الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

University of Ferhat Abbas – Setif 1

Faculty of Natural and Life

جامعة فرحات عباس سطيف 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة

DERARTEMENT OF BIOCHIMISTRY

N°……/SNV/2026

THESIS

Presented by

Ben Maiza Selma

Bennia Aya

For the fulfillment of the requirements for the degree of

Master

Field: Biological Sciences

Special field: Applied Biochemistry

TOPIC

Anti-oxidant activity of globe artichoke (*Cynara scolymus*)

Presented in 24/06/2026

JURY:

Chair:	**Kada Seoussen**	**MCB. UFA Setif 1**
Supervisor:	**Bouriche Hammama**	**PR. UFA Setif 1**
Examiner:	**Kernouf Nassima**	**MCB. UFA Setif 1**

Laboratory of Applied Bichemistry

ملخص

Cynara scolymus نبتة غنية بالمركبات الكيميائية النشطة حيويًا، والتي حظيت باهتمامً علميًا كبيرًا لدورها في الوقاية من الأمراض. في هذه الدراسة، تم الحصول على المستخلصات المائية (Aq.E) والإيثانولية (Et.E) من قشورنبات *Cynar scolymus* ثم تم تحديد المحتوى الكلي من البوليفينولات والفلافونويدات باستخدام فولين-سيوكالتي وكلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج أن المستخلص Et.E يحتوي على بوليفينولات أكثر (27,82 ± 1,0 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص الجاف) مقارنة بالمستخلص Aq.E (13,28 ± 0,83 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص الجاف). وبالمثل، يحتوي المستخلص Et.E على محتوى أعلى من الفلافونويدات (2,34 ميكروغرام EQ/ملغ من المستخلص الجاف) مقارنة بالمستخلص Aq.E (1,37 ميكروغرام EQ/ملغ من المستخلص الجاف). من ناحية أخرى، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبارات إزاحة •DPPH و H_2O_2، واختبار القدرة الاختزالية، واختبار تحلل كريات الدم الحمراء المحفز ب AAPH. أظهرت النتائج أن كلا المستخلصين Et.E و Aq.E يمتلكان تأثيراً قوياً في إزاحة •DPPH. بالفعل، عند تركيز 500 ميكروغرام/مل، أظهر Et.E و Aq.E تأثير إزاحي بنسبة 91.48% و 67.53% على التوالي. عند تركيز 400 ميكروغرام/مل، مارسا كل من Et.E و Aq.E تأثيرا إزاحيا ضعيفا ضد H_2O_2 بنسبة 56.50% و 30% على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص Et.E قدرة اختزالية أعلى بكثير، بتركيز فعال CE50 يبلغ 154.11 ± 3.55 ميكروغرام/مل، مقارنة ب Aq.E الذي كان CE50 = 423.52 ± 1.02 ميكروغرام/مل. علاوة على ذلك، كلا المستخلصين أظهرا تأثيرًا وقائيًا ضد انحلال كريات الدم الحمراء. فعلا، عند تركيز 25 ميكروغرام/مل، حافظ كل من Et.E و Aq.E على حماية كريات الدم الحمراء من الانحلال طوال مدة التجربة، مع قيمة HT50 مرتفعة (حوالي 180 دقيقة) مقارنةً بالشاهد. كان هذا التأثير الوقائي أعلى من ذلك الذي تم الحصول عليه باستخدام حمض الأسكوربيك كمرجع. ومع ذلك، عند أعلى تركيز (50 ميكروغرام/مل)، حافظ Et.E على تأثيره الوقائي الأقصى، بينما انخفض نشاط Aq.E قليلاً. وعلى الرغم من هذا الانخفاض، فإن التأثير ظل مهمًا. في الختام، تُظهر قشور نبات *Cynara scolymus* خصائص مضادة للأكسدة جيدة، وقد يرجع ذلك لوجود البوليفينولات والفلافونويدات بالنبتة. وبالتالي، يمكن اعتبار بقايا الشوكي الأرضي مصدرًا واعدًا لمضادات الأكسدة الطبيعية، واستخدامها كمكملات غذائية ومواد حافظة.

الكلمات المفتاحية: مضاد أكسدة، بقايا الشوكي الأرضي, *Cynara scolymus*، الشوكي الأرضي, الفلافونويدات، الإجهاد التأكسدي، عديد الفينولات.

Abstract

Cynara scolymus is rich in phytochemicals and bioactive compounds, that have attracted considerable scientific attention for their roles in disease prevention and health. In the present study, the aqueous (Aq.E) and ethanolic (Et.E) extracts of Cynara scolymus are obtained. The total contents of polyphenols and flavonoids were quantified using Folin-Ciocalteu and aluminum chloride (AlCl3) methods, respectively. Results showed that Et.E contains more polyphenols (27.82 ± 1.0 µg GAE/mg of dried extract) than Aq.E (13.28 ± 0.83 µg GAE/mg of dried extract). Similarly, the Et.E yielded higher flavonoid content (2.34 µg QE/mg of dried extract) than the Aq.E (1.37 µg QE/mg of dried extract). The antioxidant activity was evaluated, using the DPPH, H2O2 radical scavenging assays, the reducing power assay, and the AAPH-induced hemolysis assays. Results showed that both Et.E and Aq.E exerted a potent DPPH• scavenging effect. Indeed at 500 µg/mL, Et.E and Aq.E demonstrated 91.48% and 67.53% of DPPH• scavenging effect. At 400 µg/mL, both Et.E and Aq.E exerted a moderate scavenging effect against H2O2, with 56.50% and 30%, respectively. On other hand, the Et.E demonstrated a significant high reducing capacity with an effective concentration (EC50) = 154.11 ± 3.55 µg/mL compared to the Aq.E, which showed an EC50 = 423.52 ± 1.02 µg/mL. Furthermore, both extracts exerteda protective effect against AAPH-induced erythrocyte hemolysis. Indeed at 25 µg/mL, both Et.E and Aq.E protected erythrocyte hemolysis during all the time of experience, with high HT50 value (approximately 180 minutes), compared to the control. This protective effect was better than that obtained with ascorbic acid, used as standard. However at the highest concentration (50 µg/mL), Et.E maintained its maximum protective effect, while the activity of Aq.E decreases slightly. Despite this decrease the effect still significant. Taken to gather, Cynara scolymus bracts exhibits a good antioxidant effects, which may be due to the presence polyphenols and flavonoids. So, the globe artichoke by-products can be considered as promising source for natural antioxidants and it can recommend their use as food supplements and preservative agents.

Keywords: Antioxidant, by-products, *Cynara scolymus*, globe artichoke, flavonoids, oxidative stress, polyphenols.

Résumé

Cynara scolymus est riche en composés phytochimiques bioactifs, qui ont suscité un intérêt scientifique considérable pour leur rôle dans la prévention des maladies. Dans la présente étude, les extraits aqueux (Aq.E) et éthanoliques (Et.E) de bractées *de Cynara scolymus* ont été obtenus. Les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes ont été déterminés par les méthodes de Folin-Ciocalteu et chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), respectivement. Les résultats ont montré que l'extrait Et.E contient plus de polyphénols (27,82 ± 1,0 µg EAG/mg d'extrait sec) que l'extrait Aq.E (13,28 ± 0,83 µg EAG/mg d'extrait sec). De même, l'extrait Et.E présente une teneur en flavonoïdes plus élevée (2,34 µg EQ/mg d'extrait sec) que l'extrait Aq.E (1,37 µg EQ/mg d'extrait sec). D'autre part, l'activité antioxydante a été évaluée par les tests de piégeage des radicaux DPPH et H_2O_2, le test du pouvoir réducteur et le test d'hémolyse induite par l'AAPH. Les résultats ont montré que les extraits Et.E et Aq.E exerçent tous les deux un puissant effet de piégeage du DPPH•. En effet, à 500 µg/mL, Et.E et Aq.E ont démontré un effet de piégeage de 91,48% et 67,53%, respectivement. À 400 µg/mL, Et.E et Aq.E ont exercé un effet de piégeage modéré contre le H_2O_2, de 56,50% et 30%, respectivement. Par ailleurs, l'extrait Et.E a démontré une capacité de réduction significativement élevée, avec une concentration efficace (CE50) de 154,11 ± 3,55 µg/mL, comparativement à l'extrait aqueux (Aq.E) dont la CE50 était de 423,52 ± 1,02 µg/mL. De plus, les deux extraits ont exercé un effet protecteur contre l'hémolyse des érythrocytes induite par l'AAPH. En effet, à 25 µg/mL, Et.E et Aq.E ont tous les deux protégé les érythrocytes de l'hémolyse pendant toute la durée de l'expérience, avec une valeur HT50 élevée (environ 180 minutes), en comparison avec le témoin. Cet effet protecteur était supérieur à celui obtenu avec l'acide ascorbique, utilisé comme référence. Cependant, à la concentration la plus élevée (50 µg/mL), Et.E a conservé son effet protecteur maximal, tandis que l'activité de Aq.E a légèrement diminué. Malgré cette diminution, l'effet est resté significatif. En conclusion, les bractées de *Cynara scolymus* présentent de bonnes propriétés antioxydantes, probablement dues à la présence de polyphénols et de flavonoïdes. Ainsi, les sous-produits de l'artichaut peuvent être considérés comme une source prometteuse d'antioxydants naturels et leur utilisation comme compléments alimentaires et agents de conservation.

Mots-clés : Antioxydant, sous-produits, *Cynara scolymus,* artichaut globe, flavonoïdes, stress oxydatif, polyphénols.

Contents

Acknowledgements
Dedication
Abstracts
Abbreviation list
List of figures and table

Introduction 1

Leturature review

I. Oxidative stress 3
I.1. Physiological activities of free radicals 3
I.1.1. ROS and the immune system 3
I.1.2. ROS and fertility 4
I.1.3. ROS and wound healing 5
I.1.4. ROS and skeletal muscle function 6
I.2. Biochemical consequences of oxidative stress 6
I.2.1. Lipid peroxidation 7
I.2.2. Nucleic acid oxidation 8
I.2.3. Protein oxidation 9
I.2.4. Carbohydrate oxidative damage 9
I.3. Pathologies related to oxidative stress 10
I.3.1. Neurodegenerative diseases 11
I.3.2. Cancer 11
I.3.3. Liver diseases 11
I.3.4. Renal diseases 11
II. Antioxidants 12
II.1. Polyphenols 14
II.2. Antioxidant mechanisms 14
III. *Cynara scolymus* 15
III.1. Botanical classification 15
III.2. Botanical description 16
III.3. Phytochemical composition 17
III.4. Traditional use 18
III.5. Biological activities 18
III.6. Applications of globe artichoke 19

Experimental part

I. Materials and methods 21

I. 1. Material **21**
I.1.1. Animals **21**
I.1.2. Plant materials **21**
I.1.3. Chemicals **22**
I.2. Methods **22**
I.2.1. Preparation of extracts **22**
I.2.2. Phytochemical analysis **22**
I.2.2.1. Determination of total polyphenolic content **22**
I.2.2.2. Determination of total flavonoid content **23**
I.2.3. Antioxidant activity **24**
I.2.3.1. DPPH• scavenging capacity assay **24**
I.2.3.2. Reducing power assay **24**
I.2.3.3. Hydrogen peroxide scavenging assay **25**
I.2.3.4. AAPH-induced hemolysis in red blood cells assay **25**
I.2.4. Statistical analysis **25**

Results and discussion

II. Results and discussion **26**
II.1. Extraction yields **26**
II.2. Phytochemical analysis **26**
II.2.1. Total polyphenols and flavonoids **26**
II.3. Antioxidant activity **27**
II.3.1. DPPH radical scavenging activity **27**
II.3.2. Reducing power **29**
II.3.3. Hydrogen peroxide scavenging activity **31**
II.3.4. AAPH-induced hemolysis in red blood cells assay **33**
Conclusion and perspectives **36**
References **37**

INTRODUCTION

Introduction

Oxidative stress is associated with a broad range of diseases and syndromes, such as aging, heart diseases, diabetes, autoimmune diseases, cancer, neurological disorders, ...etc (Valko *et al*., 2007).

To counteract these diseases, antioxidants serve as vital compounds that suppress or limit the ROS effects in the human system. While the human body possesses a natural antioxidant defense system that keeps ROS in check, external dietary intake is crucial, natural antioxidants, particularly in fruits, vegetables, and other plant-based diets, play an important role in disease prevention (Sharifi-Rad *et al*., 2021; Popović-Djordjević *et al*., 2022).The use of agricultural waste generated by plants or food processing in the production of high-added-value functional ingredients for use in the nutraceutical and pharmaceutical industries has recently become a goal of sustainable technological development (Maietta *et al.* 2018). Artichoke (*Cynara scolymus*) by-products have attracted significant scientific attention. Indeed, different *in vivo* and *in vitro* studies indicate that they possess various biological activities, which may be due to their chemical content (Lattanzio *et al*., 2009; Salekzamani *et al*., 2019).

Cynara scolymus, in particular, is a good source of specific functional compounds including dietary fibers, inulin, minerals, and active components, particularly phenolic compounds (Lattanzio *et al*., 2009; Li *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2017; Salekzamani *et al*., 2019). The artichoke (*Cynara scolymus*) canning industry produces large quantities of by-product material, comprising mainly leaf (Ruiz-Cano *et al.* 2014), stems, and external parts of the flowers (bracts), which are not appropriate for human consumption (about 80-85% of the total biomass of the plant), and they can be recycled for the production of compounds of economic value.

Since *Cynara scolymus* by-products contain high levels of bioactive compounds, they could be good sources of alternative antioxidants, as the synthetic antioxidants can be harmful and carcinogenic.

This study aims to evaluate the antioxidant activity of *Cynara scolymus* bracts (wastes) in order to improve the utilization of these wastes as a source of natural antioxidants.

So, the following aspects are studied:

- The first part is a phytochemical study based mainly on the extraction and quantification of phenolic compounds in *Cynara scolymus* aqueous and ethanolic extracts.
- The second part is devoted to the evaluation of the antioxidant activity of *Cynara scolymus*. aqueous and ethanolic extracts, using the following *in vitro* assays:

-DPPH radical scavenging activity.

-Reducing power assay.

-Hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity.

-Inhibition of APPH induced erythrocyte hemolysis.