

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : Basti Khawla

Mekki Bochra

Rezigat El Zahra

Ouali Houriya

Intitulé

Effets antioxydants de l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus*

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. KHERBACHE Abdallah

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Encadreur

Dr. HENDEL Noui

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Président

Mr. HARRAR Abdenassar

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

"وَقُلْ اَعْمَلُوا فِی سَبِیْلِ اللّٰهِ عَمَلِكُمْ وَرَسُولِهِ

وَالْمُؤْمِنُونَ وَاسْتُرُّوْا اِلَى عَالَمِ الْغِیْبِ وَالشَّهَادَةِ

فَیُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ"

[التوبة: 105]





REMERCIEMENTS

*En tout premier lieu, nous remercions **ALLAH** le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience, qu'il nous a donnée durant toutes ces longues années.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **Mr. KHERBACHE ABDALLAH**, qui a dirigé mes travaux de recherches avec beaucoup de patience et de gentillesse, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury, **Mr. HARRAR Abdenassar** et **Dr. HENDEL Noui** qui vont juger notre recherche.*

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine, pour leurs aides.

*Nous remercions aussi tous mes collègues de la promotion **2022-2023** et les étudiants de master et nous leur souhaitons beaucoup de réussite.*

Également, nous remercions à tous les docteurs de département de Biochimie et Microbiologie et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.





Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Avant tout à mes chers parents Aicha et Aissa,
Qui m'ont soutenue durant toutes ces années de formation.*

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A toute la famille BASTI et la famille OUELHI

A tous mes amis.

Et a toute la promotion 2022/2023 de Biochimie

*A toutes mes adorables que j'ai connu pendant toute
ma vie ...*



Khawla



Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Avant tout à mes chers parents Fatma et Amar,
Qui m'ont soutenue durant toutes ces années de formation.*

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A toute la famille Mekki et la famille Abd El Azzize

A tous mes amis.

Et a toute la promotion 2022/2023 de Biochimie

*A toutes mes adorables que j'ai connu pendant toute
ma vie ...*



Bohra



Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Avant tout à mes chers parents Nadia et Ibrahim,
Qui m'ont soutenue durant toutes ces années de formation.*

A mes chers frères : Hemza et Heythem

A mes chères sœurs : Asma, Habiba et Bochra

A toute la famille Rezigat et la famille Baarsia

A tous mes amis.

*Et a toute la promotion 2022/2023 de Biochimie
A toutes mes adorables que j'ai connu pendant toute
ma vie ...*



Zahra



Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Avant tout à mes chers parents Mohammed et Zakia,
Qui m'ont soutenue durant toutes ces années de formation.*

A mes chers frères

A ma chère sœur

A toute la famille Ouali et la famille Aouina

A tous mes amis.

Et a toute la promotion 2022/2023 de Biochimie

*A toutes mes adorables que j'ai connu pendant toute
ma vie ...*



Houriya

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الأسيثوني للجزء الهوائي لنبته *Anacyclus clavatus*. تم تقدير المحتوى الكمي للمركبات متعددة الفينول والفلافونويدات للمستخلص باستعمال طريقة Ciocalteu-Folin و $AlCl_3$ ، على الترتيب. فبينت النتائج أن المستخلص الأسيثوني غني بهذه المركبات وقدر ذلك بـ $74,820 \pm 2,535$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ مستخلص و $8,001 \pm 0,965$ ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/مغ مستخلص. تم تقييم القدرة المضاد للأكسدة باستعمال كل من اختبار جذر DPPH, TAC, وأكسدة حمض اللينولييك. أظهرت النتائج ان المستخلص الأسيثوني يمتلك نشاطية إزاحية جد عالية لجذر DPPH بقيمة IC_{50} تقدر بـ $27,958 \pm 2,636$ ميكروغرام/مل. كما ان للمستخلص قدرة كبيرة لمضادات الأكسدة تقدر بـ $257,069 \pm 1,178$ ميكروغرام من حمض الأسكوربيك/مغ من مستخلص الأسيثوني. اضافة على ذلك يملك المستخلص قدرة معتبرة لتثبيط أكسدة حمض اللينولييك بقيمة 67%. من خلال النتائج المتحصل عليها يمكن استخلاص أن نبات *Anacyclus clavatus* يمتاز بخصائص مضادة للأكسدة والتي يمكن استعمالها في الصناعات الغذائية والدوائية.

الكلمات المفتاحية: *Anacyclus clavatus*، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، مستخلص أسيثوني.

Abstract

The present study aims to evaluate the antioxidant activity of acetonic extract (AC. E) of *Anacyclus clavatus*. Total polyphenols and flavonoids contents were determined using the Folin Ciocalteu reagent and aluminum trichloride, respectively. The results showed that the AC. E is rich in polyphenols and flavonoids with values of $74,820 \pm 2,535$ μg GAE/mg of extract and $8,001 \pm 0,965$ μg QE/mg of extract. The antioxidant activity of the extract was evaluated using DPPH radical, total antioxidant capacity, and linoleic acid peroxidation tests. The results showed that the AC. E possesses strong scavenging activity against DPPH radicals with IC_{50} value of $27,958 \pm 2,636$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Moreover, the extract has an important antioxidant capacity of $257,069 \pm 1,178$ μg equivalent of ascorbic acid/mg of the AC. E. Besides, the extract inhibited the peroxidation of the linoleic acid by 67%. Taken together, we can conclude that acetonic extract of aerial parts of *Anacyclus clavatus* exhibit antioxidant activity that can be exploited in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Anacyclus clavatus*, Oxidative stress, Antioxidant, acetonic extract.

Résumé

La présente étude vise à évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait acétonique (E.AC) d'*Anacyclus clavatus*. Les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées à l'aide du réactif de Folin Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium, respectivement. Les résultats ont montré que l'E.AC est riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de $74,820 \pm 2,535 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait et $8,001 \pm 0,965 \mu\text{g QE/mg}$ d'extrait. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide de tests du radical DPPH, de la capacité antioxydante totale et de peroxydation de l'acide linoléique. Les résultats ont montré que l'E.AC possède une forte activité de piégeage contre les radicaux DPPH avec une valeur IC_{50} de $27,958 \pm 2,636 \mu\text{g/mL}$. De plus, l'extrait a une capacité antioxydante importante de $257,069 \pm 1,178 \mu\text{g}$ d'équivalent d'acide ascorbique/mg d'E.AC. En outre, l'extrait a inhibé la peroxydation de l'acide linoléique de 67%. Dans l'ensemble, nous pouvons conclure que l'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* présente un pouvoir antioxydant qui peut être exploité dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés : *Anacyclus clavatus*, Stress oxydatif, Antioxydant, Polyphénols, Extrait acétonique.

LISTE DES ABREVIATIONS

BHT : Hydroxytoluène butylé

CAT : Catalase

DPPH : 1,1- diphenyl-2-picryl-hydrazyl

E.AC : Extrait acétonique

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

KCN : Thiocyanate de potassium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

OH[•] : Radical hydroxyle

RLs : Radicaux libres

ROS : Espèces réactives oxygénées

SOD : Superoxyde dismutase

TAC : Capacité antioxydante totale

UV : Ultra-violet

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Formation des radicaux libre .	3
Figure 2. Sources et réponses cellulaires aux espèces réactives de l'oxygène.	6
Figure 3. Origine des différents radicaux libres oxygéné et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	8
Figure 4. Principales enzymes antioxydants	10
Figure 5. Photographie montrant l'aspect morphologique de la plante <i>Anacyclus clavatus</i> .	13
Figure 6. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.	18
Figure 7. Droite d'étalonnage de la quercétine.	19
Figure 8. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique.	21
Figure 9. Activité antiradicalaire de l'extrait acétonique de la partie aérienne de l' <i>Anacyclus clavatus</i> et de l'antioxydant de référence (BHT) vis-à-vis du radical DPPH	24
Figure 10. Cinétique de la peroxydation de l'acide linoléique en présence et en absence d'E.AC d' <i>Anacyclus clavatus</i> et du BHT.	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Différents types des espèces réactives	4
Tableau 2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	23
Tableau 3. Valeurs des IC ₅₀ , d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i> et du BHT.	25
Tableau 4. Capacité antioxydante total d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	25

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Stress oxydatif	3
I.1. Radicaux libres	3
I.2. Types radicaux libres	4
I.3. Sources de production des radicaux libres.....	5
I.3.1. Sources endogènes	5
I.3.2. Sources exogènes	6
I.4. Oxydation des macromolécules	6
I.4.1. Oxydation des glucides	6
I.4.2. Peroxydation lipidique	7
I.4.3. Oxydation de l'ADN.....	7
I.4.4. Oxydation des protéines.....	7
I.5. Maladies liées au stress oxydant.....	8
I.6. Antioxydants	9
I.6.1. Classification des antioxydants.....	9
II. LA PLANTE <i>ANACYCLUS CLAVATUS</i> (DESF.).....	12
II.1. Généralités	12
II.2. Description botanique et classification.....	12
II.3. Phytochimie	14
II.4. Usage traditionnel et propriétés biologiques	14

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODE.....	17
I. Matériel.....	17
I.1. Matériel végétal	17
I.2. Produits et réactifs	17

II. Méthodes	17
II.1. Préparation de l'extrait acétonique	17
II.2. Dosage des polyphénols totaux	17
II.3. Dosage des flavonoïdes	18
II.4. Activité antioxydante des extraits d' <i>Anacyclus clavatus</i>	19
II.5. Analyses statistiques.....	21
RESULTAT ET DISCUSSION	23
I. Résultat	23
I.1. Préparation de l'extrait <i>Anacyclus clavatus</i>	23
I.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	23
I.3. Activité antioxydante d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	23
I.3.2. Capacité antioxydante totale (TAC)	25
I.3.3. Effet sur la peroxydation de l'acide linoléique	25
II. Discussion	27
II.1. Préparation et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes	27
II.2. Activités antioxydantes	28
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	32
REFERENCES	34

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Ces dernières années, le monde de la biologie et de la médecine a été envahi par un nouveau concept, le "stress oxydatif", la condition dans laquelle les cellules ne contrôlent plus les radicaux libres oxydatifs toxiques présents en excès. Actuellement, il est largement admis que même si le stress oxydatif n'est pas en soi une maladie, il peut être impliqué comme déclencheur dans de nombreuses maladies, ou associé à des complications au cours de leur évolution, comme le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Ces dommages sont causés par les radicaux libres qui attaquent diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, qui ont finalement, la dégénérescence cellulaire et la mort en résulte (Moon et Shibamoto, 2009).

L'utilisation de molécules antioxydantes synthétiques est actuellement remise en question en raison des risques toxicologiques potentiels. Aujourd'hui, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal et leur importance est croissante, notamment en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

Avec sa riche biodiversité et son climat, l'Algérie est une plate-forme géographique très importante à explorer dans le domaine de la recherche sur les antioxydants et/ou les molécules thérapeutiques issues des plantes, utilisées depuis longtemps par de larges populations comme moyen essentiel de médication (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'espèce *Anacyclus clavatus*, bien que certains auteurs des pays méditerranéens aient mené des études limitées sur cette plante (Aliboudhar *et al.*, 2013; Hammami *et al.*, 2013), elle est utilisée comme remède contre les troubles digestifs ; aussi elle possède des propriétés anticancéreuses et antidiabétique (Sylvestre *et al.*, 2006).

Ce travail est une contribution à la préparation d'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*, la détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait étudié et l'évaluation de l'activité antioxydante de cet extrait *in vitro* par les tests de DPPH, la peroxydation de l'acide linoléique et le test de la capacité antioxydante totale.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense « antioxydants » au sein d'un même organisme, qui entraîne des dommages aux biomolécules telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Niki, 2018; Tu *et al.*, 2019). Ces dommages sont associés au développement de nombreuses maladies chroniques, telles que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires (Matschke *et al.*, 2019). En effet tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent les espèces réactives oxygénés (ROS) qui jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques des organismes. Le stress oxydatif devient normal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité des radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Niki, 2018; Tu *et al.*, 2019).

I.1. Radicaux libres

Les radicaux libres (RLs) sont définis comme des molécules ou des produits chimiques qui portent des électrons non appariés (célibataire) dans leurs orbitales externes. En raison de la présence d'un électron célibataire, les radicaux libres présentent une grande instabilité et très réactifs, de courte durée et capables de réagir avec de nombreux composés (Peña-Bautista *et al.*, 2019) (**figure 1**).

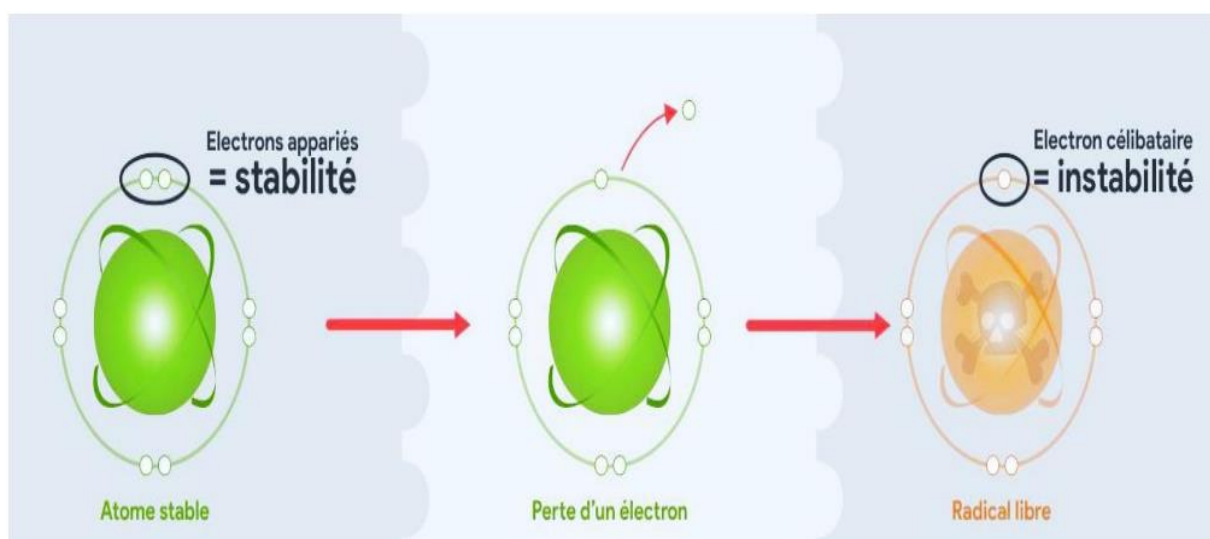


Figure 1. Formation des radicaux libre (Ghouti Mohamed, 2019).

I.2. Types radicaux libres

Parmi tous les types de radicaux libres (RLs) capables de se former dans les cellules, il faut distinguer un groupe limité de composés radicalaires jouant un rôle spécifique dans la physiologie, appelés radicaux libres primaires. D'autres radicaux libres, appelés radicaux libres secondaires, sont formés par la réaction de ces radicaux libres primaires avec des substances biochimiques dans les cellules (Yoshikawa *et al.*, 2000) (**tableau 1**).

Tableau 1. Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk, 2013).

Espèces Radicalaires		Espèce non Radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O ^{2•-}	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO [•]	Oxygène singulet	¹ O ₂
Radical alkoxyde	RO [•]	Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Radical hydroxyle	OH [•]	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO	Peroxynitrite	ONOO ⁻

I.2.1. Anion superoxyde

Il est considéré comme le type d'espèce réactive oxygénée le moins réactif et le radical libre le plus fréquemment produit dans le corps (Scheibmeir *et al.*, 2005). Il est chargé négativement et résulte de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire (Lacolley *et al.*, 2008). Cette réaction semble être principalement catalysée par les NADPH oxydases membranaires (Wolin, 2009).

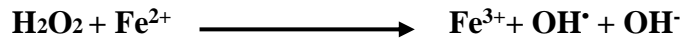


I.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

L'H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l'H₂O₂ génère le radical hydroxyle hautement réactif OH[•] par la réaction de Fenton (Wardman et Candeias, 1996).

I.2.3. Radical hydroxyle (OH[•])

Ce radical libre est formé par la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sous l'action de métaux de transition comme le fer (Fe²⁺) selon la réaction de Fenton (Tuo, 2015).



I.2.4. Radicaux alkyles R[•] et peroxydes ROO[•]

Les radicaux R[•] sont généralement générés par l'action des radicaux hydroxyles sur des substrats biologiques par arrachement d'atomes d'hydrogène ou ajout de doubles liaisons (Delattre *et al.*, 2005).



I.2.5. Monoxyde d'azote (NO[•])

Il se forme par l'oxydation de l'un des atomes N-terminaux de la L- arginine. Cette réaction est catalysée par le nitrique oxyde synthétase (NOS) (Tuo, 2015).



I.3. Sources de production des radicaux libres

I.3.1. Sources endogènes

Parmi les réactions enzymatiques, plusieurs sont considérées comme des sources majeures des espèces réactives oxygénés (ROS), notamment : la NADPH oxydase, la lipoxigénase et la xanthine oxydase. La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, c'est au niveau de cet organite que s'effectue la respiration cellulaire. Diverses réactions de consommation d'oxygène et de transfert d'électrons (énergie) génèrent des performances ROS. Les ions métalliques présents dans le corps, le fer et le cuivre, peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour générer des radicaux hydroxyles (Poprac *et al.*, 2017) (**figure 2**).

I.3.2. Sources exogènes

Les espèces réactives oxygénés (ROS) peuvent également être produits sous l'influence de facteurs de stress environnementaux (**figure 2**), tels que la pollution, l'alcool ou certaines drogues, une exposition prolongée au soleil, un exercice physique intense et le tabagisme (Kalam *et al.*, 2015).

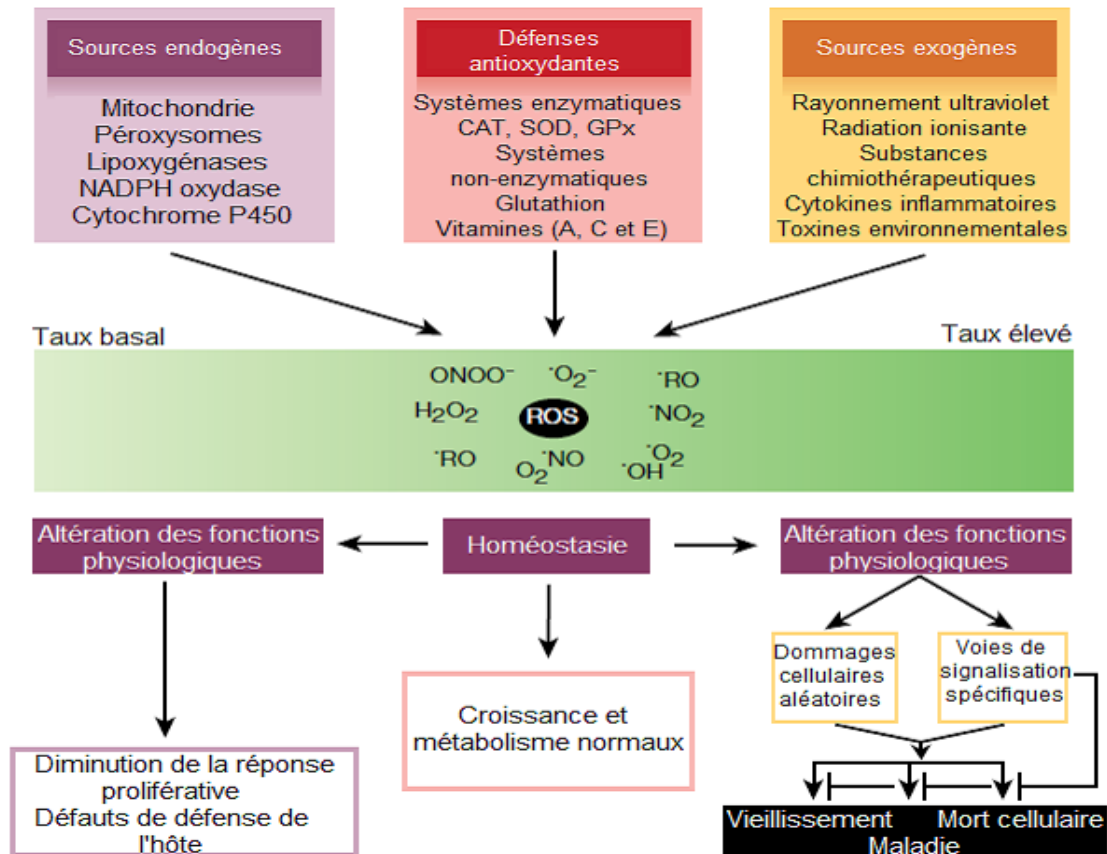


Figure 2. Sources et réponses cellulaires aux espèces réactives de l'oxygène (Krumova et Cosa, 2016).

I.4. Oxydation des macromolécules

I.4.1. Oxydation des glucides

Si la chimie des radicaux libres attaquant les polysaccharides est beaucoup moins étudiée que d'autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides, notamment les protéoglycanes du cartilage. De plus, le glucose peut être oxydé dans des conditions physiologiques en présence d'oligo-métaux, libérant de l'acétaldéhyde, H_2O_2 et OH^{\bullet} , ce qui provoquera le clivage des protéines ou leur glycation par

fixation d'acétaldéhyde. Cette oxydation du sucre est très importante chez les diabétiques, fragilisant les parois des vaisseaux sanguins et la rétine (Favier, 2003) (**figure 3**).

I.4.2. Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés et les phospholipides membranaires sont des cibles privilégiées pour l'attaque oxydative. La membrane est plus particulièrement ciblée par des radicaux hydroxyles capables d'arracher un atome d'hydrogène sur un carbone situé entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, qui s'oxyde en radical peroxyde. Cette réaction de peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne (Bhattacharyya *et al.*, 2014) (**figure 3**).

I.4.3. Oxydation de l'ADN

Les substances réactives, en particulier les radicaux hydroxyles (OH[•]), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) et même altérer les systèmes de réparation. En particulier, les espèces réactives oxygénés (ROS) peuvent induire l'oxydation, la nitration ou la méthylation des bases. Par conséquent, ces modifications perturbent la transcription et la traduction ultérieures, entraînant la formation de protéines tronquées et/ou non fonctionnelles. Ces altérations sont souvent à l'origine de phénomènes mutagènes, cancérogènes voire de vieillissement prématuré (Valko *et al.*, 2007). L'attaque des radicaux libres peut conduire directement à l'oxydation des bases, générant un grand nombre de bases modifiées : 8-oxoguanine, 8-nitroguanine, 8-oxo-adénine 5-hydroxycytosine, 5-hydroxyméthyl-uracile (Singh *et al.*, 2019) (**figure 3**).

I.4.4. Oxydation des protéines

Les protéines sont sensibles à l'oxydation par les espèces réactives oxygénés (ROS). Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques, altérant ainsi les chaînes protéiques. Il provoque une modification par ajout de produits issus de la peroxydation. Les dommages aux protéines peuvent se produire par oxydation du thiol, carboxylation, fragmentation ou mauvais repliement et dépliage, ce qui peut entraîner une perte d'activité de la protéine (Pisoschi et Pop, 2015). Les protéines oxydées deviennent également très hydrophobes par élimination des groupes amine ionisables ou par extériorisation de la région hydrophobe centrale et formation d'amas anormaux dans ou autour de la cellule (Goto et Radak, 2013) (**figure 3**).

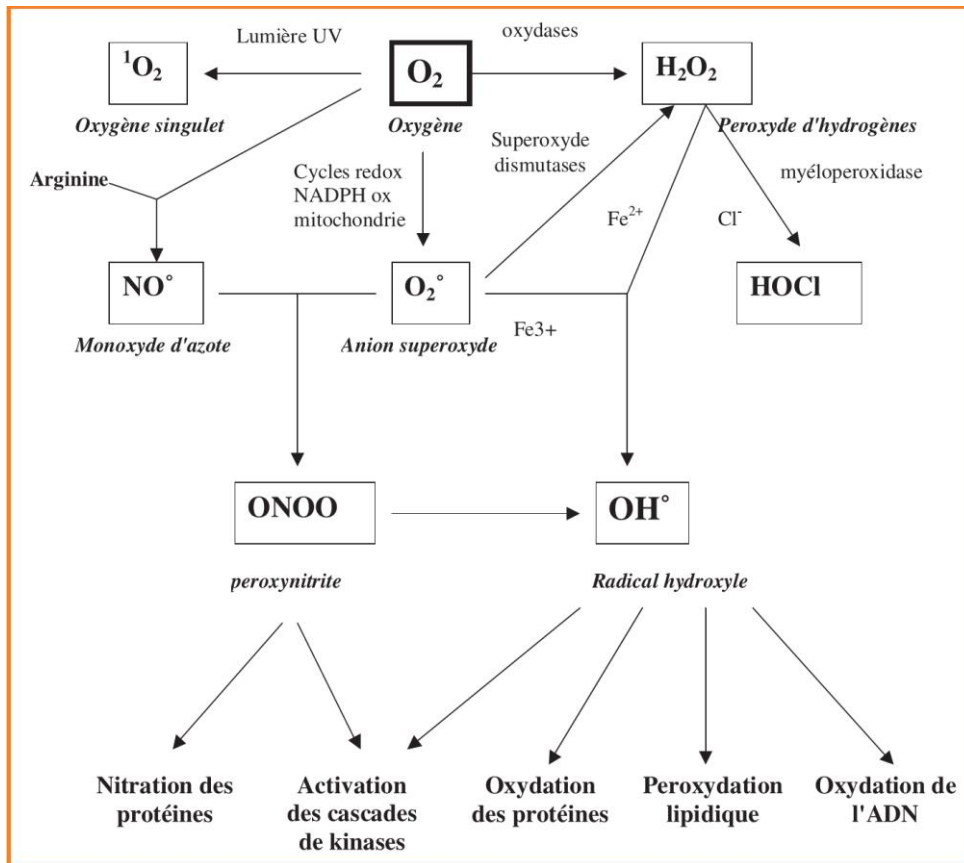


Figure 3. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

I.5. Maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydatif est une cause majeure de nombreuses maladies. Il joue un rôle important dans la pathogenèse des maladies chroniques, l'oxydation enzymatique ou non enzymatique des lipides membranaires polyinsaturés ou des lipoprotéines conduit à la formation de nombreux composés qui sont associés aux maladies cardiovasculaires, maladies neurodégénératives et les accidents vasculaires cérébraux et le diabète (Michel *et al.*, 2008). La surproduction accrue des espèces réactives oxygénés (ROS) peuvent également causer le cancer dans les cellules normales (Mao *et al.*, 2017). Cette production accrue est associée à la tumorigènes, car les ROS sont de puissants cancérigènes qui causent des dommages à l'ADN et des mutations génétiques, entraînant finalement une instabilité génomique et une transformation cellulaire (Andrisic *et al.*, 2018). Il provoque également la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque, la drépanocytose, le lichen plan, le vitiligo, désinfections, le syndrome de fatigue chronique et d'autres maladies liées au vieillissement (Duan *et al.*, 2016).

I.6. Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance, présente en faible concentration par rapport à un substrat oxydable, capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Gulcin, 2020), par exemple en bloquant/chélatant les atomes de fer, qui agissent comme catalyseurs de la formation de radicaux libres (réaction de Fenton). Par conséquent, les antioxydants sont utilisés pour contrôler les niveaux de substances actives afin de minimiser les dommages oxydatifs (Dias, 2019).

I.6.1. Classification des antioxydants

I.6.1.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques représentent la composante la plus importante des systèmes de défense cellulaires contre les attaques oxydatives (**figure 4**).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-) en oxygène et hydrogène peroxyde (H_2O_2). L'enzyme existe sous trois isoformes, deux dans les mitochondries intracellulaires avec du manganèse dans son site actif (Mn SOD), et une enzyme cytosolique avec du zinc dans son site actif (Zn SOD), tandis que l'autre est située dans l'espace extracellulaire avec du cuivre et du zinc (Cu-Zn SOD) (Younus, 2018).

- **Catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire (Ighodaro et Akinloye, 2018). On le trouve dans de nombreux tissus et il est particulièrement abondant dans le foie et les globules rouges. La catalase est située dans le peroxysome, et cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur du H_2O_2 formé dans le cytosol et les mitochondries. La catalase assure la dismutation du H_2O_2 (normalement produit par la SOD) en eau et en oxygène moléculaire (Baudin, 2020).

- **Glutathion peroxydase (GPX)**

La glutathion peroxydase est constituée de quatre sous-unités. Ils contiennent chacun une cystéine dont le soufre dans le groupe thiol est remplacé par un atome de sélénium : cette cystéine est donc une sélénocystéine (Baudin, 2020).

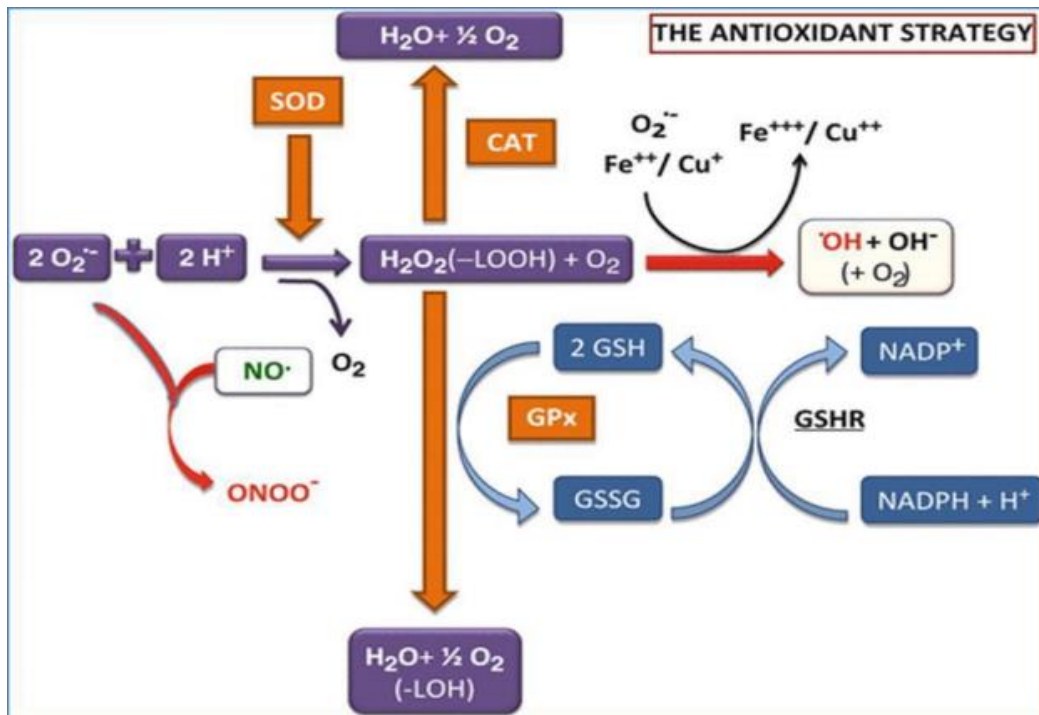


Figure 4. Principales enzymes antioxydants (Sáez et Están-Capell, 2014).

I.6.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont des nutriments naturellement apportés par l'alimentation (exogène) ou par des composés endogènes.

❖ Antioxydants non enzymatiques d'origine endogène

- **Glutathion (GSH)**

Le glutathion est un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. C'est un substrat de plusieurs enzymes antioxydantes. Il régénère la vitamine E et réagit avec les radicaux OH^\bullet et $\text{O}_2^{\bullet-}$ interrompt directement la chaîne d'oxydation. Il émerge alors sous la forme du radical GS^\bullet et se combine avec une autre molécule radicalaire de glutathion pour former la forme disulfure du glutathion oxydé (GSSG). Le rapport GSH/GSSG est couramment utilisé comme marqueur du niveau d'oxydation (Narayanankutty *et al.*, 2019).

- **Bilirubine**

C'est le produit final du catabolisme de l'humus. Il est considéré comme le meilleur antioxydant contre la peroxydation des lipides (Misra *et al.*, 2014).

- **Acide urique**

Produite par la xanthine oxydase, de par sa forte concentration et sa distribution, participe à 60% à la défense antioxydante, elle interagit avec 10 à 15% des radicaux hydroxyles produits chaque jour, et piège les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, à forte concentration elle devient peroxyde (Boukerreche et Zellagui, 2019).

- **Ubiquinones**

L'ubiquinone (coenzyme Q) est un composant de la chaîne respiratoire mitochondriale, sous sa forme réduite, agit comme un puissant antioxydant, protégeant les phospholipides de la peroxydation (Mehta et Gowder, 2015).

❖ Antioxydants non enzymatiques d'origine exogène

a. Vitamine E et C

La vitamine E (α -tocophérol) est un groupe d'antioxydants liposolubles présents dans toutes les membranes cellulaires. Il prévient la peroxydation des lipides (Duncan et Suzuki, 2017). La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intracellulaires et extracellulaires (compartiments hydrophiles). Cependant, une peroxydation a été observée en présence de Fe^{3+} . Bien que la plupart des mammifères sont capables de la synthétiser. Par conséquent, les animaux dépourvus de cette capacité à synthétiser la vitamine C doivent obtenir de la vitamine C à partir de l'alimentation (Amel *et al.*, 2020).

b. Oligoéléments

Les oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments (Cu, Zn, Mn et Se) on cite le zinc qui joue un rôle dans le système de défense d'antioxydant a été largement examiné. Car il agit comme un régulateur pour plus de 200 enzymes, c'est un cofacteur pour les superoxyde dismutase (SOD). Donc ce minéral protège les cellules contre des dégâts oxydatifs (Marreiro *et al.*, 2017).

c. β -carotène

Le bêta-carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes constituée de plus de 600 pigments présents dans de nombreux fruits et légumes aux propriétés antioxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles OH^\bullet et les peroxydes ROO^\bullet pour inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, et il neutralise également l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$. De plus, le β -carotène, comme l' α -carotène et la β -cryptoxanthine, est un caroténoïde précurseur de la vitamine A humaine (ou rétinienne), donc le β -carotène est une provitamine A (Durand et Beaudoux, 2011).

d. Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de haut poids moléculaire. Ils sont largement répandus dans le règne végétal. Plusieurs études ont montré une relation inverse entre la consommation d'aliments riches en polyphénols (fruits et légumes) et le risque de maladies liées à l'âge telles que les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires (Fraga *et al.*, 2019; Hahn *et al.*, 2017). Cette relation est généralement attribuée à la puissante activité antioxydante des flavonoïdes et autres polyphénols associée à leurs propriétés redox, qui peuvent éliminer ou piéger les espèces réactives de l'oxygène, et chélater divers métaux, de transférer et inhiber l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives oxygénés (ROS) telles que la xanthine oxydase (Serino et Salazar, 2018).

II. LA PLANTE *ANACYCLUS CLAVATUS* (DESF.)

II.1. Généralités

Anacyclus clavatus (desf.) pers. est une plante herbacée de la famille des Astéracées. Communément connue par Anacycle en massue, en Algérie, elle est connue sous le nom Gartoufa. *Anacyclus clavatus* est largement répandu dans les pays méditerranéens, adapté aux environnements humides et ouverts, et pousse généralement au bord des routes et dans les champs (Quezel et Santa, 1963). En Algérie le genre *Anacyclus* est représenté par deux espèces, à savoir l'*Anacyclus pyrethrum* L. et l'*Anacyclus clavatus* Pers. (Julien, 1894).

II.2. Description botanique et classification

Anacyclus clavatus est une plante herbacée annuelle vert-blanc à cycle végétatif très court, floraison entre avril et juin, pubescente 20-50 cm, tige longueur 20-40 cm. Les feuilles sont découpées en lobes, avec des mucormyces à l'extrémité, et les capitules sont terminaux. Les fleurs

externes ont des ligules blanches à trois dents qui se replient sur l'involucre après la floraison (**figure 5**). Les fleurs au centre sont jaunes, toutes tubulaires, mélangées à des paillettes qui s'élargissent vers le haut, et sont à peu près aussi longues que les fleurs. Le fruit est un akène plat blanc avec deux ailes sur le bord et une partie membraneuse dentée au sommet (Ben Mammam et Lamara Mahammed, 2018).

Selon (Cronquist et Takhtadzhian, 1981) sa classification est comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Anacyclus*

Espèce : *Anacyclus clavatus* (desf.) pers



Figure 5. Photographie montrant l'aspect morphologique de la plante *Anacyclus clavatus*.

II.3. Phytochimie

L'*Anacyclus clavatus* a fait l'objet de peu d'études chimiques. La présence de flavonoïdes et de terpénoïdes a été démontrée (Benítez *et al.*, 2010; Greger, 1978). Les feuilles et les tiges sont très riches en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins)(Hennebelle *et al.*, 2004). Les huiles essentielles des parties aériennes ont été analysées et un total de 98 et 106 composés volatils ont été identifiés (Aliboudhar *et al.*, 2013). Le Germacrène D est le constituant majeur des huiles essentielles des feuilles et des tiges suivie par δ -éléémène puis α -caryophyllène, tandis que le β -thuyone est le principal constituant des fleurs suivie par le monoterpène artemisia cétone puis le myrténol. En outre, le 1,8-cinéole, myrténol, terpinène-4-ol, α -cadinol, muurolol, α - β pinène, β -terpinène et le myrcène sont présents dans les huiles essentielles d'*Anacyclus clavatus* (Aliboudhar *et al.*, 2013).

II.4. Usage traditionnel et propriétés biologiques

Plusieurs espèces d'*Anacyclus* ont été utilisées en médecine traditionnelle, telles que *Anacyclus pyrethrum*, *Anacyclus radiatus*, *Anacyclus valentinus*, *Anacyclus cyrtolepodioides* et *Anacyclus clavatus*. *Anacyclus clavatus* est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. Ses feuilles et ses tiges sont utilisées comme aliment dans des salades ou des conserves, et comme tisane digestive (Pardo-de-Santayana *et al.*, 2022; Tardío *et al.*, 2006) et comme drogue active contre les troubles digestifs (Benítez *et al.*, 2010) et les ulcères gastriques (Aliboudhar *et al.*, 2013). Elle est également utilisée comme anti-inflammatoire sous forme de plâtre (Pardo-de-Santayana *et al.*, 2022).

Plusieurs études ont été effectuées pour évaluer les activités biologiques de l'*Anacyclus clavatus*. Les études de (Hammami *et al.*, 2013) montrent que les huiles essentielles d'*Anacyclus clavatus* possèdent une activité antibactérienne et antifongique. Les études portant sur des extraits aqueux, méthanolique et chloroformique de l'*Anacyclus pyrethrum* ont prouvé son pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire (Rimbau *et al.*, 1999). L'activité anti-diabétique et l'effet sur la prolifération de cellules endothéliales ont été aussi rapportés (Consortium, 2005).

MATERIEL

ET

METHODE

MATERIEL ET METHODE

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

La plante *Anacyclus clavatus* (*A. clavatus*) a été récolté en mai 2019 de la région de Bougâa, Sétif. L'identification botanique a été faite par Dr. Djamel Sarri, Faculté des Sciences, Université de M'sila. Les parties aériennes sont séchées dans un endroit frais à température ambiante, puis conservées à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

I.2. Produits et réactifs

Les réactifs chimiques utilisés dans présente étude sont : acide ascorbique, molybdate d'ammonium, chlorure ferreux (FeCl_2), thiocyanate de potassium (KCN), 1,1- diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), de folin ciocalteu, acide gallique, carbonate de sodium (Na_2CO_3), tween 20, acide linoléique et 2,6 di-tert-butyl-4-methyl phénol (BHT) proviennent de fluka (France), chlorure d'aluminium (AlCl_3), quercétine, Les sels utilisés pour la préparation des tampons sont obtenus auprès de Panreac (Espagne). Les solvants sont de grade analytique et obtenus auprès de Sigma (Allemagne).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait acétonique

L'extrait acétonique d'*A. clavatus* a été préparé selon la méthode de ((Niemenak *et al.*, 2006)). La partie aérienne d'*A. clavatus* a été broyée puis agitée doucement dans un mélange acétone/eau (7 : 3, V/V), à un rapport de 10g/100 ml à température ambiante pendant 24 h. Le mélange est filtré et le filtrat est conservé à 4 °C tandis que le précipité est soumis à une deuxième macération avec un mélange d'acétone /eau (5 : 5 V/V). Les deux filtrats sont mélangés puis soumis à une évaporation de l'acétone sous pression réduite à 30 °C dans un rotavapeur (BÜCHI). La poudre brun foncé obtenue après séchage a été stockée à -32°C jusqu'à son utilisation.

II.2. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu phénolique total des extraits d'*Anacyclus clavatus* a été déterminé selon la méthode de (Delgado *et al.*, 2019)). Cette méthode est basée sur l'oxydation des phénols par le Folin Ciocalteu. Lors de l'oxydation des phénols, un mélange de molybdène (Mo_8O_{23}) et l'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) est produit. Brièvement, Un volume de 25 μl des solutions d'extrait

à différentes concentrations sont ajoutées à 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, 100 µl de carbonates de sodium (7,5%) sont additionnés. L'ensemble est incubé pendant 1h30 min dans l'obscurité à température ambiante avant de mesurer l'absorbance à 765 nm dans un lecteur de plaque. L'acide gallique (0-200 µg/ml) a été le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration en phénols totaux a été calculée. La teneur phénolique totale est exprimée en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (µg EAG/ mg d'extrait) (**figure 6**).

II.3. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été évalués à l'aide d'un test colorimétrique selon le protocole de (Makuasa et Ningsih, 2020). En effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La couleur jaune produite est directement proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait. Brièvement, 150 µl de la solution $AlCl_3$ (2 %) ont été ajoutés à l'extrait de différentes concentrations préparés dans 150 µl de méthanol, le mélange a été agité, puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min. L'absorbance est lue à 430 nm à l'aide d'un lecteur de plaque. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-20 µg/ml) et exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (**figure 7**).

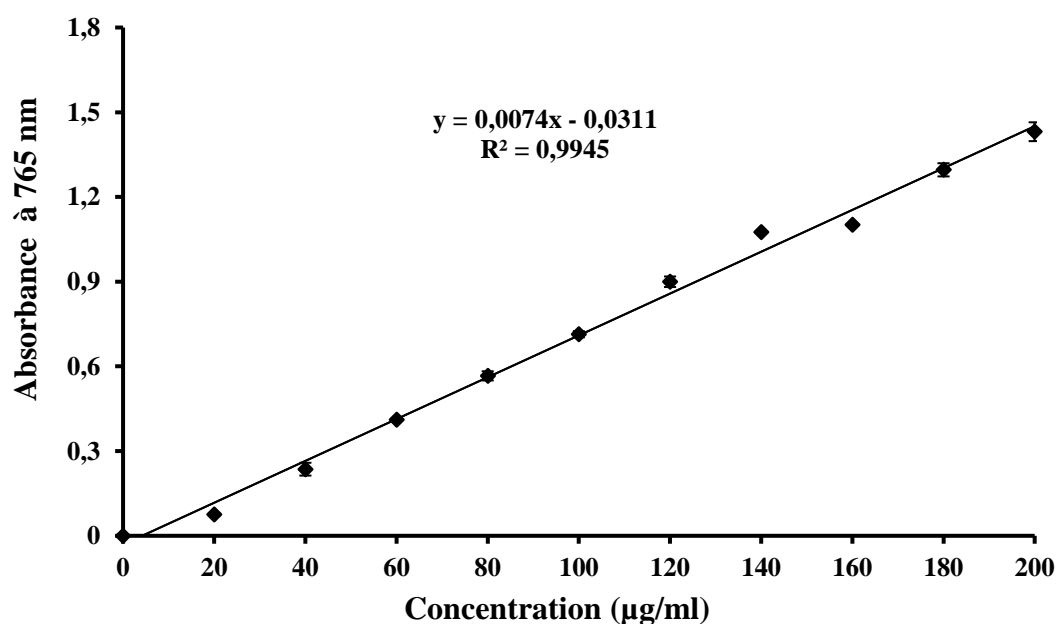


Figure 6. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

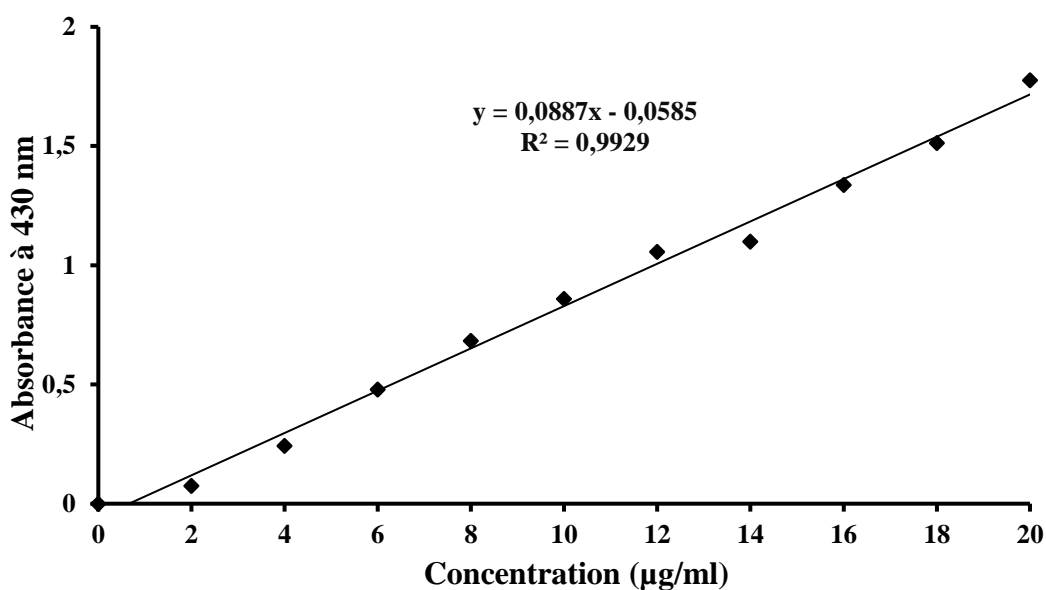


Figure 7. Droite d'étalonnage de la quercétine.

II.4. Activité antioxydante des extraits d'*Anacyclus clavatus*

II.4.1. Effet piègeur du radical libre DPPH^{*}

L'activité antiradicalaire d'extrait d'*Anacyclus clavatus* a été évaluée selon la méthode décrite par (Zbadi *et al.*, 2018), en utilisant le DPPH^{*} comme un radical libre stable. Dans ce test, l'antioxydant agit comme un donneur de protons pour réduire la diphényle picryl hydrazyle violette en diphényle picryl hydrazine jaune, et sa force est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante. Un volume de 150 µl de la solution de DPPH^{*} (0.1mM) est ajouté à 150 µl des solutions d'extrait ou standard (BHT) à différentes concentrations, le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min puis l'absorbance est lue à 517 nm en utilisant un lecteur de microplaque. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. L'activité antiradicalaire est déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : absorbance du contrôle.

A_T : Absorbance du test.

II.4.2. Peroxydation de l'acide linoléique

L'activité antioxydante totale de l'extrait est déterminée selon la méthode de thiocyanate ferrique décrite par (Cheurfa et Allem, 2016). Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique, qui génère des formations des peroxydes qui s'oxyde le Fe^{2+} en Fe^{3+} . Une émulsion d'acide linoléique est préparée en mélangeant 0,028 g d'acide linoléique, 0,028 g de Tween 20 et 10 ml de solution tampon phosphate (0,04 M, pH 7.0). Le milieu réactionnel contient 600 μ l de solutions d'extrait ou de l'antioxydant standard (BHT) à une concentration bien définie (50 μ g/ml) et 600 μ l de l'émulsion d'acide linoléique. Le contrôle contient tous les réactifs sauf l'échantillon à tester (extrait ou antioxydant standard) qui est remplacé par un volume égal de la solution tampon. Après agitation, le mélange est incubé à l'obscurité. La lecture est faite après 15 min d'incubation puis chaque 24 heures pendant 96 heures, en mélangeant 2ml d'éthanol, 40 μ l KCN, 40 μ l d'échantillon et 40 μ l de $FeCl_2$ et après 3 min, l'absorbance est lue à 500 nm contre un blanc d'éthanol. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de la peroxydation (\%)} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle.

A_T : Absorbance du test.

II.4.3. Capacité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate Mo^{6+} à molybdène (Mo^{5+}) en présence de l'extrait ou d'antioxydant (Yaici *et al.*, 2021). Cette réduction est obtenue par la formation de complexes verdâtre (phosphate/Mo (V) à un pH acide. L'augmentation de la couleur du complexe de molybdène (VI) a été mesurée en présence d'antioxydants. Un volume de 200 μ l des solutions d'extrait ou standard (acide ascorbique) est ajouté à 1800 μ l d'un réactif composé d'acide sulfurique (0.6 M), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes ont ensuite été incubés à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui est constitué de 200 μ l de d'eau distillée mélangé avec 1800 μ l du réactif. La capacité antioxydante totale est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide ascorbique (0 - 250 μ g/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide ascorbique (V_c) par milligramme d'extrait (μ g EVc / mg d'extrait) (**figure 8**).

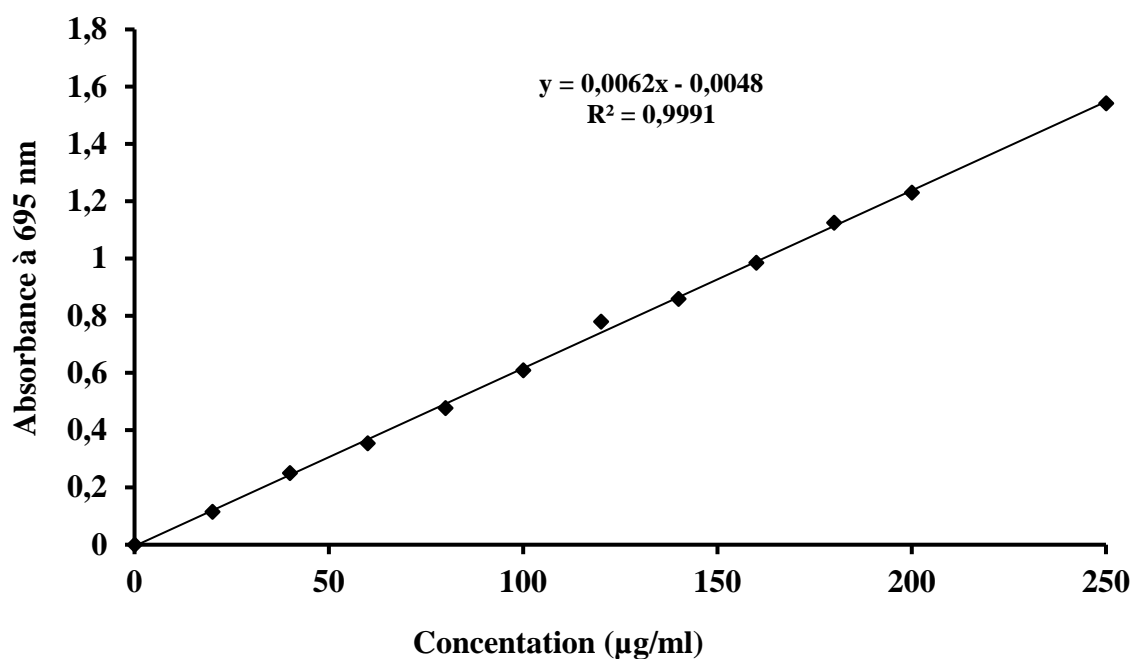


Figure 8. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique.

II.5. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés sous forme de moyenne \pm SD. Les IC_{50} sont calculées par la régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. La signification des différences entre le contrôle et les différents tests est déterminée par le test de STUDENT. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p \leq 0,05$).

RESULTAT

ET

DISCUSSION

RESULTAT ET DISCUSSION

I. Résultat

I.1. Préparation de l'extrait *Anacyclus clavatus*

L'extrait acétonique a obtenu l'aspect d'une poudre fine hygroscopique de couleur brun foncé. Le rendement de l'extraction acétonique est de 23,84%.

I.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait d'*Anacyclus clavatus* est déterminée en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats montrent que l'extrait acétonique est riche en polyphénols et en flavonoïdes (**tableau 2**).

Tableau 2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait d'*Anacyclus clavatus*.

Extrait	Polyphénols	Flavonoïdes
	($\mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$)	($\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$)
E. AC	$74,820 \pm 2,535$	$8,001 \pm 0,965$

I.3. Activité antioxydante d'extrait d'*Anacyclus clavatus*

I.3.1. Piégeur du radical DPPH'

Les résultats obtenus montrent que l'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* possède une activité antiradicalaire concentration dépendante (**figure 9**). En effet, à la concentration de 50 $\mu\text{g/ml}$, l'E. AC exerce une activité significative de piégeage du radical DPPH' avec un taux de 84.45 % alors qu'avec cette même concentration, le BHT en inhibe 41.91 %.

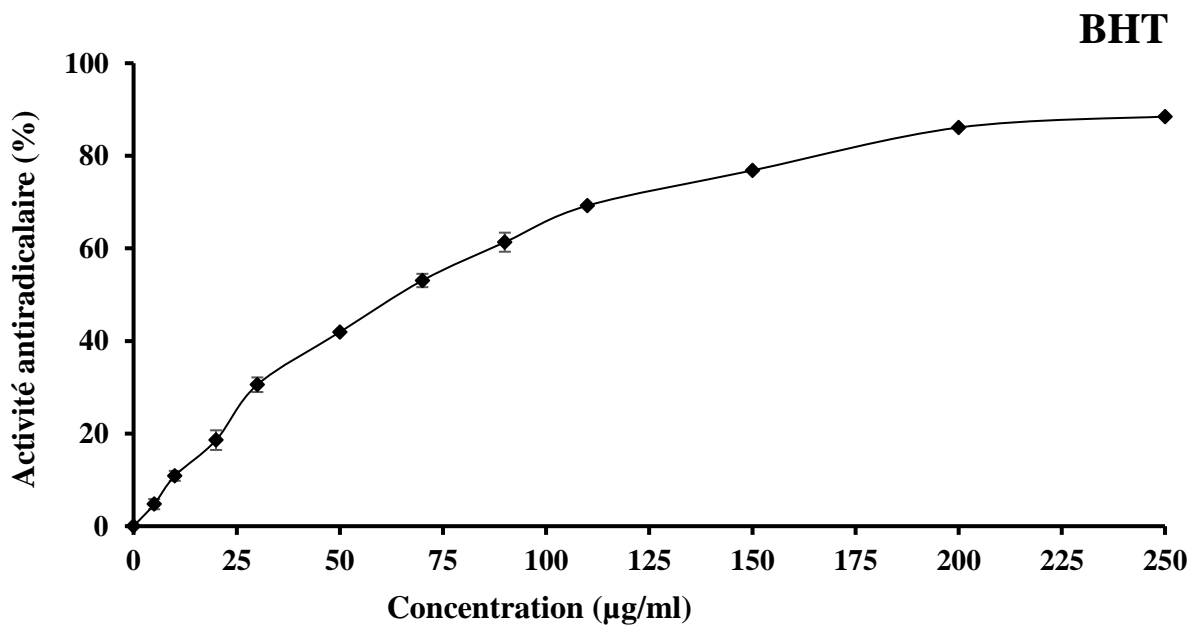
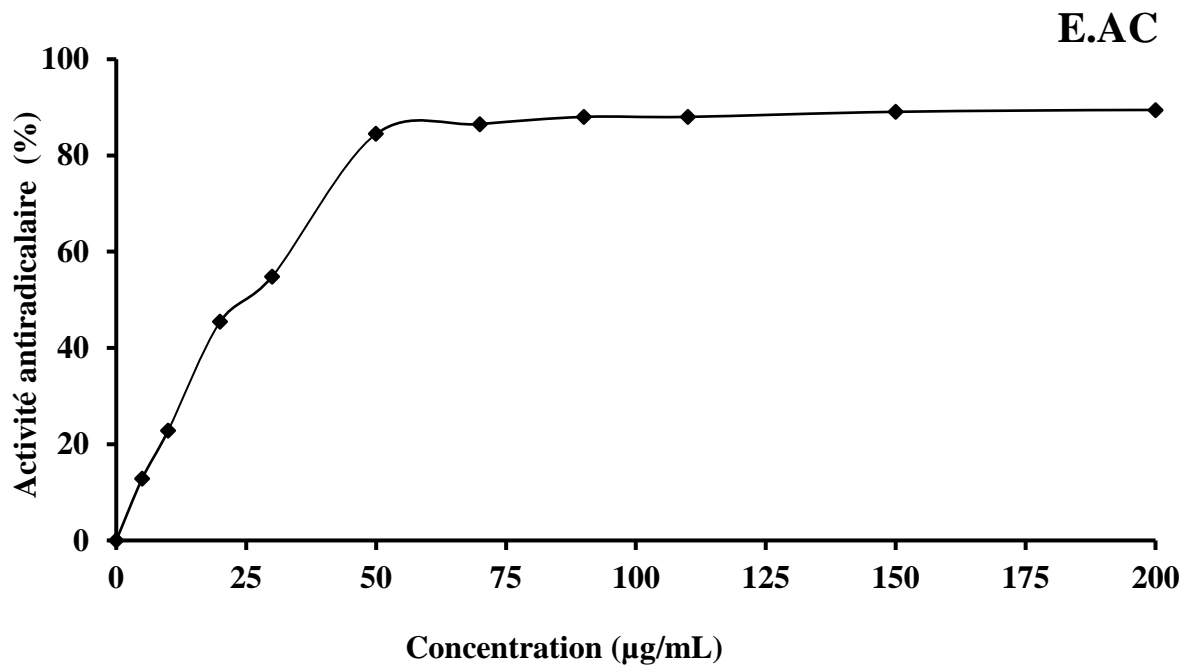


Figure 9. Activité antiradicalaire de l'extrait acétonique (E. AC) de la partie aérienne de l'*Anacyclus clavatus* et de l'antioxydant de référence (BHT) vis-à-vis du radical DPPH. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm SD.

Le **tableau 3** montre les concentrations inhibitrices à 50% (IC₅₀) de l'extrait acétonique et du BHT.

Tableau 3. Valeurs des IC₅₀, d'extrait d'*Anacyclus clavatus* et du BHT.

Extrait	IC ₅₀ (µg/ml)
E.AC	27,958 ± 2,636
BHT	67,769 ± 2,886

Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD.

I.3.2. Capacité antioxydante totale (TAC)

Les résultats montrent clairement que l'extrait acétonique possède une capacité antioxydante importante (**tableau 4**).

Tableau 4. Capacité antioxydante total d'extrait d'*Anacyclus clavatus*.

Extrait	E.AC
TAC (µg d'équivalent d'acide ascorbique / mg d'extrait)	257,069 ± 1,178

Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD.

I.3.3. Effet sur la peroxydation de l'acide linoléique

La (**figure 10**) montre la cinétique de la peroxydation de l'acide linoléique en présence et en absence d'extrait d'*Anacyclus clavatus* et du BHT. Les absorbances observées sont stables tout au long des 96 heures d'incubation, indiquant une forte activité antioxydante par rapport au contrôle négatif. Les résultats indiquent que l'extrait acétonique présente le taux d'inhibition le plus élevé (67%) suivi du BHT qui inhibe la peroxydation lipidique avec un taux de 37 % (**figure 10**).

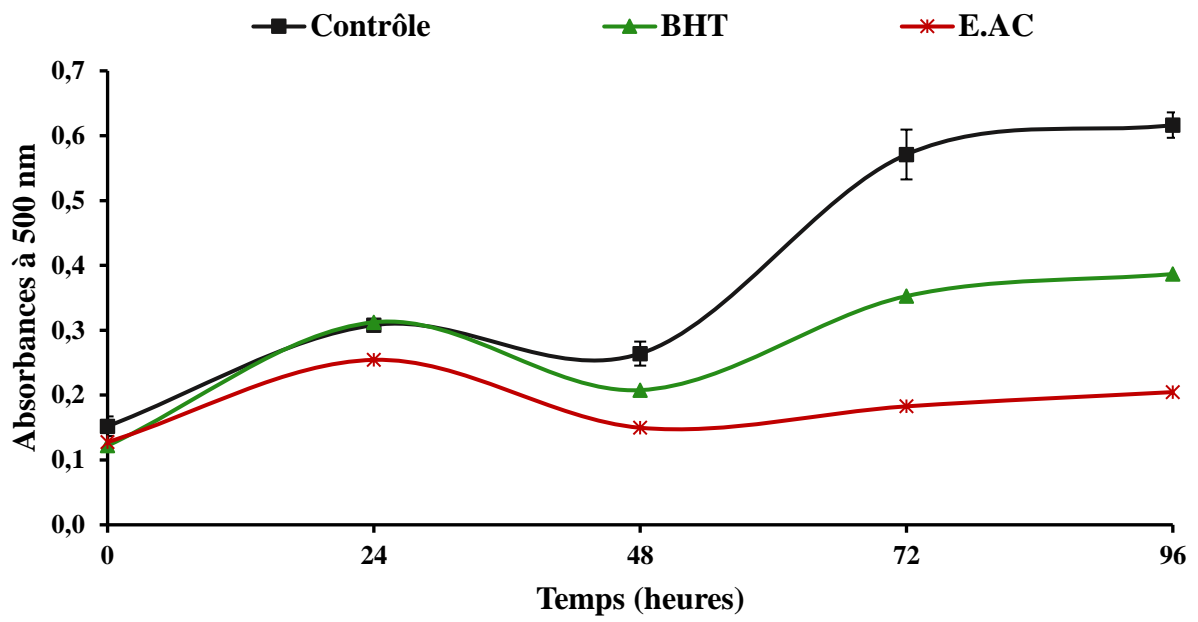


Figure 10. Cinétique de la peroxydation de l'acide linoléique en présence et en absence d'E.AC d'*Anacyclus clavatus* et du BHT. Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais \pm SD.

II. Discussion

Les humains exploitent les plantes depuis des siècles pour se nourrir, mais aussi pour se soigner. En effet, les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps. Cette discipline est connue sous le nom de phytothérapie, ce qui signifie guérir avec les plantes, et c'est un type de médecine basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques des molécules contenues dans les plantes. C'est pourquoi des études scientifiques se sont récemment concentrées sur un certain nombre de métabolites secondaires, dont font partie les composés phénoliques, contenant des substances très recherchées par les industries cosmétiques, pharmaceutiques et phytothérapeutiques (Bouderhem et Logab, 2020 ; Melouk, 2017). Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la détermination de la teneur en polyphénols et flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante d'*Anacyclus clavatus*.

II.1. Préparation et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La méthode d'extraction est l'étape principale de l'isolement des composés phénoliques du matériel végétal après la préparation de l'échantillon (Bui *et al.*, 2021). L'extraction des métabolites secondaires dépendant de la fonction de l'espèce végétale, de l'organe utilisé dans l'extraction, des conditions de séchage et l'abondance des métabolites de chaque espèce (Daoudi *et al.*, 2015). La plante utilisée pour l'extraction est séchée à l'ombre. Le but du séchage est d'obtenir un produit stable à l'air et sans risque de dégradation. Le séchage plante à l'ombre inhibe la fermentation bactérienne qui peut être une cause directe de cette dégradation, prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et protège la plante contre les radiations ultraviolettes (UV) de la lumière solaire et pour éviter la dégradation enzymatique de certains composants comme les flavonoïdes qui se dégradent facilement en cas d'un matériel frais ou non séché (Bourkhiss *et al.*, 2009).

L'utilisation de la plante sous forme de poudre rend l'extraction plus efficace, car l'échantillon devient plus homogène, avec une plus grande surface de contact avec le solvant et une pénétration plus facile dans les cellules (Khoddami *et al.*, 2013). Le rendement de l'extraction chimique dépendent de plusieurs paramètres tels que le type d'extraction, la nature du solvant utilisé, la stabilité des composés extraits, la température et la durée du processus d'extraction (Tanase *et al.*, 2019). La région et la période de récolte sont aussi des déterminants du rendement (Zhang *et al.*, 2018). L'utilisation de solvants organiques dans les opérations d'extraction par macération est généralement considérés comme des solvants efficaces pour l'extraction des composés phénoliques en raison de leurs polarités et de leurs capacité à dissoudre et à récupérer des quantités optimales de composants végétaux actifs (Sultana *et al.*, 2014). L'eau/ acétone

permet l'extraction d'une grande variété de composés comme les anthocyanines, l'amidon, les tanins, les saponines, les terpénoïdes, les polypeptides, les flavonoïdes et les lectines (Cowan, 1999) ainsi que les formes hétérosidiques des composés phénoliques (Hennebelle *et al.*, 2004; Jean, 2009).

L'étude quantitative d'extrait d'*A. clavatus* a été déterminé par dosage spectrophotométrique pour estimer la teneur en composés phénoliques. Le choix de quantifier les polyphénols dans différents composés phytochimiques était dû au fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes. Il en va de même pour les flavonoïdes considérés comme la classe la plus importante de polyphénols (Fadili *et al.*, 2017). Le dosage est réalisé par deux méthodes : Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium pour les polyphénols et les flavonoïdes, respectivement. Ces méthodes sont considérées comme les meilleures pour la détermination des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits de plantes en raison de leur simplicité et de leur reproductibilité (Khadhr *et al.*, 2017).

Nos résultats ont montré que l'extrait acétonique d'*A. clavatus* est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes. Cela peut être dû à la solubilité de ces composés dans l'acétone et l'eau. De plus la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupes hydroxyle, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonée du squelette de base (Mahmoudi *et al.*, 2013). Selon Djeridane *et al.* (2010), la partie aérienne de cette plante est riche en composés polyphénoliques, cette abondance est une caractéristique de la famille des Asteraceae. Selon Mahmoudi *et al.* (2013), une meilleure récupération de polyphénols et de flavonoïdes est obtenue avec l'acétone.

II.2. Activités antioxydantes

Le criblage de composés d'origine végétale pour leurs propriétés antioxydantes nécessite des méthodes appropriées qui traitent des mécanismes d'action de l'activité antioxydante (Gülçin, 2020). Compte tenu de la complexité du processus d'oxydation et de la diversité des antioxydants, des méthodes *in vitro* (test piègeur du radical libre DPPH[•], test de l'inhibition de la peroxydation lipidique et test de TAC) ont été réalisées pour évaluer l'effet antioxydant des extraits acétonique d'*A. clavatus*.

II.2.1. Piégeur du radical libre DPPH[•]

L'activité anti-radicalaire est très importante du au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques (Gülçin *et al.*, 2010). La méthode de DPPH a été utilisée par de nombreux auteurs pour étudier les extraits végétaux et alimentaires. Cette

méthode est rapide et peu coûteuse (Gouveia et Castilho, 2012). L'extrait acétonique a montré une forte activité antiradicalaire avec une IC_{50} très faible. La comparaison de cette valeur avec celle de l'antioxydant standard, montrent que l'extrait acétonique est plus actif que le BHT. Cette activité est dû à la richesse de l'extrait acétonique en composés phénoliques. Ces derniers peuvent être responsables de cette activité et ont la capacité à céder un proton pour réduire le DPPH^{*} (Sokół-Łętowska *et al.*, 2007).

Aliboudhar *et al.*, (2013) ont rapporté que l'extrait acétonique d'*A. clavatus* possède une capacité de piéger le radical DPPH^{*}. En outre, dans la bibliographie, plusieurs études ont été réalisées sur l'activité antioxydante de différents extraits organiques du genre *Anacyclus*. Les travaux de Soumia *et al.* (2014), Aliboudhar et Tigrin-Kordjani, (2014) ont successivement rapporté que les extraits hydrométhanoliques et méthanoliques des parties aériennes d'*A. clavatus* d'Algérie exercent un puissant effet anti-radicalaire. De même, les extraits méthanoliques et aqueux des parties aériennes d'*A. pyrethrum* d'Algérie ont une forte capacité à piéger les radicaux libres (Selles *et al.*, 2012).

D'autres chercheurs, notamment Falleh *et al.* (2008) ont montré qu'il existe une corrélation très significative entre la teneur en polyphénols (polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés) et l'activité scavenger des radicaux DPPH^{*} de l'extrait méthanolique *Cynara cardunculus*, une plante de la famille des Astéracées. Bakli *et al.* (2018) ont rapporté aussi la présence des flavonoïdes et des flavonols contribuent significativement à l'activité antioxydante de l'extrait acétonique d'*Artemisia campestris* appartenant à la famille des Astéracées.

II.2.2. Activité inhibitrice de la peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides réduit la qualité et la valeur nutritionnelle des aliments. De plus, il est également associé au vieillissement, à la dégénérescence des membranes et aux maladies cardiaques. En particulier la peroxydation des lipides membranaires, conduisant à l'accumulation de peroxydes lipidiques (Gülçin *et al.*, 2010). Plusieurs études ont montré que les antioxydants inhibent les composés organiques volatils et les hydroperoxydes de diènes conjugués produits par l'oxydation de l'acide linoléique. Ainsi, ils protègent les cellules de l'oxydation des composants lipidiques des membranes cellulaires. Les hydroperoxydes formés par l'acide linoléique sont neutralisés par les antioxydants présents dans les extraits de plantes (Ceylan *et al.*, 2015). Au cours de la peroxydation lipidique, les antioxydants fonctionnent de différentes manières, à savoir en piégeant les radicaux libres, en décomposant les peroxydes et en chélatant les ions métalliques. Souvent, plus d'un mécanisme est impliqué pour produire un effet synergique (Moure *et al.*, 2001).

L'activité antioxydante de l'extrait a été mesurée en fonction du taux de l'inhibition de peroxydation de l'acide linoléique. Les résultats obtenus montrent que l'extrait acétonique d'*A. clavatus* possède une excellente activité inhibitrice de la peroxydation lipidique comparable à celle du BHT utilisé comme antioxydant de référence. Cette capacité à modifier la peroxydation lipidique est liée non seulement aux caractéristiques structurales des agents antioxydants, mais également à leur capacité à interagir avec la bicouche lipidique et à la pénétrer (Salcedo *et al.*, 2014). Auparavant, il a été démontré que la structure et la lipophilie des polyphénols sont des facteurs déterminants des propriétés antioxydantes de ces composés dans la couche de la membrane (Djeridane *et al.*, 2010).

Plusieurs travaux ont été réalisées sur la peroxydation lipidique de différents extraits organiques du genre *Anacyclus* comme les études de Rani *et al.* (2013) et Manouze *et al.* (2017) ont rapporté que les extraits éthanoliques et hydrométhanoliques d'*A. pyrethrum* ont la capacité d'inhiber la peroxydation lipidique. Une autre étude montre que l'extrait méthanolique et aqueux d'*Anacyclus clavatus* étaient également capables de réduire la peroxydation de l'acide linoléique (Bajpai *et al.*, 2014).

II.2.3. Capacité antioxydante totale

La méthode au phosphomolybdate est une méthode couramment utilisée, simple, rapide et indépendante pour évaluer la capacité antioxydante totale (Dutta *et al.*, 2012). L'analyse quantitative des composés phénoliques dans l'extrait acétonique d'*A. clavatus* a démontré la présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins et anthocyanes (Hennebelle *et al.*, 2004). Par conséquent, nos résultats montrent que l'E.AC d'*A. clavatus* contient des composés phénoliques et des flavonoïdes qui sont responsables à la capacité antioxydante. Ces composés phénoliques et flavonoïdes agissent comme des donneurs d'hydrogène ou d'électrons pour stabiliser les électrons non appariés des radicaux libres, mettre fin à la réaction de Fenton et prévenir les dommages oxydatifs (Shaban *et al.*, 2013). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par Aliboudhar et Tigrine-Kordjani, (2014) qui ont montré que l'extrait acétonique d'*A. clavatus* possédait une capacité antioxydante importante. De même, Bakli *et al.* (2018) ont rapporté que l'extrait acétonique d'*Artemisia campestris* appartenant à la famille des Astéracées possède une capacité antioxydante totale. Bakour *et al.* (2020), ont rapporté que la présence des flavones et flavonols contribuent significativement à la capacité antioxydante d'extraits éthanoliques d'*Anacyclus radiatus*. De plus, les extraits méthanoliques et aqueux des parties aériennes de *Cynara scolymus* L. (Astéracées) riches en polyphénols, flavonoïdes et tanins exercent une excellente capacité antioxydante totale (Ulewicz-Magulska et Wesolowski, 2019).

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les estimations quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes contenus dans l'extrait acétonique par la méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement, ont montré la présence d'une quantité significative de ces composés dans l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus*.

Cet extrait possède une importante activité antioxydante *in vitro*. L'extrait étudié a exercé une forte inhibition du radical DPPH, un excellent effet inhibiteur de la peroxydation lipidique et une puissante capacité antioxydante totale.

Les résultats de cette étude antioxydante de l'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* sont très intéressants, mais d'autres études approfondies sont nécessaires pour mieux se focaliser sur les effets révélés. Ces études doivent se concentrer sur l'isolement de composés bioactifs à partir d'extraits, puis sur l'évaluation des effets de ces composés sur les enzymes et les systèmes antioxydants impliqués dans la production des espèces réactives oxygénés (ROS).

**REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES

- Aliboudhar, H., & Tigrine-Kordjani, N. (2014). Effect of extraction technique on the content and antioxidant activity of crude extract of *Anacyclus clavatus* flowers and their essential oil composition. *Natural Product Research*, 28(23), 2140-2149.
- Aliboudhar, H., Tigrine-Kordjani, N., Hanifi, N., & Meklati, B. Y. (2013). Volatiles profiling and antioxidant activity evaluation of different parts of a medicinal plant: *Anacyclus clavatus*. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 19(1), 33-47.
- Amel, S., Loukidi, B., & Reda, B. (2020). Effects of vitamin C and E against oxidative stress: Is Antioxidant supplementation Efficient. *Curr. Neutraceuticals*, 1, 33-41.
- Andrisic, L., Dudzik, D., Barbas, C., Milkovic, L., Grune, T., & Zarkovic, N. (2018). Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. *Redox biology*, 14, 47-58.
- Bajpai, V. K., Sharma, A., Kang, S. C., & Baek, K.-H. (2014). Antioxidant, lipid peroxidation inhibition and free radical scavenging efficacy of a diterpenoid compound sugiol isolated from *Metasequoia glyptostroboides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1), 9-15.
- Bakli, R., Nouadri, H., & Malki, S. (2018). Evaluation de l'activité biologique d'*Artemisia Campestris* L. *in vitro* (Asteraceae).
- Bakour, M., Campos, M. d. G., Imtara, H., & Lyoussi, B. (2020). Antioxidant content and identification of phenolic/flavonoid compounds in the pollen of fourteen plants using HPLC-DAD. *Journal of Apicultural Research*, 59(1), 35-41.
- Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.
- Ben Mammam, L., & Lamara Mahammed, L. (2018). *Effet bioinsecticide des extraits végétaux de la lavande (Lavandula stoechas), lanacycle en massue (Anacyclus clavatus) et du genêt à balai (Genista scoparia) à légard du puceron noir de la fève Aphis fabae (Homoptera, Aphididae)* Université Mouloud Mammeri].
- Benítez, G., González-Tejero, M., & Molero-Mesa, J. (2010). Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(1), 87-105.
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2), 329-354.
- BOUDERHEM, K., & LOGAB, S. (2020). Contribution à l'étude phytochimique de la vigne cultivée dans les oasis.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*(9), 14.
- Boukerreche, A., & Zellagui, A. (2019). Valorisation des substances bioactives d'origine végétale à activités pharmacologiques à partir des espèces.

- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., & Satrani, B. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions*, 20(1), 44-48.
- Bui, N. T., Pham, T.-L. T., Nguyen, K. T., Le, P. H., & Kim, K.-H. (2021). Effect of extraction solvent on total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity of *Avicennia officinalis*. *Res. Appl. Chem*, 12, 2678-2690.
- Ceylan, Y., Usta, K., Usta, A., Maltas, E., & Yildiz, S. (2015). Evaluation of antioxidant activity, phytochemicals and ESR analysis of *Lavandula stoechas*. *Acta Physica Polonica A*, 128(2B).
- Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie *in vitro*. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.
- Consortium, L. F.-N. (2005). Understanding local Mediterranean diets: a multidisciplinary pharmacological and ethnobotanical approach. *Pharmacological Research*, 52(4), 353-366.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cronquist, A., & Takhtadzhian, A. L. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia university press.
- Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8094-8104.
- Delattre, J., Beaudoux, J.-L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques*. Editions Tec & Doc.
- Delgado, A. M., Issaoui, M., & Chammem, N. (2019). Analysis of main and healthy phenolic compounds in foods. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1356-1364.
- Dias, J. S. (2019). Nutritional quality and effect on disease prevention of vegetables. In *Nutrition in health and disease-our challenges now and forthcoming time*. IntechOpen.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., & Stocker, P. (2010). RETRACTED: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. In: Elsevier.
- Duan, X., Wen, Z., Shen, H., Shen, M., & Chen, G. (2016). Intracerebral hemorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Duncan, K. R., & Suzuki, Y. J. (2017). Vitamin E nicotinate. *Antioxidants*, 6(1), 20.
- Durand, G., & Beaudoux, J.-L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*. Lavoisier.
- Dutta, A. K., Gope, P. S., Banik, S., Makhnoon, S., Siddiquee, M. A., & Kabir, Y. (2012). Antioxidant properties of ten high yielding rice varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S99-S103.
- Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S., & Zair, T. (2017). Etude phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa* L. Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L.

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*, 331(5), 372-379.
- Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108, 115.
- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & function*, 10(2), 514-528.
- Ghouthi Mohamed, H. H. (2019). Simulation du pouvoir antioxydant de deux anticancéreux de la famille des antimétabolites.
- Goto, S., & Radak, Z. (2013). Implications of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *Journal of Sport and Health Science*, 2(2), 75-80.
- Gouveia, S. C., & Castilho, P. C. (2012). Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, Madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements. *Food research international*, 48(2), 712-724.
- Greger, H. (1978). Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*. *Biochemical systematics and ecology*, 6(1), 11-17.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H. Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian journal of chemistry*, 3(1), 43-53.
- Gutowski, M., & Kowalczyk, S. (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica*, 60(1).
- Hahn, H. J., Kim, K. B., An, I. S., Ahn, K. J., & Han, H. J. (2017). Protective effects of rosmarinic acid against hydrogen peroxide-induced cellular senescence and the inflammatory response in normal human dermal fibroblasts. *Molecular medicine reports*, 16(6), 9763-9769.
- Hammami, S., Ben Salem, A., Mastouri, M., Falconieri, D., Gorcii, M., M'henni, M. F., Marongiu, B., & Mighri, Z. (2013). Essential oil composition and antimicrobial activities of aerial parts from Tunisian *Anacyclus clavatus* (Desf.). *J. Med. Plants Res*, 7(2), 71-75.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Plant polyphenols, sources, uses and potential in the fight against oxidative stress. *Phytothérapie*, 2, 3-6.
- Ighodaro, O., & Akinloye, O. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- Julien, A. (1894). *Flore de la région de Constantine: comprenant la description succincte des caractères botaniques des plantes de la contrée, de leurs propriétés et leurs usages chez les Européens et chez les indigènes*. Marle.
- Kalam, S., Gul, M. Z., Singh, R., & Ankati, S. (2015). Free radicals: Implications in etiology of chronic diseases and their amelioration through nutraceuticals. *Pharmacologia*, 6(1), 11-20.

- Khadhr, M., Bousta, D., El-Hajaji, H., Lachkar, M., Barkai, H., Ibsouda Koraichi, S., & Boukhchina, S. (2017). Phytochemical screening, total phenolics and biological activities of Tunisian *Peganum harmala* seed extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(2), 32-39.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- Krumova, K., & Cosa, G. (2016). Overview of reactive oxygen species.
- Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., & Samuel, J. (2008). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*(9), 35.
- Makuasa, D. A. A., & Ningsih, P. (2020). The analysis of total flavonoid levels in young leaves and old soursop leaves (*Annona muricata* L.) using uv-vis sepctrofotometry methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1), 11-17.
- Manouze, H., Bouchatta, O., Gadhi, A. C., Bennis, M., Sokar, Z., & Ba-M'hamed, S. (2017). Anti-inflammatory, antinociceptive, and antioxidant activities of methanol and aqueous extracts of *Anacyclus pyrethrum* roots. *Frontiers in pharmacology*, 8, 598.
- Mao, X., Gu, C., Chen, D., Yu, B., & He, J. (2017). Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols. *Oncotarget*, 8(46), 81649.
- Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De Oliveira, A. R. S. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24.
- Matschke, V., Theiss, C., & Matschke, J. (2019). Oxidative stress: The lowest common denominator of multiple diseases. *Neural regeneration research*, 14(2), 238.
- Mehta, S. K., & Gowder, S. J. T. (2015). Members of antioxidant machinery and their functions. *Basic principles and clinical significance of oxidative stress*, 11, 59-85.
- Melouk, F. Z. (2017). Activité Antimicrobienne des Extraits des Feuilles de la Vigne Sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*). *Algerian Journal of Natural Products*, 4(3), 358-366.
- Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., & Th ron, P. (2008). Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects. *Annales de biologie clinique*,
- Misra, K., Dhillon, G. S., Brar, S. K., & Verma, M. (2014). Antioxidants. *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals*, 117-138.
- Moon, J.-K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., N n ez, M. a. J., & Paraj , J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.
- Narayanankutty, A., Job, J. T., & Narayanankutty, V. (2019). Glutathione, an antioxidant tripeptide: dual roles in carcinogenesis and chemoprevention. *Current Protein and Peptide Science*, 20(9), 907-917.
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D. O., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 612-619.

- Niki, E. (2018). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 564.
- Pardo-de-Santayana, M., Pieroni, A., & Puri, R. K. (2022). *Ethnobotany in the new Europe: people, health and wild plant resources*. Berghahn Books.
- Peña-Bautista, C., Baquero, M., Vento, M., & Cháfer-Pericás, C. (2019). Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clinica Chimica Acta*, 491, 85-90.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C. J., & Valko, M. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in pharmacological sciences*, 38(7), 592-607.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.
- Rani, S., Kaushik, V., Saini, V., Nain, P., & Rani, D. (2013). Biological studies of *Anacyclus pyrethrum*. *Am J Pharm Res.*, 3(6).
- Rimbau, V., Cerdan, C., Vila, R., & Iglesias, J. (1999). Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North-African countries (II). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(2), 128-132.
- Sáez, G., & Están-Capell, N. (2014). Antioxidant enzymes. *Encyclopaedia of Cancer; Schwab, M., Ed.; Springer: Berlin, Germany*.
- Salcedo, C. L., Frías, M., Cutró, A. C., Nazareno, M. A., & Disalvo, E. A. (2014). Antiradical activity of gallic acid included in lipid interphases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1838(10), 2656-2661.
- Scheibmeir, H. D., Christensen, K., Whitaker, S. H., Jegaethesan, J., Clancy, R., & Pierce, J. D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21(1), 24-28.
- Selles, C., Dib, M. E. A., Allali, H., & Tabti, B. (2012). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of *Anacyclus pyrethrum* L., from Algeria. *Mediterranean journal of chemistry*, 2(2), 408-415.
- Serino, A., & Salazar, G. (2018). Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrients*, 11(1), 53.
- Shaban, N. Z., El-Kersh, M. A., El-Rashidy, F. H., & Habashy, N. H. (2013). Protective role of *Punica granatum* (pomegranate) peel and seed oil extracts on diethylnitrosamine and phenobarbital-induced hepatic injury in male rats. *Food chemistry*, 141(3), 1587-1596.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(8), 1583.
- Sokół-Łętowska, A., Oszmiański, J., & Wojdyło, A. (2007). Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103(3), 853-859.
- Soumia, K., Tahar, D., Lynda, L., Saida, B., Chabane, C., & Hafidha, M. (2014). Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(6), 478-483.

- Sultana, B., Anwar, F., Mushtaq, M., Aslam, M., & Ijaz, S. (2014). *In vitro* antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum* L.) seed extracts. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(4).
- Sylvestre, M., Pichette, A., Longtin, A., Nagau, F., & Legault, J. (2006). Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 99-102.
- Tanase, C., Coșarcă, S., & Muntean, D.-L. (2019). A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*, 24(6), 1182.
- Tardío, J., Pardo-de-Santayana, M., & Morales, R. (2006). Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. *Botanical journal of the Linnean society*, 152(1), 27-71.
- Tu, W., Wang, H., Li, S., Liu, Q., & Sha, H. (2019). The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging and disease*, 10(3), 637.
- Tuo, K. (2015). *Criblage phytochimique, activite antioxydante et antiplasmodiale in vitro de cinq plantes utilisees traditionnellement en côte d'ivoire contre le paludisme* Université Félix Houphouet-Boigny de Cocody, Abidjan].
- Ulewicz-Magulska, B., & Wesolowski, M. (2019). Total phenolic contents and antioxidant potential of herbs used for medical and culinary purposes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74, 61-67.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Wardman, P., & Candeias, L. P. (1996). Fenton chemistry: an introduction. *Radiation research*, 145(5), 523-531.
- Wolin, M. S. (2009). Reactive oxygen species and the control of vascular function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 296(3), H539-H549.
- Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2021). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L.(Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*, 19(4), 226-234.
- Yoshikawa, T., Yamamoto, Y., & Naito, Y. (2000). Free radicals in chemistry, Biology and Medicine, Ed. Oica International. In: Londres.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.
- Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13, 1-26.

تهدف هذه الدراسة الى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الأسييتوني للجزء الهوائي لنبته *Anacyclus clavatus*. تم تقدير المحتوى الكمي للمركبات متعددة الفينول والفلافونويدات للمستخلص باستعمال طريقة Ciocalteu-Folin و $AlCl_3$ ، على الترتيب. فبينت النتائج أن المستخلص الأسييتوني غني بهذه المركبات وقدر ذلك بـ $74,820 \pm 2,535$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ مستخلص و $8,001 \pm 0,965$ ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/مغ مستخلص. تم تقييم القدرة المضاد للأكسدة باستعمال كل من اختبار جذر DPPH، TAC، وأكسدة حمض اللينوليك. أظهرت النتائج ان المستخلص الأسييتوني يمتلك نشاطية إزاحية جد عالية لجذر DPPH بقيمة IC_{50} تقدر بـ $27,958 \pm 2,636$ ميكروغرام/مل. كما ان للمستخلص قدرة كبيرة لمضادات الأكسدة تقدر بـ $257,069 \pm 1,178$ ميكروغرام من حمض الأسكوربيك/مغ من مستخلص الأسييتوني. اضافة على ذلك يملك المستخلص قدرة معتبرة لتثبيط أكسدة حمض اللينوليك بقيمة 67%. من خلال النتائج المتحصل عليها يمكن استخلاص أن نبات *Anacyclus clavatus* يمتاز بخصائص مضادة للأكسدة والتي يمكن استعمالها في الصناعات الغذائية والدوائية.

الكلمات المفتاحية: *Anacyclus clavatus*، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، مستخلص أسييتوني.

Abstract

The present study aims to evaluate the antioxidant activity of acetonic extract (AC. E) of *Anacyclus clavatus*. Total polyphenols and flavonoids contents were determined using the Folin Ciocalteu reagent and aluminum trichloride, respectively. The results showed that the AC. E is riche in polyphenols and flavonoids with values of $74,820 \pm 2,535$ μ g GAE/mg of extract and $8,001 \pm 0,965$ μ g QE/mg of extract. The antioxidant activity of the extract was evaluated using DPPH radical, total antioxidant capacity, and linoleic acid peroxidation tests. The results showed that the AC. E possesses strong scavenging activity against DPPH radicals with IC_{50} value of $27,958 \pm 2,636$ μ g/mL. Moreover, the extract has an important antioxidant capacity of $257,069 \pm 1,178$ μ g equivalent of ascorbic acid/mg of the AC. E. Besides, the extract inhibited the peroxidation of the linoleic acid by 67%. Taken together, we can conclude that acetonic extract of aerial parts of *Anacyclus clavatus* exhibit antioxidant activity that can be exploited in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Anacyclus clavatus*, Oxidative stress, Antioxidant, acetonic extract.

Résumé

La présente étude vise à évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait acétonique (E.AC) d'*Anacyclus clavatus*. Les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées à l'aide du réactif de Folin Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium, respectivement. Les résultats ont montré que l'E.AC est riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de $74,820 \pm 2,535$ μ g GAE/mg d'extrait et $8,001 \pm 0,965$ μ g QE/mg d'extrait. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide de tests du radical DPPH, de la capacité antioxydante totale et de peroxydation de l'acide linoléique. Les résultats ont montré que l'E.AC possède une forte activité de piégeage contre les radicaux DPPH avec une valeur IC_{50} de $27,958 \pm 2,636$ μ g/mL. De plus, l'extrait a une capacité antioxydante importante de $257,069 \pm 1,178$ μ g d'équivalent d'acide ascorbique/mg d'E.AC. En outre, l'extrait a inhibé la peroxydation de l'acide linoléique de 67%. Dans l'ensemble, nous pouvons conclure que l'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* présente un pouvoir antioxydant qui peut être exploité dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés : *Anacyclus clavatus*, Stress oxydatif, Antioxydant, Polyphénols, extrait acétonique.