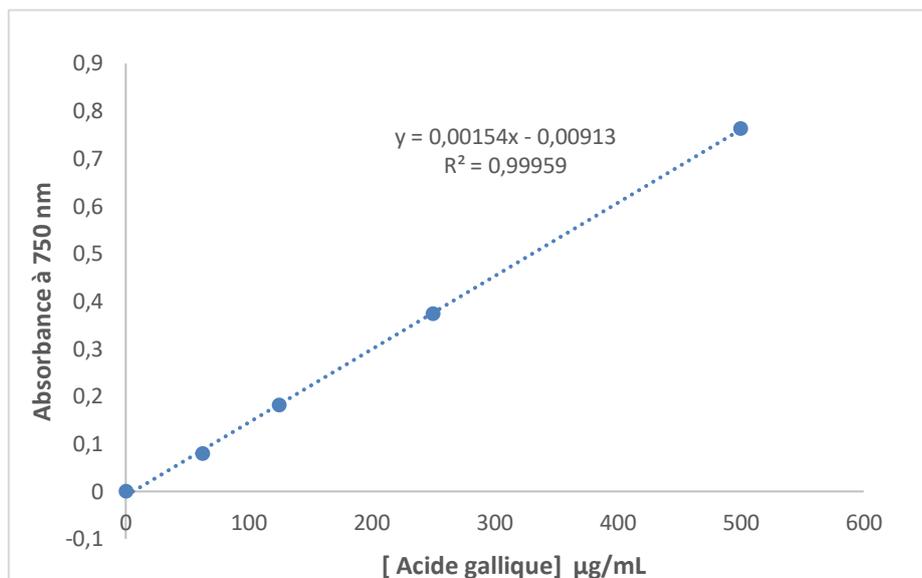


Figure 11 : Courbes d'étalonnage de l'acide gallique pour les polyphénols totaux.

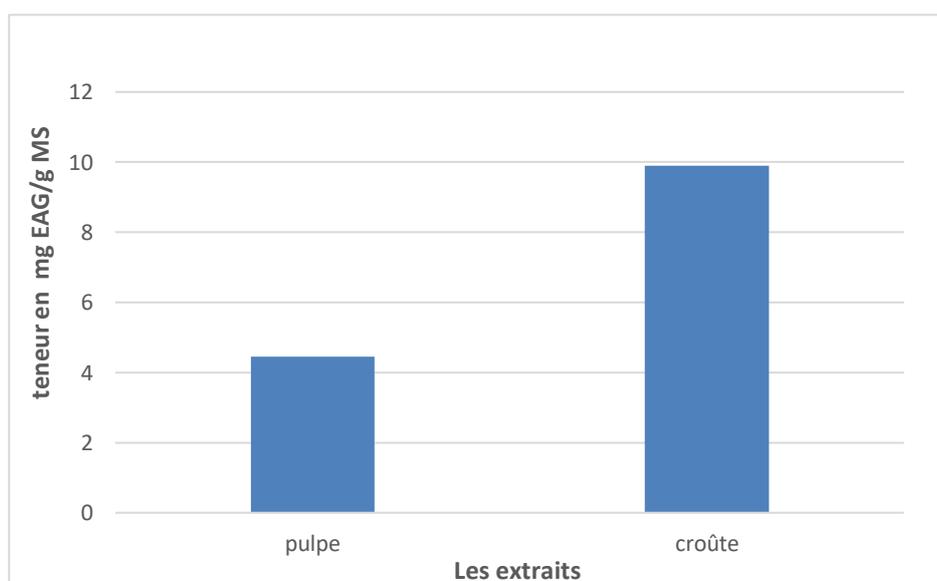


Figure 12 : Représentation des teneurs en polyphénols totaux pour les deux extraits

Les résultats révèlent une différence entre les deux extraits (**figure 12**). En effet, l'extrait de la croûte présente une teneur en polyphénol de 9,90 mg EAG/g MS nettement supérieure à celle de l'extrait de la pulpe 4,45 mg EAG/g MS. Ces résultats sont en moyenne de ceux de **Khadhri et al., (2013)** qui révèlent que l'extrait méthanolique obtenu par macération du rhizome entier a une teneur de 6,5 mg EAG/g MS en polyphénols venant en deuxième position après celui de la feuille qui est le plus riche avec 17 mg EAG/g MS.

Ces différences pourraient être dues à l'effet de nombreux facteurs, tels que la température, les précipitations, les techniques d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé et la partie de la plante étudiée comme l'ont signalé **Tlili et al., (2018)** et **Yahia et al., (2020)**. **Singleton et Rossi (1965)** ont rapporté que les composés phénoliques réagissent différemment d'une expérience à l'autre selon le nombre et la structure des groupes phénoliques. De plus, **Elahi et al., (2017)** ont signalé que la procédure de séchage pourrait influencer la concentration des composés phénoliques dans les échantillons.

2.2. Les flavonoïdes

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été obtenus par extrapolation des valeurs des absorbances obtenus à 510 nm en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine (**figure 13**) et sont représentés dans **la figure 14**.

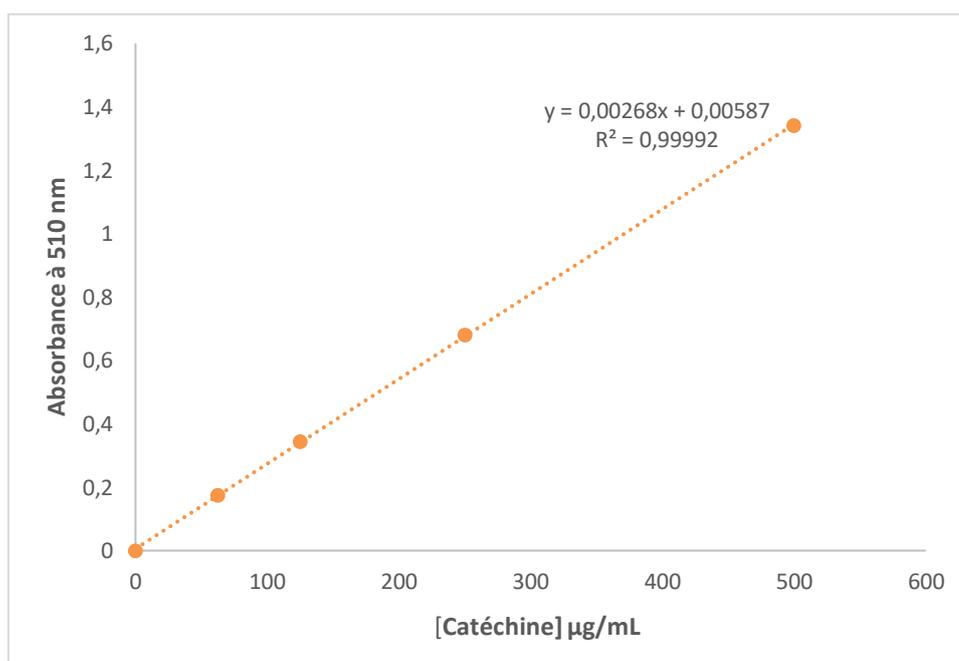


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour les flavonoïdes.

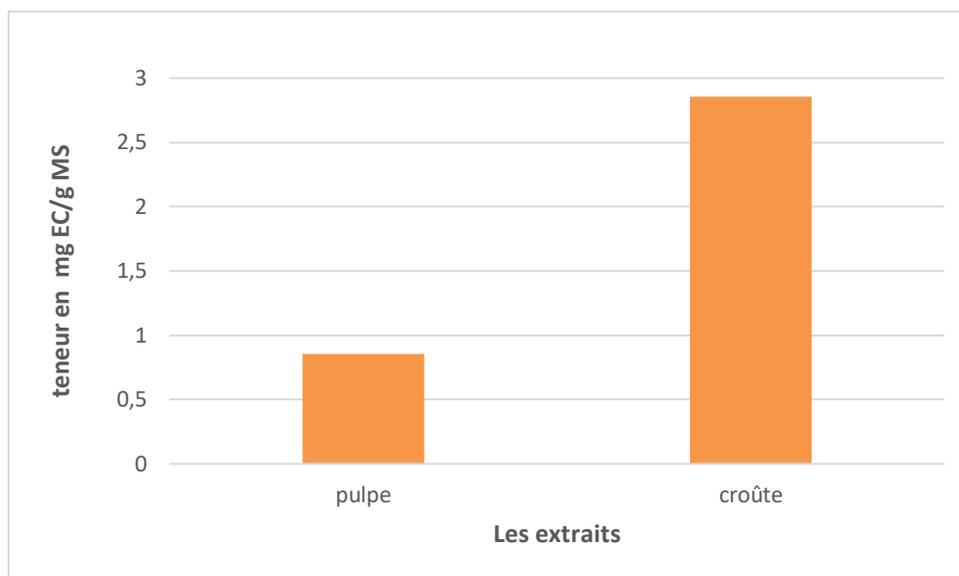


Figure 14 : Représentation des teneurs en flavonoïdes pour les deux extraits.

Comme pour les polyphénols, les teneurs des flavonoïdes varient considérablement entre l'extrait de la croûte 2,85 mg EC/g MS et celui de la pulpe 0,85 mg EC/g MS, ces teneurs restent supérieures à celles trouvées par **Khadhri *et al.*, (2013)** où l'extrait méthanolique du rhizome entier obtenu par macération a enregistré la plus faible teneur en flavonoïdes de l'ordre de 0,38 mg EC/g MS ce qui est 18 fois inférieur à celle enregistrée chez la feuille étant la plus riche.

2.3. Les tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés ont été également déterminées à partir de la courbe d'étalonnage (**figure 15**), tracée en utilisant la catéchine, les résultats sont représentés dans **la figure 16**.

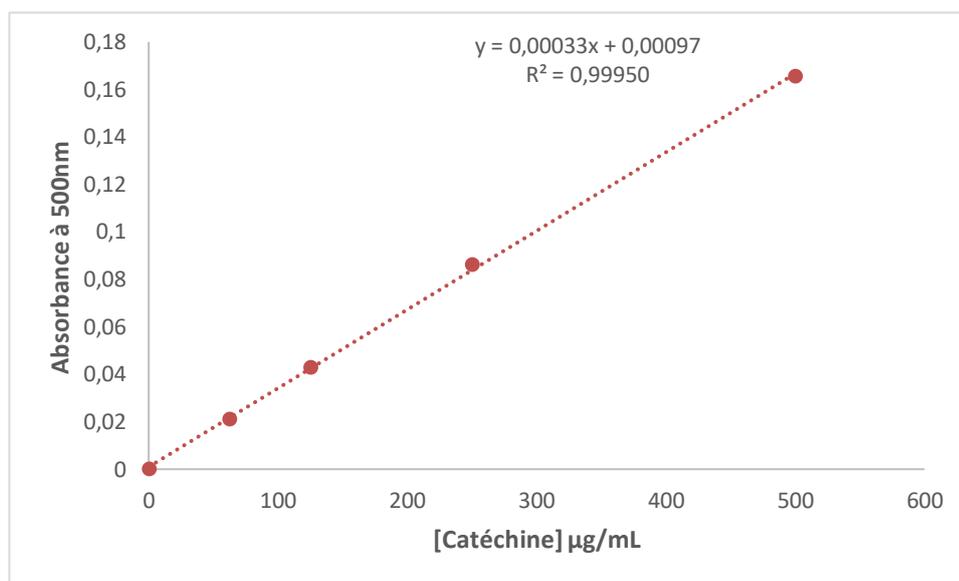


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour les tanins condensés.

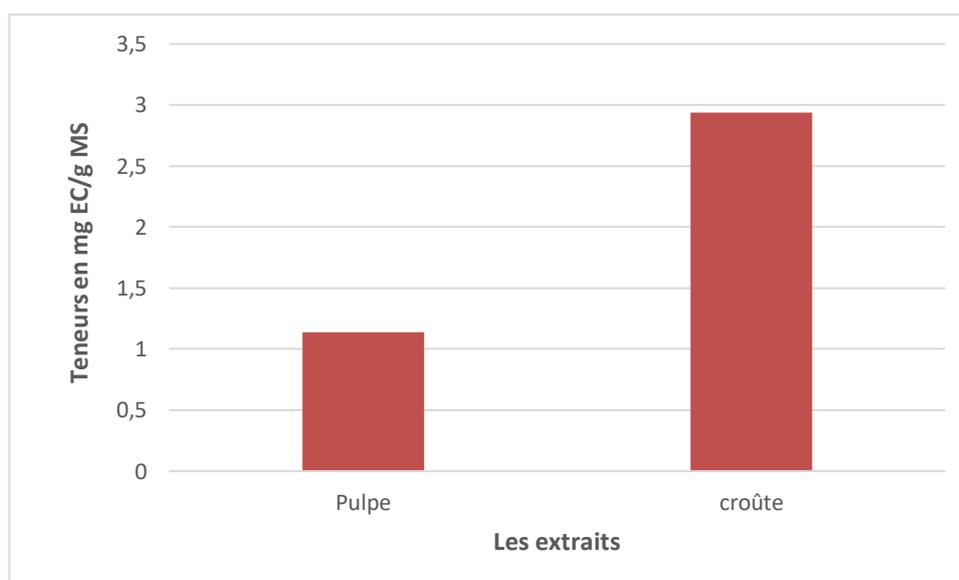


Figure 16 : Représentation des teneurs en tanins condensés pour les deux extraits

Ce dosage révèle que l'extrait de la croûte renferme le taux le plus important en tanins condensés, avec une valeur de 2,93 mg EC/g MS par rapport à celui de la pulpe avec 1,13 mg EC/g MS.

Ces résultats sont approximativement identiques avec ceux de **Khadhri et al., (2013)** qui ont trouvé que l'extrait méthanolique du rhizome entier obtenu par macération possède la teneur

maximale en tanins condensés qui est de 1,7 mg EC/g MS suivie par la feuille avec 1,06 mg EC/g MS et enfin la tige qui occupe la dernière position avec une valeur de 0,7 mg EC/g MS.

3. L'évaluation de l'activité antioxydante

Dans cette étude, on a choisi d'évaluer les propriétés antioxydantes *in vitro* via les trois tests les plus couramment utilisés et de combiner les résultats de ces tests complémentaires afin d'avoir une indication sur la capacité antioxydante des extraits du rhizome d'*A. gummifera*.

3.1. La capacité antioxydante totale

Les résultats sont estimés en référence à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure 17**) et sont représentés dans la **figure 18**.

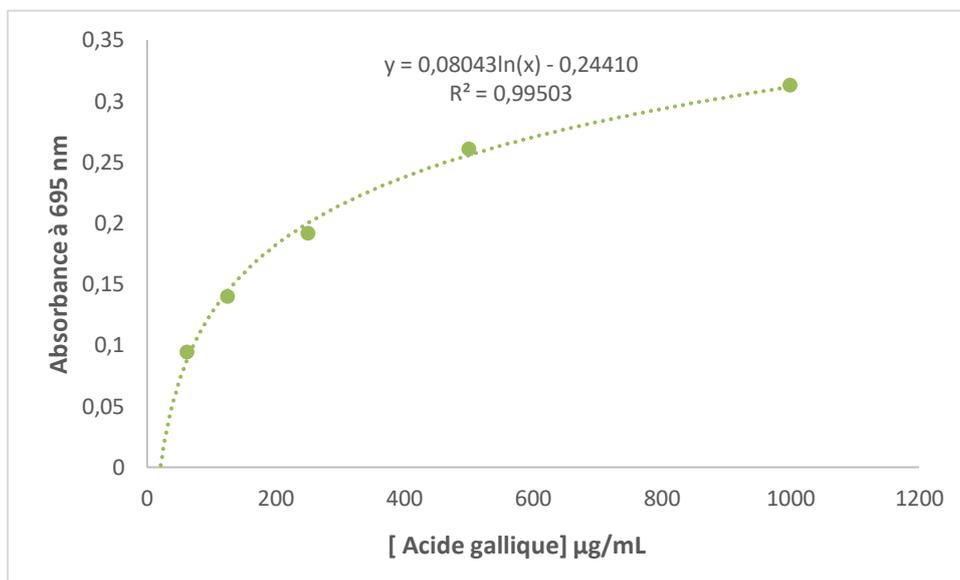


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la capacité antioxydante totale.

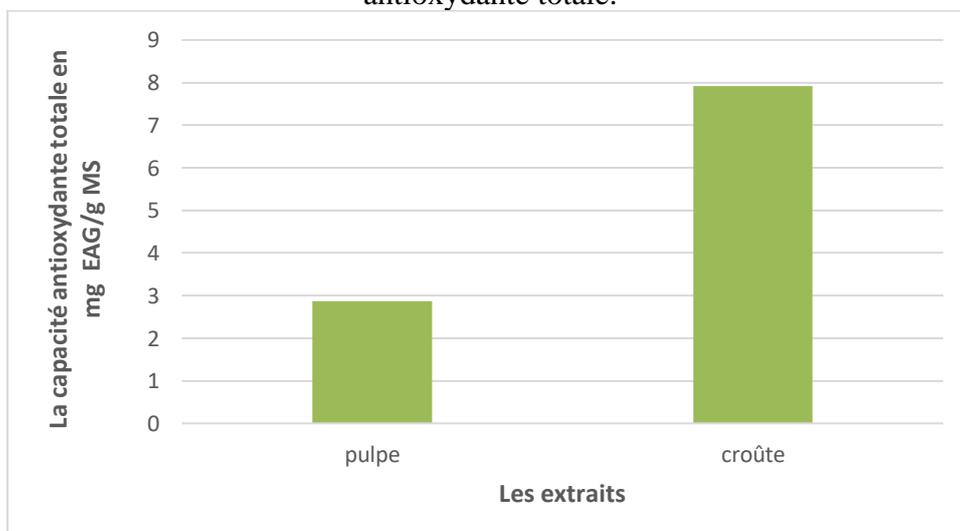


Figure 18 : Représentation de la capacité antioxydante totale des extraits.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de la croûte possède une capacité antioxydante totale trois fois plus importante à celle de l'extrait de la pulpe avec les valeurs de 7,91 mg EAG/g MS et 2,86 mg EAG/g MS, respectivement.

3.2. Le piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des deux parties du rhizome d'*A. gummifera* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 520 nm. Cette activité est évaluée par la détermination des CI₅₀ des deux extraits (**figure 19**) en référence à celle du BHA un antioxydant de synthèse (**figure 20**).

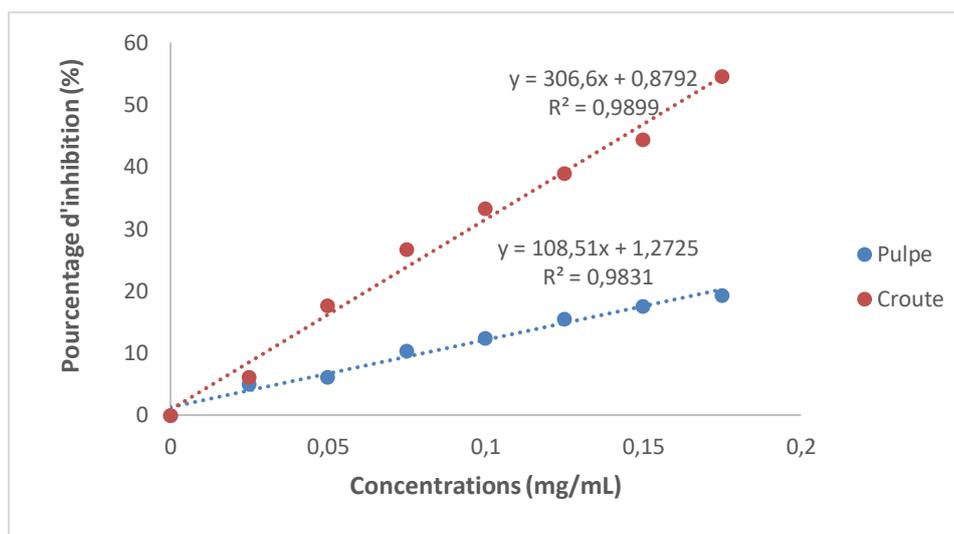


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits.

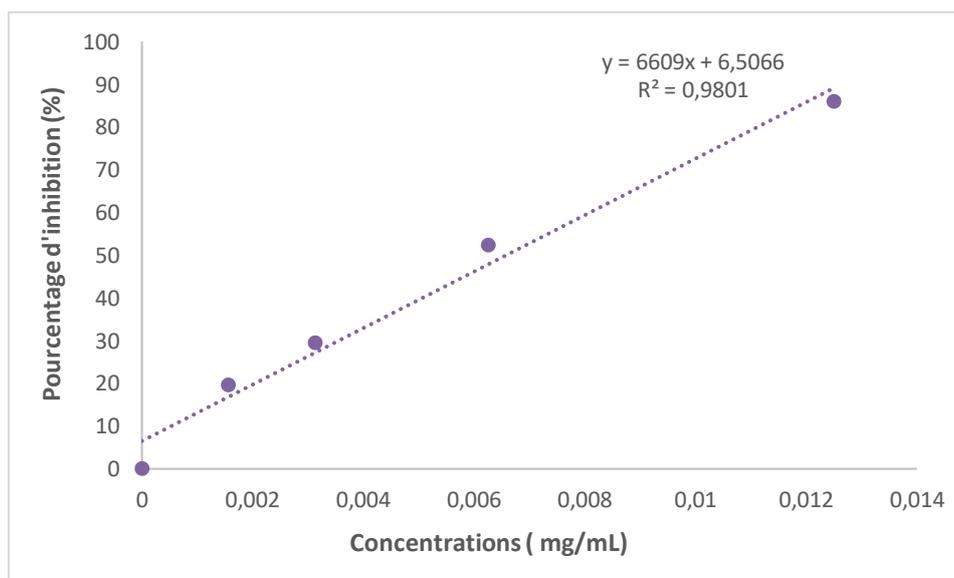


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations du BHA.

A une concentration de 0,17 mg/mL, l'extrait de la pulpe d'*A. gummifera* possède une faible capacité à piéger le radical libre DPPH, avec un pourcentage qui ne dépasse pas 19,28%, à la même concentration, l'extrait de la croûte révèle une capacité de 54,58% de piégeage.

La capacité antioxydante des deux extraits a été exprimée aussi par la détermination des CI_{50} , les valeurs sont représentées dans le **tableau 2**. L'analyse des résultats révèle que l'extrait de la croûte possède une CI_{50} de 0,16 mg/mL largement inférieure à celle de l'extrait de la pulpe 0,44 mg/mL et donc une meilleure activité, mais ce qui reste faible par rapport au BHA ($CI_{50}=0,01$ mg/mL).

Cependant, nos résultats restent meilleurs et loin d'être comparés à ceux de l'extrait méthanolique obtenu par macération du rhizome entier ($CI_{50}= 250$ mg/ml) selon **Khadhri et al., (2013)**. Les différences observées peuvent être dues à la technique utilisée, au type de solvants et à l'origine des échantillons (**Yahia et al., 2020**). Ils ont déduit aussi que le rhizome est le plus faible en capacité antioxydante, par rapport à la tige ($CI_{50}=30$ mg/mL) et la feuille (10 mg/mL) (**Khadhri et al., 2013**).

Tableau 2 : Les valeurs de CI_{50} des extraits et du BHA.

Échantillons	La croûte	La pulpe	BHA
CI_{50} (mg/mL)	0,16	0,44	0,01

3.3. Le pouvoir réducteur du fer

Ce pouvoir est basé sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) et est estimé par la CE_{50} qui correspond à une absorbance égale à 0.5 par une mesure spectrophotométrique à une longueur d'onde de 700 nm. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes linéaires des deux extraits (**figure 21**) et du BHA (**figure 22**).

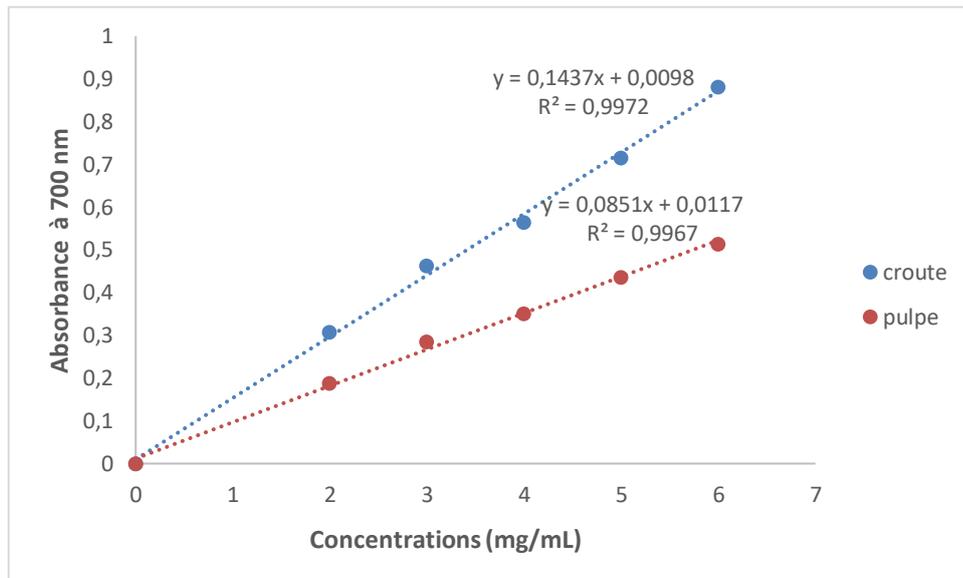


Figure 21 : Evolution des absorbances en fonction des concentrations des deux extraits.

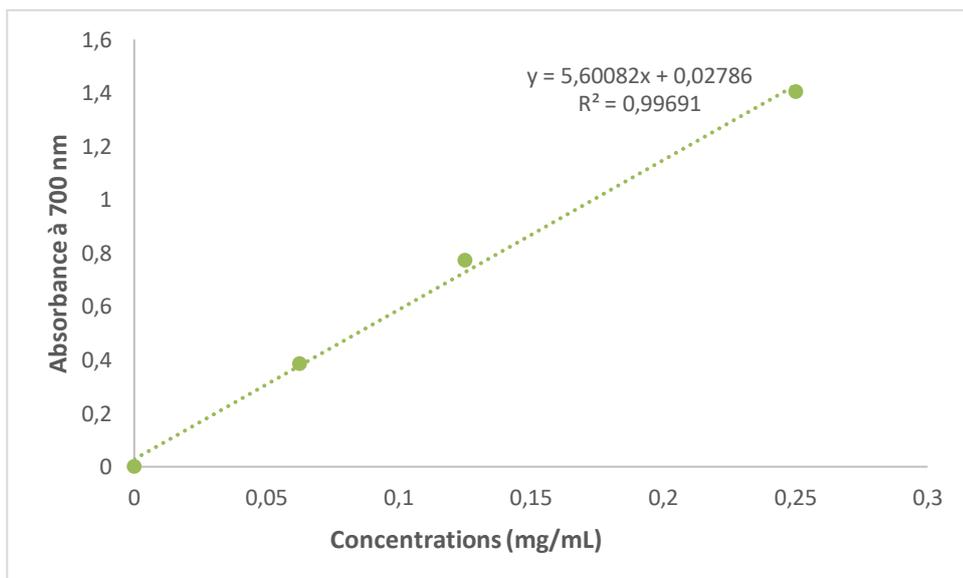


Figure 22 : Evolution des absorbances en fonction des concentrations du BHA.

Nous remarquons que l'absorbance augmente avec l'augmentation des concentrations des deux extraits (**figure 21**), ce qui correspond à une augmentation du pouvoir réducteur. A partir de ces courbes linéaires nous avons calculé les CE_{50} des deux extraits d'*A. gummifera* ainsi que du BHA. Les valeurs sont représentées dans **le tableau 3**.

Tableau 3 : Les valeurs des CE₅₀ des deux extraits et du BHA

Échantillons	La croûte	La pulpe	BHA
CE ₅₀ (mg/mL)	3,41	5,73	0,08

L'analyse des résultats du pouvoir réducteur du fer consignée dans le tableau ci-dessus révèle que l'extrait de la croûte a la CE₅₀ la plus basse (3,41 mg/mL) et par conséquent, il possède la meilleure capacité réductrice et donc une meilleure activité antioxydante, toutefois moins importante à celle du BHA (CE₅₀= 0,08 mg/mL). Par contre l'extrait de la pulpe enregistre une CE₅₀ élevée (5,73 mg/mL) ce qui se traduit par une faible capacité réductrice.

Nos résultats sont en moyenne de ceux de **Khadhri et al., (2013)**, qui ont trouvé une valeur CE₅₀ de 5,7 mg/mL pour l'extrait méthanolique du rhizome entier obtenu par macération.

Conclusion générale et perspectives

La flore Algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes dotées de réelles propriétés pharmacologiques dont certaines poussent spontanément. Ces dernières sont anciennement utilisées en médecine traditionnelle mais qui ne sont pas évaluées scientifiquement, comme la plante sur laquelle on a mis de lumière dans le présent travail, *Atractylis gummifera*. Dans le but de valoriser cette plante, on a mené à quantifier certains de ses composés phénoliques : les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés et d'évaluer son activité antioxydante par trois méthodes : la capacité antioxydante totale, le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer.

L'extraction sous reflux des deux parties du rhizome d'*A. gummifera* la croûte et la pulpe, a donné de bons rendements, avec supériorité pour l'extrait de la croûte (13,76%). L'estimation quantitative des composés phénoliques des deux extraits a révélé une richesse de la croûte en polyphénols totaux (9,90 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (2,85 mg EC/g MS) et en tanins condensés (2,93 mg EC/g MS) par rapport à la pulpe. Pour la capacité antioxydante totale, on a déduit que la croûte est dotée d'une capacité de 7,91 mg EAG/g MS, trois fois plus importante à celle de la pulpe (2,86 mg EAG/g MS). L'étude de l'activité anti radicalaire vis-à-vis du DPPH et de celle réductrice de fer, ont montré que c'est la croûte qui a des pouvoirs antioxydants plus importants, avec un CI_{50} de 0,16 mg/mL et une CE_{50} de 3,41 mg/mL. Des activités qui restent nettement plus faibles que celle de BHA.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus tendent tous vers une seule conclusion : la croûte est la source de composés phénoliques à potentiel antioxydant de la partie souterraine d'*A. gummifera*, et par conséquent la responsable du potentiel thérapeutique de la racine entière.

Cependant, il est souhaitable d'approfondir ces résultats par la réalisation des études biologiques *in vivo* (activités antidiabétiques, anti-inflammatoires, anticancéreuses, etc.) et des analyses chromatographiques plus fines pour la détermination du profil polyphénolique. Enfin, il est primordial d'étudier la toxicité de cette plante afin de confirmer ou d'infirmer l'activité qui lui est attribuée.

Références bibliographiques

1. Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), 324-329.
2. Aniszewski, T. (2007). *Alkaloids-Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. Elsevier (1^{er} Edition), pp. 316.
3. Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), 27-36.
4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
5. Benbouziane, F- Z., & Beneddra, M. (2016). Contribution à une étude botanique et chimique du chardon à glu, *Atractylis gummifera* L., famille des Asteraceae. (Mémoire fin d'étude). Université Abou Bekr Belkaïd. Faculté de médecine Dr. B. Benzerdjeb – Tlemcen.
6. Bouabid, K., Lamchouri, F., Hamid, T., & Faouzi, M. E. A. (2019). Inventory of poisonings and toxicological studies carried out on *Atractylis gummifera* L.: A review. *Plant Science Today*, 6(4), 457-464.
7. Bouabid, K., Lamchouri, F., Toufik, H., & Faouzi, M. E. A. (2020). Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 253, 112640.
8. Bouabid, K., Lamchouri, F., Toufik, H., Sayah, K., Cherrah, Y., & Faouzi, M. E. A. (2018). Phytochemical screening and in vitro evaluation of alpha amylase, alpha glucosidase and beta galactosidase inhibition by aqueous and organic *Atractylis gummifera* L. extracts. *Plant Science Today*, 5(3), 103-112.
9. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et Documentation, Lavoisier (4e Edition).
10. Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., & Larbat, R. (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial crops and products*, 64, 182-187.
11. Christianson, D. W. (2017). Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. *Chemical reviews*, 117(17), 11570-11648.

12. Dalton, T. P., Shertzer, H. G., & Puga, A. (1999). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 39(1), 67-101.
13. Daniele, C., Dahamna, S., Firuzi, O., Sekfali, N., Saso, L., & Mazzanti, G. (2005). *Atractylis gummifera* L. poisoning: an ethnopharmacological review. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2), 175-181.
14. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14), 1818-1892.
15. Derraji, A. (2014). Chardon a glu : remède ou poison. *Infosanté, la revue des professionnels de santé et du médicament*. 44-45.
16. Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
17. Dusser-Lauge, N. (2017). *Études de plantes médicinales du Maghreb : usages traditionnels et études phytochimiques* (Thèse de doctorat). Université Toulouse III-Paul Sabatier.
18. Elahi, M. Y., Kargar, H., Dindarlou, M. S., Kholif, A. E., Elghandour, M. M., Rojas-Hernández, S., ... & Salem, A. Z. (2017). The chemical composition and in vitro digestibility evaluation of almond tree (*Prunus dulcis* D.A. Webb syn. *Prunus amygdalus*; var. Shokoufeh) leaves versus hulls and green versus dry leaves as feed for ruminants. *Agroforestry Systems*, 91(4), 773-780.
19. Fang, X., Yang, C., Wei, Y., Ma, Q., Yang, L., & Chen, X. (2011). Genomics grand for diversified plant secondary metabolites. *Plant Diversity and Resources*, 33(1), 53-64.
20. Fassina, G., & Contessa, A. R. (1961). SUR LA PHARMAGOGNOSIE DE L'ATRACYLIS GUMMIFERA L. *Planta Medica*, 9(02), 177-188.
21. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-360.
22. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
23. Grimaud, F. (2009). Les Astéracées du Ladakh dans la médecine tibétaine. *Phytothérapie*, 7(5), 255.

24. Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants* (Thèse de doctorat). Université Toulouse III-Paul Sabatier. pp.12
25. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
26. Hammiche, V., Merad, R., & Azzouz, M. (2013). *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*, Springer Verlag. France, pp. 63-64.
27. Harkati, B. (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae (Thèse de doctorat). Université Mentouri-Constantine.
28. Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K., & McCord, J. M. (2011). Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular aspects of medicine*, 32(4-6), 234-246.
29. Jacques, B., & André, R. (2004). Biochimie métabolique. Ellipses.
30. Khadhri, A., Ridha, E. M., & Smiti, S. (2013). Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu : *Atractylis gummifera*. *Revue Social Science and Nature de Tunisie*. 39, 44-52.
31. Korzeniowska, K., Łęska, B., & Wieczorek, P. P. (2020). Isolation and determination of phenolic compounds from freshwater *Cladophora glomerata*. *Algal Research*, 48, 101912.
32. Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
33. Lefranc, É. (1866). *Étude botanique, chimique et toxicologique sur l'Atractylis gummifera (el heddad des arabes)*. Nabu Press, pp. 7.
34. Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
35. Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes (1^{er} Edition).
36. Martini, M-C., & Seiller, M. (2006). Actifs et additifs en cosmétologie. Éditions Tec & Doc, Lavoisier (3^{ème} Edition).
37. Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

38. Morand, C., & Milenkovic, D. (2014). Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*, 42 (2014), 47-62
39. Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
40. Park, P. J., Jung, W. K., Nam, K. S., Shahidi, F., & Kim, S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(6), 651-656.
41. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11-26.
42. Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. Woodhead Publishing Limited.
43. Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., & Gritsanapan, W. (2009). Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. *Fitoterapia*, 80(7), 442-447.
44. Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamine E. *Analytic Biochemistry*, 269, 337-341.
45. Rosales, P. F., Bordin, G. S., Gower, A. E., & Moura, S. (2020). Indole alkaloids: 2012 until now, highlighting the new chemical structures and biological activities. *Fitoterapia*, 143, 104558.
46. Sereme, A., Milogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M. (2008). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 15, 41-49.
47. Siacor, F. D. C., Lim, K. J. A., Cabajar, A. A., Lobarbio, C. F. Y., Lacks, D. J., & Taboada, E. B. (2020). Physicochemical properties of spray-dried mango phenolic compounds extracts. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100048.
48. Singla, D., Sharma, A., Kaur, J., Panwar, B., & Raghava, G. P. (2010). BIADB: a curated database of benzyloquinoline alkaloids. *BMC pharmacology*, 10(1), 4.

49. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
50. Skalli, S., Alaoui, I., Pineau, A., Zaid, A., & Soulaymani, R. (2002). L'intoxication par le chardon à glu (*Atractylis gummifera* L.) : à propos d'un cas clinique. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 95(4), 284-286.
51. Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A*, 967(1), 85-113.
52. Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.
53. Therond, P. (2003). Le sélénium : Un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 38(4), 250-256.
54. Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M. È., & Thorin, É. (2010). Âge et stress oxydant. *Medecine/Sciences*, 26, 875-80.
55. Tlili, N., Yahia, Y., Feriani, A., Labidi, A., Ghazouani, L., Nasri, N., & Khaldi, A. (2018). *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. *Industrial Crops and Products*, 122, 559-565.
56. Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
57. Vallejo, J. R., Peral, D., Gemio, P., Carrasco, M. C., Heinrich, M., & Pardo-de-Santayana, M. (2009). *Atractylis gummifera* and *Centaurea ornata* in the Province of Badajoz (Extremadura, Spain)—Ethnopharmacological importance and toxicological risk. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(2), 366-370.
58. Vergely, C., & Rochette, L. (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique cardiologie*, 1(3), 131-139.
59. Vermerriss, W. & Nicholson, R. (2006). *Phenolic compound Biochemistry*. Springer.

60. Yahia, Y., Benabderrahim, M. A., Tlili, N., Hannachi, H., Ayadi, L., & Elfalleh, W. (2020). Comparison of Three Extraction Protocols for the Characterization of Caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf Extracts: Evaluation of Phenolic Acids and Flavonoids by Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Tandem Mass Spectrometry (LC–ESI–MS) and the Antioxidant Activity. *Analytical Letters*, 53(9), 1366-1377
61. Zaim, N., Guemouri, L., Lamnaouer, D., & Benjouad, A. (2008). Étude de quatre cas d'intoxication par *Atractylis gummifera* L. au Maroc. *Thérapie*, 63(1), 49-54.
62. Zussman, J., Ahdout, J., & Kim, J. (2010). Vitamins and photoaging: do scientific data support their use? *Journal of the American Academy of Dermatology*, 63(3), 507-525.

Résumé

Cette étude vise à évaluer le potentiel antioxydant de la croûte et de la pulpe du rhizome d'*Atractylis gummifera*, une plante épineuse appartenant aux Astéracées.

Les deux parties souterraines ont été soumises à une extraction à reflux dans des solvants à polarité croissante, initialement une extraction à l'hexane pour une délipidation, ensuite au dichlorométhane, et enfin à un mélange du méthanol/acétone/eau (70/20/10).

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été déterminées par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium et de la vanilline, respectivement. L'étude de l'activité antioxydante a été réalisée par trois techniques, la capacité antioxydante totale, la technique du piégeage du radical libre DPPH et la technique de réduction du fer.

Les résultats montrent que la croûte est la source de composés phénoliques à potentiel antioxydant du rhizome d'*Atractylis gummifera*. Les dosages ont révélé que l'extrait de la croûte est le plus riche en polyphénols (9,90 mg EAG/g MS). Il contient des flavonoïdes et des tanins, à des teneurs moyennement faibles (2,85 mg EC/g MS et 2,93 mg EC/g MS, respectivement), mais toute fois supérieures à celles de l'extrait de la pulpe. Pour l'activité antioxydante, l'extrait de la croûte a enregistré les meilleurs résultats, avec une capacité antioxydante totale de 7,92 mg EAG/g MS, trois fois plus importante à celle de la pulpe. Une CI_{50} (DPPH) de 0,16 mg/mL toute fois inférieure à celle du BHA et une CE_{50} réductrice du fer faible, de l'ordre de 3,41 mg/mL.

Mots clés : *Atractylis gummifera*, croûte, pulpe, composés phénoliques, activité antioxydante.

ملخص

لغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لقرشرة ولب جذر نبات *Atractylis gummifera* وهو نبات شائك ينتمي إلى *Asteraceae*. خضع كل من الجزأين لعملية الاستخلاص بمذيبات متزايدة القطبية، في البداية كان استخلاص بالهكسان من أجل إزالة الدهون، ثم بثنائي الكلوروميثان، وأخيراً بخليط من الميثانول/الأسيتون/الماء (70/20/10).

تم تحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويدات والتانان المكثفة بواسطة طرق الفولين-سيوكالتو وثلاثي كلوريد الألمنيوم والفانيلين على التوالي. أجريت دراسة النشاط المضاد للأكسدة بواسطة ثلاث تقنيات، القدرة الإجمالية المضادة للأكسدة، تقنية تثبيت الجذر DPPH و تقنية ارجاع الحديد.

أظهرت النتائج أن القرشرة هي مصدر المركبات الفينولية ذات الامكانيات المضادة للأكسدة في الجزء الجذري من *Atractylis gummifera*. أظهر التحليل النوعي أن مستخلص القرشرة هو الأغنى في مادة البوليفينول (9,90مغ مكافئ حمض غالليك/غ مادة جافة) كما يحتوي على الفلافونويد والتانان المكثفة بنسب منخفضة بشكل معتدل (2,85 مغ مكافئ كاتشين /غ مادة جافة و2,93 مغ مكافئ كاتشين /غ مادة جافة على التوالي) ولكن أعلى من مستخلص اللب. بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة سجل مستخلص القرشرة أفضل النتائج، مع القدرة الإجمالية المضادة للأكسدة تبلغ 7,91مغ مكافئ حمض غالليك/غ مادة جافة أكبر بثلاث مرات من اللب وقيمة CI_{50} (DPPH) مقدرة ب 0,16 مغ /مل أقل من ذلك من مستخلص اللب وأبعد من تلك المسجلة من طرف BHA وارجاع الحديد منخفض بقيمة CE_{50} = 3,41 مغ/مل.

الكلمات المفتاحية: *Atractylis gummifera* , القرشرة، اللب، المركبات الفينولية , النشاط مضاد للأكسدة.

Abstract

This study aims at evaluating the antioxidant potential of the crust and pulp in the rhizome of *Atractylis gummifera*, a thorny plant belonging to the Asteraceae.

Both underground parts were subjected to reflux extraction in increasing polarity solvents, initially hexane extraction for delipidation, then dichloromethane, and finally a mixture of methanol/acetone/water (70/20/10).

Total polyphenols, flavonoids and condensed tannins were determined by Folin-Ciocalteu, aluminium trichloride and vanillin methods, respectively. The study of antioxidant activity was determined by three methods, the total antioxidant capacity, the free radical scavenging DPPH and the Ferric reducing antioxidant power .

The results revealed that the crust is the source of phenolic compounds with antioxidant potential in the rhizome of *Atractylis gummifera*. It's the richest in polyphenols (9,90 mg EGA/g DW), it contains flavonoids and condensed tannins with moderately low values (2,85 mg EC/g DW and 2,93 mg EC/g DW respectively) however better than the extract of the pulp. For the antioxidant activity, the crust extract marked the best results, with a total antioxidant capacity of 7,91 mg EGA/g DW three times better than that of the pulp, an IC_{50} (DPPH) of 0,16 mg/mL lower than that of the pulp extract, however far from that of the BHA and a low iron reducing EC_{50} , with a value of 3,41 mg/mL.

Keywords: *Atractylis gummifera*, crust, pulp, phenolic compounds, antioxidant activity.