



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : De Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

قسم : الكيمياء الجزيئية و الخلوية البيولوجيا و الحيوية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliqué

Intitulé :

Pouvoir antioxydant de l'espèce *Artemisia herba alba*

Présenté et soutenu par : MEHIMMEDETSI ROKIA

Le : 01/07/2018

RABIA MERIEM

Devant le jury :

Président

BOUANIMBA NOUR

MCA Université des frères Mentouri
Constantine

Encadreur

KITOUNI RACHID

MAA Université des frères Mentouri
Constantine

Examineur

HAROUNI SOUFIANE

MAA Université des frères Mentouri
Constantine

Année universitaire 2017/2018

Remerciement

En tout premier lieu, nous tenons à remercier ALLAH qui nous a aidé à réaliser ce travail de recherche et de nous avoir donné la force pour survivre.

*On tiens à remercier sincèrement notre encadreur Dr :**KITOUNI RACHID**, pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail et pour son dynamisme pour la recherche scientifique. On la remercie pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. On aimerait aussi la remercier pour ses conseils.*

*On 'exprime toute notre reconnaissance à Dr :**BOUANIMBA NOUR** maitre de conférences A, pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire. On tiens à présenter tous notre gratitude, reconnaissance, respects et notre grande estime à vous.*

*notre gratitude va également à celui qui nous a fait l'honneur de juger ce travail, Dr:**HAROUNI SOUFIANE** maitre de conférences B , et on tiens à remercier toute l'équipe de CRBT surtout Dr : **bensuisi chawki** qui a consacré une partie de son temps pour l'analyse de ce mémoire.*

on 'adresse également nos remerciement a tous ceux qui nous ont soutenu ,encouragés et rendu service au cours de la réalisation de ce memoire .

Dédicace

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU, Tout Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage pour mener à terme ce travail.

Je dédie ce travail à Ma famille

***RABIA** et aux personnes les plus chères au monde mes chers*

Parents :

*A mon père **BOUDJAMAA** et ma très chère mère **FATIHA**:*

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui vous êtes consentis

Pour mon éducation et ma formation.

*A mon cher frère **Mehdi***

A mes chères sœurs, khadidja, hayet et selma

A mes chères amies (es)

A mon binôme Rokia qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce Travail .

*« un remerciement particulier à mon mari **TAREK**»*

À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.

MERIEM

Dédicace

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU, Tout Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage pour mener à terme ce travail.

Je dédie ce travail à Ma famille

***MEHIMMEDETSI** et aux personnes les plus chères au monde mes chers*

Parents :

*A mon père : **MADJID***

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

*A ma très chère mère : **GHODBANE NORA** :*

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mes chers frères :

HAMZA et SEIF EDINNE

A mes chères sœurs :

MAROUA et AYA

A mes chères amis (es)

A mon binôme mariem qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille.

À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.

Rokia

Résumé

Résumé

L'objectif principal du présent travail était d'évaluer les activités antioxydantes *in vitro* des extraits éthanoïques, d'acétate d'éthyle et chlorure de méthylène d'*artémisia herba-alba*. Pour mesurer leurs activités antioxydants, quatre méthodes ont été réalisées: DPPH, DMSO alcalin, CUPRAC et l'activité ABTS *in vitro*. Comparé à des différents standards utilisés dans chaque méthodes (α -Tocopherol ,BHA;BHT) les résultats ont révélé que l'extrait d'éthanol possède une activité antioxydant significative, leur valeur IC₅₀ en DPPH est (IC₅₀=262.34±7.91µg.mL⁻¹),Vingt fois moins faible que celle du α -Tocopherol ,en DMSO alcalin (IC₅₀<12.5 µg.mL⁻¹) quatre fois moins faible que celle du BHA, en CUPRAC (IC₅₀= 184.72±5.21µg.mL⁻¹) vingt fois moins faible que celle du BHT et en ABTS (CI₅₀ =23.50±1.30 µg/mL) treize fois moins faible que celle du BHA.

L'extrait éthanoïque de l'espèce *Artemisia herba alba* possède une bonne activité anti oxydante par rapport à l'extrait d'acétate et l'extrait de chlorure de méthylène. Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d'autres polyphénols.

Mots clés

Aartémisia herba-alba, DPPH, CUPRAC, DMSO alcalin , ABTS, flavonoïdes glycosylés ,polyphénols.

Abstract

The main objective of the present work was to evaluate the in vitro antioxidant activities of ethanoic extracts, ethyl acetate and methylene chloride of artemisia herba-alba. To measure their antioxidant activities, four methods were carried out: DPPH, alkaline DMSO, CUPRAC and ABTS activity in vitro. Compared to the different standards used in each method (α -Tocopherol, BHA, BHT) the results revealed that the ethanol extract has significant antioxidant activity, their IC₅₀ value in DPPH is (IC₅₀ = 262.34 \pm 7.91 μ g.mL⁻¹), twenty times lower than that of α -Tocopherol, in alkaline DMSO (IC₅₀ <12.5 μ g.mL⁻¹) four times lower than that of BHA, in CUPRAC (IC₅₀ = 184.72 \pm 5.21 μ g.mL⁻¹) twenty times lower than that of BHT and in ABTS (IC₅₀ = 23.50 \pm 1.30 μ g / mL) thirteen times lower than that of BHA.

The ethanoid extract of the species Artemisia herba alba has good antioxidant activity relative to the acetate extract and the methylene chloride extract. This activity is due to its richness in polar molecules namely glycosylated flavonoids that have been isolated and other polyphenols.

Keywords

Aartemisia herba-alba, DPPH, CUPRAC, alkaline DMSO, ABTS, glycosylated flavonoids, polyphenols.

ملخص

الهدف الاساسي من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر للمستخرجات الايثانول، أسيتات الإيتيل و كلوريد الميثيلين لنبته الشيح (*Artémisia herba-alba*). لقياس أنشطتها المضادة للأكسدة ، تم تنفيذ أربع طرق : DPPH ، DMSO ، CUPRAC ونشاط ABTS في المختبر .مقارنة لمختلف الأساليب القياسية المستخدمة في كل ألفا - توكوفيرول، BHA ، BHT وكشفت النتائج أن مستخرج الإيثانول له نشاط مضاد للأكسدة كبير، وقيمته هي: DPPH (IC50 = 262.34 ± 7.91µg.mL⁻¹) عشرين مرة أقل من ألفا توكوفيرول ، في (1) DMSO (IC50 <12.5µg.mL⁻¹) أربع مرات أقل من BHA ، في (1) CUPRAC (IC50 = 184.72 ± 5.21µg.mL⁻¹) أقل بعشرين مرة من BHT و (1) ABTS (IC50 = 23.50 ± 1.30 µg.mL⁻¹) أقل بثلاث عشرة مرة من BHA. مستخلص الإيثانول لنبته الشيح *Artemisia herba alba* له نشاط مضاد للأكسدة جيد بالنسبة إلى مستخلص أسيتات الإيتيل ومستخلص كلوريد الميثيلين. ويرجع هذا النشاط إلى ثرائها بجزيئات الفلافونويد التي تم عزلها وغيرها من البوليفينول.

كلمات المفتاحية

Artémisia herba-alba ، DPPH ، CUPRAC ، DMSO ، ABTS ، الفلافونويد ، البوليفينول.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION.....1

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS

1. Stress oxydant et Antioxydants.....	3
1.1. Définition du stress oxydant.....	3
1.2. Les espèces réactives d'oxygène(EAO).....	3
1.3. Les sources des radicaux libres.....	4
1.3.1. les surces endogènes	4
1.3.2. Pro-oxydants environnementaux.....	4
1.4. Rôle physiologique des espèces réactives.....	5
1.5. Principales cibles biologique de stress oxydant.....	5
➤ Les lipides.....	5
➤ L'ADN.....	7
➤ Les protéines.....	8
➤ Les Glucides.....	9
1.6. Rôle pathologique du stress oxydant.....	9
1.7. Les antioxydants.....	10
1.7.1. Les systèmes enzymatiques antioxydants.....	10
1.7.2. Les systèmes non enzymatiques antioxydants.....	11
1.8.stress oxydatif et vieillissement.....	11

CHAPITRE 2 : *Artémisia herba alba* et activités biologiques

2. <i>Artémisia herba alba</i> et activités biologiques.....	12
2.1. présentation botanique.....	12
2.2 . classification botanique.....	12
2.3. description botanique de la plante	13
2.4. habitat naturel de la plante	13
2.5.les propriétés thérapeutique de la plante décrit dans la littérature	14
2.6. les études antérieurs sur la plante.....	14
2.6.1.lactones sesquiterpéne	14
2.6.2. les flavonoides	15
2.6.3.huiles essentielles	15
2.7.activité antioxydant	16

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes	19
3.1. Matériel	19
3.1.1. Matériel végétal.....	19
3.1.2. Produits chimiques	20
3.1.3. Appareillage	20
3.2. Méthodes	22
3.2.1. Extraction	22
3.2.2.filtration.....	22
3.2.3.concentration des trois extraits	23
3.2.4.grattage des ballons	23
3.2.5.la puse.....	24

3.3.activité antioxydante <i>in vivo</i>	24
3.3.1.piégeage des radicaux libre à l'aide du DPPH.....	24
3.3.2.A ctivité ABTS	25
3.3.3.Méthode CUPRAC.....	27
3.3.4.superoxyde DMSO alcalin.....	28

Chapitre 4 : Resultats et discussion

4. Resultats et discusion.....	29
4.1. Resultats.....	29
4.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH).....	29
4.1.2.Activité superoxyde DMSO alcalin.....	30
4.1.3.Test de la capacité anti oxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	30
4.1.4 activité ABTS.....	31
4.2.Discusion.....	32
4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH).....	32
4.2.2. Activité superoxyde DMSO alcalin.....	33
4.2.3. Test de la capacité anti oxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	34
4.2.4. activité ABTS.....	35
4.3.Conclusion	35
Conclusion general.....	36

Résumé

Références bibliographiques

Liste des abréviations

¹O₂ :	Oxygène singulet
4- HNE :	4-hydroxynonenal
ABS :	Absorbance
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AGE :	Glycation avancé
BHA :	Hydroxyanisole butylé
BHT :	Hydroxytoluene butylé
C.R.Bt :	Centre de Recherche en Biotechnologie
CAT :	Catalases
CI50 :	Concentration inhibitrice à 50%.
CUPRAC :	Cupric reducing antioxidant capacity
DPPH :	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
EC50 :	Concentration effectrice à 50%
EOA :	Espèces réactives de l'oxygène
EtOH :	Ethanol
EEAH :	Extrait éthanol
EAAH :	Extrait acétate d'éthyle
ECAH :	Extrait chlorure de méthylène
GPX :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HO :	Hème oxygénase
HO• :	Radical hydroxyle
HOCL :	Hypochlorite

HSF-1	:	Facteur de choc thermique
HSP	:	Protéine de choc thermique
I%	:	Pourcentage d'inhibition
LDL	:	Lipoprotéine de faible densité
MAO	:	Monoamine Oxydases
MDA	:	Malonaldéhyde
NO•	:	Dioxyde d'azote
NOX	:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné oxydase
O₂••	:	Radical superoxyde (anion superoxyde)
ONOO⁻	:	Peroxynitrite
SH	:	Sulphydrile
SOD	:	Super Oxyde Dismutase.
TBARS	:	Thiobarbituriques acides
TRX	:	Thiorédoxine
XO	:	Xanthine oxydase

Liste des figures

Figure1.1 : Formation les ROS par le rayonnement électromagnétique	4
Figure1.2 : Peroxydation lipidique induite par le radical HO	6
Figure1.3 : Mécanisme de l'autoxydation des acides gras par l'oxygène triplet et l'oxygène singulet.....	7
Figure1.4 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	8
Figure 1.5 : diffèrent pathologie causée par les EOA	10
Figure2.6: Artémisia herba alba (armoise blanche).....	13
Figure3.7: La plante « <i>Artemisia herba-alba</i> » (séchée).....	19
Figure3.8: lecteur microplaque.....	20
Figure3.9: l'ogisiel Enspire.....	21
Figure3.10: ultracent Elma-hans schmidbauer Gmbh&co.....	21
Figure3.11: KERN.....	balance 22
Figure3.12: les trois extraits après filtration.....	22
Figure3.13: séchage avec la rota vapeur.....	23
Figure3.14: un ballon contient un extrait.....	23
Figure3.15: les trois extraits obtenues.....	24
Figure 4.16 : Résultat de DPPH après l'incubation.....	29
Figure 4.17 : Résultat de DMSO alcalin après l'incubation.....	30
Figure 4.18 : Résultat de CUPRAC alcalin après l'incubation.....	30
Figure 4.19 : Résultat de l'activité ABTS après l'incubation.....	31
Figure 1 Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	32
Figure 4.11 : Activité de Superoxyde DMSO alcalin des extraits de <i>Artemisia herba alba</i>	33
Figure 2 Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) des extraits de <i>Artemisia herba alba</i>	34

Figure 3 Test ABTS des extraits d' *Artemissia herba alba*.....35

Liste des tableaux

Tableau 2.1: classification botanique d'artimissia herba alba.....	12
Tableau 3.2: les réactifs utilisés dans les différentes méthodes recommandées par sigma Aldrich.....	20
Tableau 4.3 : activité anti oxydante avec le DPPH.....	29
Tableau 4.4 : Activité anti oxydante avec DMSO alcalin	30
Tableau 4.5 : Activité anti oxydante avec CUPRAC.....	31
Tableau 4.6 : Activité anti oxydante avec ABTS.....	31

Introduction

De tous les temps, les plantes ont occupé une place prépondérante dans la vie de L'homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes soit sauvages soit cultivées pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner. Ces utilisations se sont diversifiées au fil des temps pour s'adapter aux besoins. Les plantes médicinales ont connu les mêmes modifications. Elles sont employées parfois de façon sélective grâce à la tradition. Au fil des siècles, une première distinction a pu être faite entre plantes comestibles et toxiques. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du 20ème siècle, presque tous les médicaments étaient à base de plantes.

De nos jours, et surtout dans les pays du tiers monde, la phytothérapie occupe encore une place importante. La flore de ces pays reste assurément riche et prometteuse, tant dans la perspective de découvrir de nouvelles espèces botaniques que de trouver de nouvelles molécules ayant une activité thérapeutique, pour la mise au point de nouveaux médicaments.

Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement riches, elles contiennent de structures chimiques complexes. Le métabolisme des plantes contient de milliers de différents constituants dont l'effet thérapeutique n'est évidemment pas lié à tous les composés, de même pour ce qui est d'effet nocif ou toxique.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être. Nous partageons avec les méditerranéens et les pays du Sahel un large éventail de composés et d'éléments phytochimiques d'un intérêt grandissant d'où la nécessité et l'importance de ce travail de recherche. Ce brassage d'espèces constitue pour notre pays une véritable richesse qui doit être

préservée et gérée rationnellement et durablement dans le but de maintenir les équilibres écologiques déjà fragiles et de conserver notre diversité biologique.

Partie I

Etude bibliographique

Chapitre 1 :
Stress oxydant et
Antioxydants

1. Stress oxydant et Antioxydants

1.1. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est le résultat d'un déséquilibre entre les oxydants et les activités anti oxydantes réduite d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire[1]. L'augmentation des pro-oxydants et / ou la diminution des antioxydants déclenchent une cascade de réactions oxydatives peut entraîner des destructions tissulaires et provoquer des lésions au niveau des structures cellulaires[2].

1.2. Les espèces réactives d'oxygène(EAO)

Les dérivés d'oxygène radicalaire	
Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)	[3]
Radical hydroxyle ($HO\cdot$)	[4]
Les dérivés d'oxygène non radicalaire	
Oxygène singulet (1O_2)	[5]
Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	[4]
Hypochlorite ($HOCl$)	[6]
Les espèces réactives d'azote	
Nitric oxyde ($NO\cdot$)	[8]
Peroxynitrite ($ONOO^-$)	[9]
Autres formes radicalaires	
alkyle ($R\cdot$)	[10]
alkoxyde ($RO\cdot$)	[10]
alkyl peroxyde ($ROO\cdot$)	[10]

1.3. Les sources des radicaux libres

1.3.1. Les sources endogènes

La chaîne respiratoire de mitochondries	[11-12]
Les Oxydases	
➤ Les NADPH oxydases (NOX)	[13]
➤ La Xanthine oxydase (XO)	[14]
➤ Les enzymes monoamine oxydases (MAO)	[15]
L'inflammation	[16]

1.3.2. Pro-oxydants environnementaux:

Les pro-oxydants environnementaux tels que les pesticides, les métaux lourds, la fumée de cigarettes, les polluants, la poussière (d'amiante, de silice), et les composés induits par la prise de certains médicaments, par le rayonnement électromagnétique (radiation ionisante, lumière ultraviolette), ou lors d'un coup de chaleur [17]. (Figure1) .

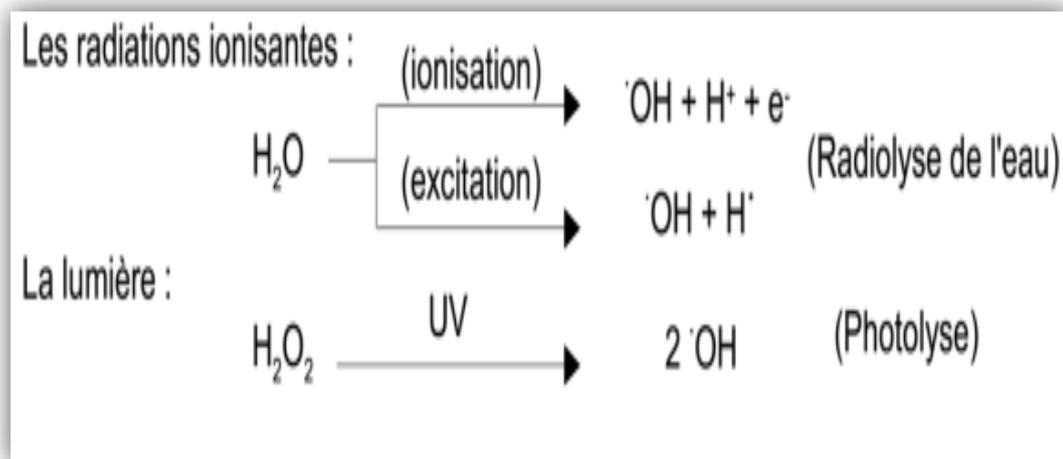


Figure1.1 : Formation des ROS par le rayonnement électromagnétique [17].

1.4. Rôle physiologique des espèces réactives :

La production des EOA et des ENA est permanente et physiologique, elle n'est pas limitée aux conditions pathologiques, car ces espèces réactives participent à de nombreuses fonctions biologiques[18].

Ces espèces réactives ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , NO^{\cdot} , $ONOO^-$, $HOCl$) participent aussi à la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'immunité et la défense contre les micro-organismes [19].et la régulation de nombreux facteurs de transcription tels que l'AP-1 (Activateur protéin-1) et le HSF-1 (Facteur de choc thermique-1) qui active des gènes dits protecteurs pour la cellule. Ces gènes régulent l'expression de molécules de défense telles que les antioxydants ou les HSP (protéine de choc thermique) qui contribuent aux processus de réparation et de régénération cellulaire. Les EOA participeraient également à l'amélioration du captage musculaire du glucose et à la reconstitution des stocks en glycogène musculaire [18].

1.5. Principales cibles biologique de stress oxydant

➤ Les lipides

L'initiation de la peroxydation lipidique est due à l'attaque des acides gras par les EOA, c'est une réaction en chaîne qui est un exemple d'oxydation très dangereux pour les cellules provoqué par les dérivés de l'oxygène, en particulier les radicaux hydroxyles ($\cdot OH$) ou peroxytes ($ROO\cdot$), capables d'arracher un atome d'hydrogène d'un groupe méthylène (CH_2), laissant un électron non apparié sur l'atome de carbone[20].(Figure2).

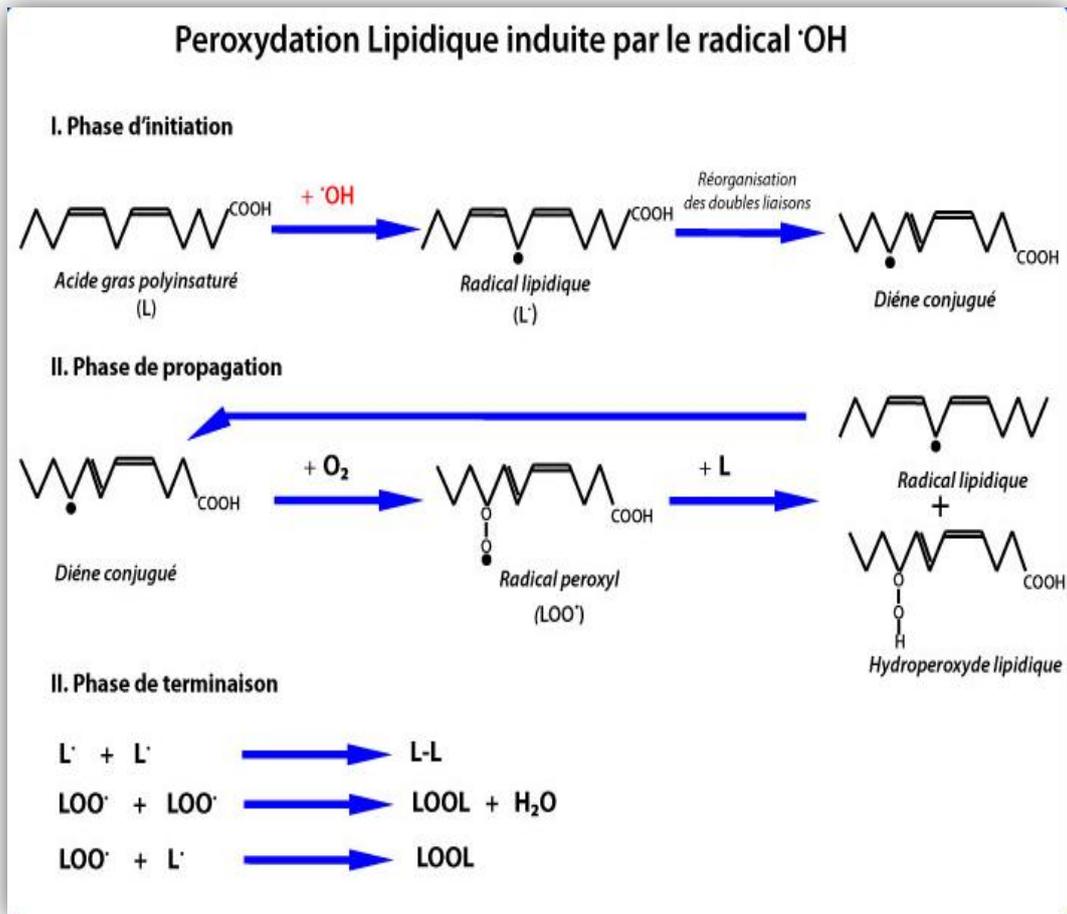


Figure1.2 : Peroxydation lipidique induite par le radical HO \cdot [20].

L'autoxydation est une réaction directe de l'oxygène moléculaire avec des composés organiques. Dans le cas des acides gras insaturés, l'oxygène se fixe sur les doubles liaisons pour donner des hydroperoxydes. L'oxygène peut exister sous une forme beaucoup plus réactive correspondant à un état excité appelée oxygène singulet, et L'oxydation indirecte des acides gras insaturés par $^3\text{O}_2$ [5]. (Figure 3).

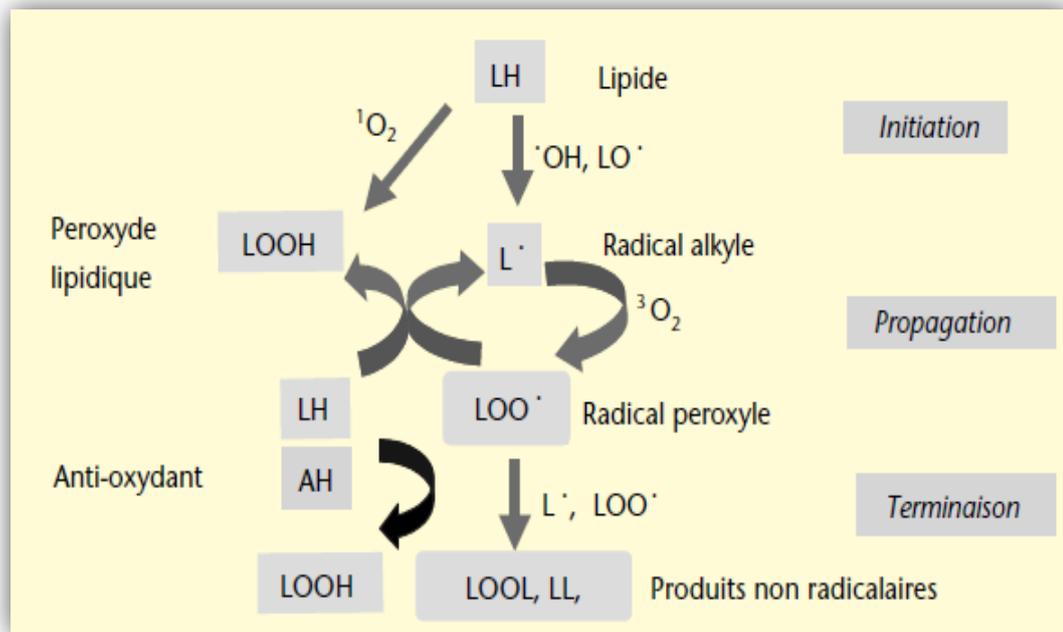


Figure 1.3 : Mécanisme de l'autoxydation des acides gras par l'oxygène triplet et l'oxygène singulet [5].

Elle a des conséquences multiples : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation des lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées qui captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, et en induisant une diminution de la fluidité des membranes plasmiques et une augmentation de la charge négative de surface, et en perturbant les membranes des organites cellulaires [19].

Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), les acides thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4- HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique, et le malonedialdéhyde (MDA) est un bon marqueur de la peroxydation lipidique[21].

➤ L'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Au bas mot, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH[·]

peuvent être générées : les bases oxydées (particulièrement la guanine), les sites abasiques (peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même), les adduits intra-caténaires, les cassures de brins et les pontages ADN-protéines formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine [22].

Les dommages oxydant continus l'ADN peuvent mener aux changements des cascades de signalisation ou de l'expression des gènes, à l'induction ou arrêt de la transcription, aux erreurs de réplication et à l'instabilité génomique [19].

➤ **Les protéines :**

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (-SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire [23]. (Figure4).

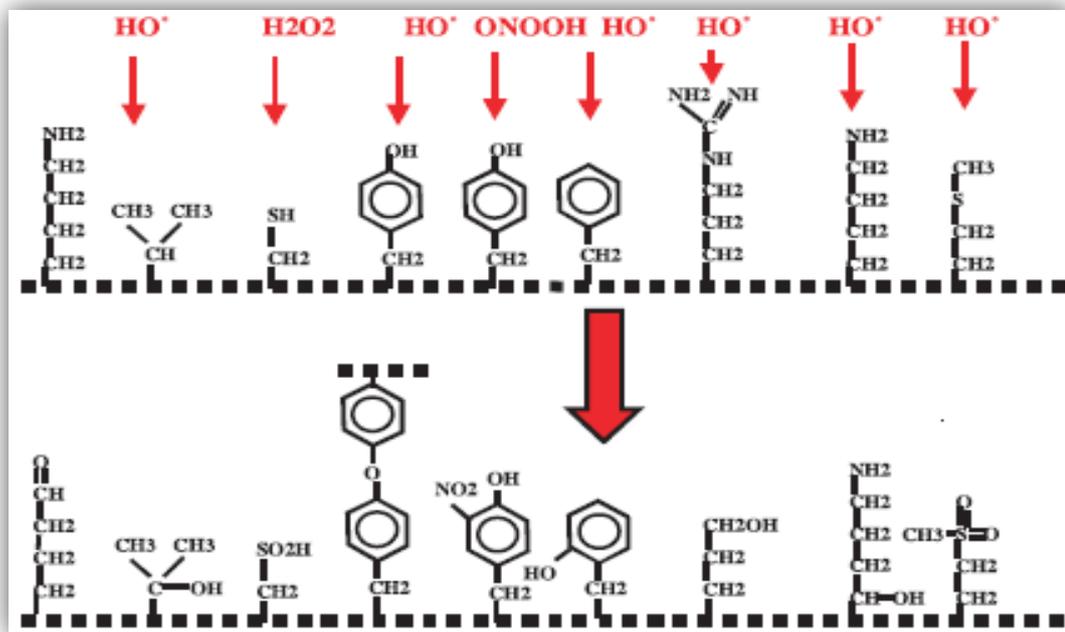


Figure1.4 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire [19].

➤ **Les Glucides :**

Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les EOA attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H_2O_2 et HO^\cdot , qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant des produits de glycation avancée (ou AGE pour advanced glycation end products). Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine[19].

1.6. Rôle pathologique du stress oxydant

Le stress oxydant engendre des perturbations biologiques, la baisse de la fluidité des membranes, les anomalies de récepteurs, la diminution de la sensibilité à l'insuline, la perturbation de l'immunité cellulaire, la fibrose, les dépôts de lipides, l'affaiblissement musculaire, la mort neuronale ou apparition de mutations [19].

De nombreuses anomalies pathologiques sont également induites par le stress oxydant : mutations, carcinogenèse, malformations des fœtus, dépôts de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression. Ces conséquences donnent certaines pathologies [19]. (Figures 5).

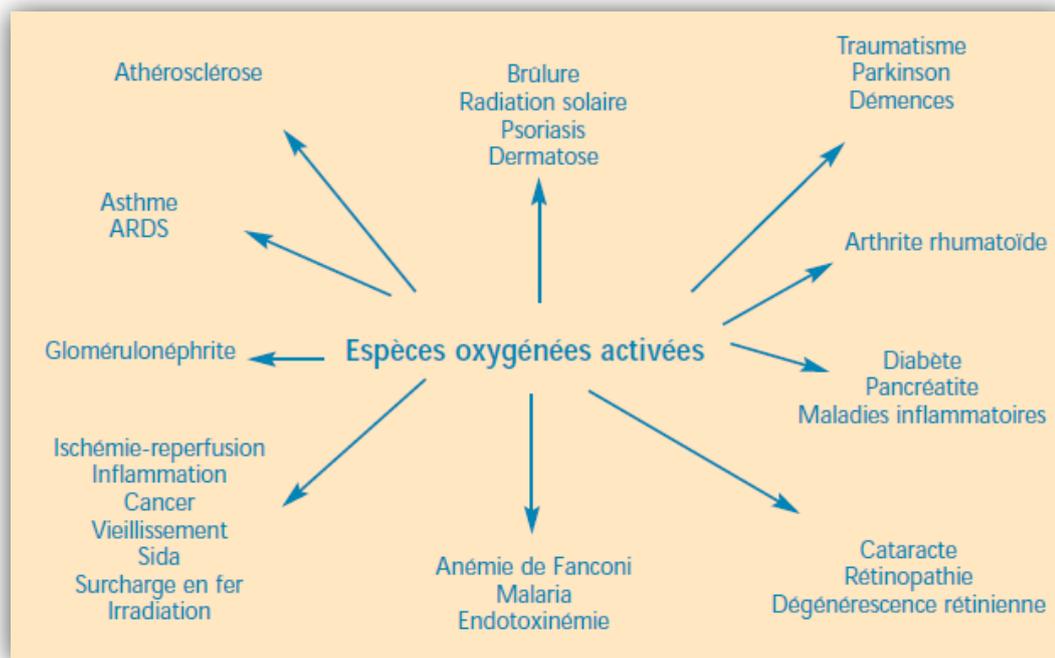


Figure 1.5 : différentes pathologies causées par les EOA [24].

1.7. Les antioxydants

1.7.1. Les systèmes enzymatiques antioxydants

Les antioxydants enzymatiques le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les EAO [25].

Superoxyde dismutase (SOD)	[26]
Les catalases (CAT)	[27-28]
Le cycle d'oxydoréduction du glutathion	[29-30]
L'hème oxygénase	[31]
La biliverdine réductase	[31]

1.7.2. Les systèmes non enzymatiques antioxydants

Les antioxydants endogènes	
➤ Le glutathion (GSH)	[32]
➤ L'acide urique	[33]
➤ le thiorédoxine (TRX)	[34]
➤ Acide lipoïque	[32]
Les antioxydants exogènes	
Les antioxydants naturels	
➤ Les vitamines C et E	[35]
➤ Les oligo-éléments	[21-36]
➤ Caroténoïdes	[37]
➤ Polyphénols	[37]

1.8. Stress oxydatif et vieillissement

De nombreuses théories ont été proposées pour expliquer l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies avec l'âge. Au côté des théories immunologique, neuroendocrinologique, ou génétique, la théorie radicalaire selon laquelle avec l'âge apparaît une majoration des processus oxydants responsable d'effets cellulaires délétères et du vieillissement accéléré a été avancée par Harman dès 1956. Les effets délétères des espèces actives de l'oxygène, associés à un déficit des moyens de défense anti radicalaire de l'organisme, conduiraient à une rupture d'équilibre entre systèmes pro- et anti -oxydant et favoriseraient la sénescence. La théorie radicalaire du vieillissement prend appui sur des données montrant une production directe accrue d'espèces radicalaires au cours du vieillissement ou une augmentation des marqueurs du stress oxydant au cours du vieillissement[38] .

Chapitre 2 :
Artémisia herba alba et
activités biologiques

2. *Artemisia herba-alba* Asso et activités biologiques

2.1. Présentation botanique

Artemisia herba-alba Asso (L'armoise herbe blanche) est une espèce de plantes steppiques poussant dans les terres arides ou semi-arides de l'Afrique du Nord, au Moyen-Orient ainsi qu'en Espagne [39] .

Plusieurs noms sont attribués à cette plante ; thymdes steppes, absinthe du désert, etc. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, l'appelle communément shih ou shih khorasani selon les régions. Au Maroc occidental, elle porte aussi le nom de kaysoum En tamazight (berbère), l'armoise se dénomme "izerg".

L'armoise herbe blanche est bien connue depuis l'Antiquité. Le nom anglais Wormwood (attribué à toutes les armoises) fait allusion à son pouvoir vermifuge bénéfique pour l'homme et le bétail[40] .

2.2. Classification botanique

Règne	Angiospermeae
Sous règne	Dicotylédones
Ordre	Gampanulatae
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asterioideae
Tribu	Anthemideae
Sous-tribu	Artemisiinae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba-alba</i>

Tableau2.1:classification botanique d'artimissia herba alba

2.3. Description botanique de la plante

A. herba - alba Asso Capitules pauciflores ou multiflores, mais hétérogrames . fleurs du rayon, femelles, celles du disque, hermaphrodites (fertiles ou stériles). Corolle insérée au sommet de l'ovaire ou obliquement. réceptacle glabre ou velu Feuilles blanchâtres , tomenteuses sur les 2 faces . Capitules de 3-60 cm réceptacles très velus Feuilles vertes au moins en dessus. Capitules bien plus petits (1-2 mm) .Réceptacle glabre Feuilles grandes (les inférieures dépassant généralement (10 cm de long), 2-3 pinnatifides et argentées soyeuses feuilles nettement plus petites (4 cm au plus) ; les inférieures 2-30 ternatiséquées les supérieures souvent réduites à une lanière capitules disposées en grappes unilatérales se groupant en panicule feuillée très ample et à rameaux étalés. Feuilles ponctuées et pubescentes, pétiolées et à pétiole non auriculé. Plante vivace de 40-70cm, à tiges herbacées. Feuilles inférieures 2-pinnatiséquées ; les supérieures 1-2 pinnatiséquées. Corolle glabre ou velue. Akènes non glanduleux forêts claire en montagne[41] .



Figure 2.6: *Artémisia herba alba* (armoise blanche)

2.4. Habitat naturel de la plante

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud[42].

2.5. Les propriétés thérapeutiques de la plante décrit dans la littérature

Depuis longtemps, l'*Artemisia herba-alba* a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins [42].

L'infusion de l'armoise est assez employée par les bédouins du Néguev (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux. En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication contre le DNID[43].

En Tunisie, une enquête menée dans le milieu urbain a montré que l'armoise est, entre autres, essentiellement utilisée pour les maladies du tractus digestif et comme un traitement antidiabétique. D'après les cas interrogés elle donne un pourcentage d'amélioration élevé [44].

2.6. Les études antérieures sur la plante

D'après les études antérieures sur les huiles essentielle et les activités biologique de *Artemisia herba alba* on trouve qu'il Ya plusieurs métabolites secondaire.

Les études ont porté sur les flavonoïdes et les huiles essentielles.

2.6.1. Lactones Sesquiterpène

Les lactones sesquiterpéniques sont parmi les produits naturels les plus importants trouvés dans les espèces d'*Artemisia* et sont largement responsable de l'importance de ces plantes en médecine et en pharmacie. Plusieurs types structurels des lactones sesquiterpéniques ont été trouvées dans les parties aériennes de *A. herba-alba*. Eudesmanolides suivi de Les germacranolides semblent être les types de lactones les plus abondants dans cette espèce. En cours d'enquête sur les plantes *A. herba-alba* qui poussent en Israël

(désert du Néguev et de Judée) cinq différents chémotypes ont été identifiés sur la base de différences dans leur constitution lactone sesquiterpène [45].

En Espagne, certaines études phytochimiques ont étudié les lactones sesquiterpéniques d'*A. herba-alba*, récoltés dans différents lieux géographiques. [46].

De nombreux groupes ont étudié la chimie de *A. herba-alba* en Egypte. La plupart des études ont été concerné par les lactones sesquiterpène. Toutes les lactones isolées diffèrent de celles trouvées précédemment de *A. herba-alba* croissant en Israël [47]. Peu de publications ont étudié le produit chimique constitutif des espèces marocaines *A. herba-alba* [48] et algérienne [49], prouvé que ce genre est riche en sesquiterpènes.

2.6.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes détectés chez *A. herba-alba* montrent une grande variation structurelle, allant de flavone et flavonol glycosides à des flavonoïdes hautement méthylés plus inhabituels. Dans les études des feuilles et les vapeurs d'*A. herba-alba* collectées au Sinaï, un total de huit flavonoïdes O- et C-glycosides ont été isolés et identifié [50].

Examen des parties aériennes de *A. herba-alba* collectées à partir de plantes médicinales libanaises les magasins ont conduit à l'isolement de deux flavonoïdes; hispiduline et cirsilineol [51]. Un nouveau flavone, 5,4'- dihydroxy-6, 7,3'- triméthoxyflavone, a été isolé à partir de l'extrait non glycosidique des parties aériennes de *A. herba-alba* [52].

2.6.3. Huiles essentielles

Une forte variabilité des constituants volatils a été observée lorsque différentes populations de *A. herba-alba* collectés sur différents sites en Israël ont été comparés [53]. Considérant que des échantillons de *A. herba-alba* collectés à Elat l'acétate de chrysanthényle contenu comme composant principal (31%), suivi du chrysanthénol (6,4%) et du l'acétophénone xanthocycline, l'huile essentielle de *A. herba-alba* du désert de Judée a montré 1,8-cinéole le composé principal (50%) suivi par des quantités appréciables d' α - et de β -thujone (27%) et d'autres les

monoterpènes oxygénés tels que le terpinen-4-ol (3,3%), le camphre (3%) et le bornéol (3%) [54]. Essentiel les huiles de *A. herba-alba* collectées dans d'autres localités d'Israël contenaient des terpènes volatils plus inhabituels y compris l'alcool d'armoise et le lyratol [55].

En outre, deux types d'huile ont été trouvés pour les plantes cultivées en Israël et Sinaï, ceux du type cinéol-thujane-bornane et du type pinane; l'huile de toutes les populations étudiées contenu 1,8-cinéole dans des concentrations variables. Plus récemment, il a été signalé que cinq autres chémotypes pourraient être distingués chez les plantes poussant en Terre Sainte et au Sinaï en raison de la principaux composants de l'huile, suggérant l'existence, dans cette région, d'un plus grand nombre de chimio que précédemment cru [56]. En outre, l'artemisia cétone a été signalée comme le composant principal d'un Chémotype égyptien [57], alors qu'un type français [58] prédomine dans le 1,8-cinéole, le camphre et chrysanthénone.

Dans une huile algérienne, le camphre, les α / β -thuyones, les dérivés du 1,8-cinéole et du chrysanthényle composants [59]. Dans d'autres études, le camphène (3%), le bornéol (3,6%), l'éther de davana (8,8%), davanone (36,1%) étaient les principaux composants [60]. L'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes de *A. herba-alba* poussant à l'état sauvage à M'sila-Algérie, contenant du camphre (19,4%), du trans-pinocarvéol (16,9%), chrysanthénone (15,8%) en tant que composants principaux. Les monoterpénoïdes sont les composants principaux (86,1%) et les monoterpènes irréguliers (3,1%) [61].

D'un autre côté, d'autres composants ont déjà été trouvés d'autres huiles *A. herba-alba* telles que la jasmone, la xanthoxyline n'ont pas été détectées dans cette huile [62]. Une étude de *A. herba-alba* en Cyrénaïque (Libye) a montré que l'herbe séchée contenait 0,29% de huile essentielle contenant 6,7% de cinéole [63].

2.7. Activité antioxydant

De nombreuses plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants, qui pourraient être isolés et puis utilisé comme

antioxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés aux radicaux libres. [64].

Le but était l'évaluation par une méthode chimique de la capacité antioxydante des phénoliques composés dans certaines plantes médicinales algériennes, y compris *A. herba-alba*. Ces plantes médicinales ont montré une activité antioxydante plus forte et une teneur plus élevée en composés phénoliques que les plantes nutritionnelles courantes. Il a également été noté dans cette étude que ces plantes algériennes sont de puissants détritivores radicaux et peuvent être considérées comme bonnes sources d'antioxydants naturels à usage médicinal et commercial [64].

Boeuf haché cru et cuit les galettes ont été traitées avec un extrait aqueux de *A. herba-alba*, de romarin, de fenouil et de la rue à des niveaux de 5 mm de Extraire 10% (poids de matière végétale par rapport à l'eau) pour 100 g de viande. Les galettes étaient conservées sous réfrigération (4o) pendant une période de 16 jours, et des échantillons ont été prélevés à des intervalles de 4 jours. Les résultats ont montré que la viande cuite était plus sensible à la détérioration oxydative que la viande crue. En outre, *A. herba-alba* avait un peu rôle moins efficace que les autres herbes [65]. Dans une autre étude, 21 échantillons de plantes ont été collectés Emplacements jordaniens et utilisés pour l'évaluation antioxydante. Le niveau d'activité antioxydante, déterminé par Les tests DPPH et ABTS ont montré qu'*Artemisia herba-alba* a une activité antioxydante modérée par rapport à les autres plantes [66].

L'activité de la glutathion peroxydase et le statut du zinc et du cuivre, et empêché les gains de poids et augmenté les diènes conjugués, le glucose plasmatique, les lipides et l'état du fer. Les effets antioxydants bénéfiques étaient en ordre décroissant: Artémisia décoction ≥ décoction de thé vert > décoction de thé noir. Ainsi, *Artemisia* pourrait constituer un bon adjuvant pour lutter contre l'obésité, l'hyperglycémie, l'hypertriglycéridémie, l'hypercholestérolémie et particulièrement le stress oxydatif [67]. Les effets de sept plantes médicinales, y compris *Artemisia herba-alba*, sur la

dégradation des protéines, les lipides peroxydation, déformabilité des érythrocytes et fragilité osmotique des érythrocytes exposés in vitro à 10 mM H₂O₂ pendant 60 min à 37 ° C ont été examinés. Le résultat était qu'Artemisia herba-alba ne protégeait pas les érythrocytes contre la peroxydation lipidique [68].

Partie II

Etude expérimentale

Chapitre3 :
Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

L'intégralité de ce travail a été effectuée au niveau du laboratoire de centre national de recherche en biotechnologie (labo 02), (université constantine01) du 11/03/2018 au 15/03/2018.

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel végétal

La récolte de la plante « *Artemisia herba alba* » a été effectuée dans la (Wilaya de Boumerdes d'Algérie) durant le mois de février 2018, l'échantillon a été trié, et séché à l'air libre



Figure3.7: La plante « *Artemisia herba-alba* » (séchée).

3.1.2. Produits chimiques

	DPPH	ABTS	DMSO alcalin	CUPRAC
Produits	Ethanol DPPH α -tocophérol BHA BHT Quercetine ou Catéchine	$K_2S_2O_8$ ABTS Eau distillé Ethanol α -Tocophérol, BHA	DMSO NBT (nitrobleu tetrazolium) NaOH Eau distiller	Eau distillé Acetate d'ammonium ($CuCl_2, 2H_2O$) Neocupronin BHT α -Tocophérol

Tableau3.2:les réactifs utilisés dans les différentes méthodes recommandées par sigma Aldrich

3.1.3. Appareillage

Un lecteur de microplaque

Le lecteur de microplaque EnSpire de PerkinElmer est une Platform très accessible à la recherche pour la détection quantitative de l'émission et/ou l'absorbance de la lumière.

Le lecteur inclut plusieurs technologies de mesure: La technologie filtre absorbant, quad-monochromateur en fonction de l'intensité de fluorescence (lecture de dessus et ci-dessous), luminescence, Alpha technologie, Temps fluorescence résolu et la technologie sans étiquette). Il utilise différents modes de mesure telle que le monopoint, sur la volée, cinétique, le spectre de balayage, ... etc., tout dépend, de la technologie utilisée. Ainsi, La lecture mono-point à mouvement mécanique extrêmement rapide et précis permet la lecture des plaques de jusqu'à 384 puits et le balayage du spectre flexible permet des mesures d'absorption et d'émission des spectres.



Figure3.8:lecteur microplaque

Son logiciel Enspire est facile à utiliser et offre une vue claire de toutes les informations pertinentes sur l'écran. Par souci de fiabilité et de commodité, tous les protocoles et les résultats sont stockés dans une base de données. De plus, Il possède un explorateur de protocole à accès rapide. Des exemples de protocoles sont inclus en tant que point de départ afin de permettre aux utilisateurs de rétablir leur propre protocole spécifique à leur utilisation. Le logiciel est une application 32 bits fonctionnant sous Windows® Vista ou Windows® 7.

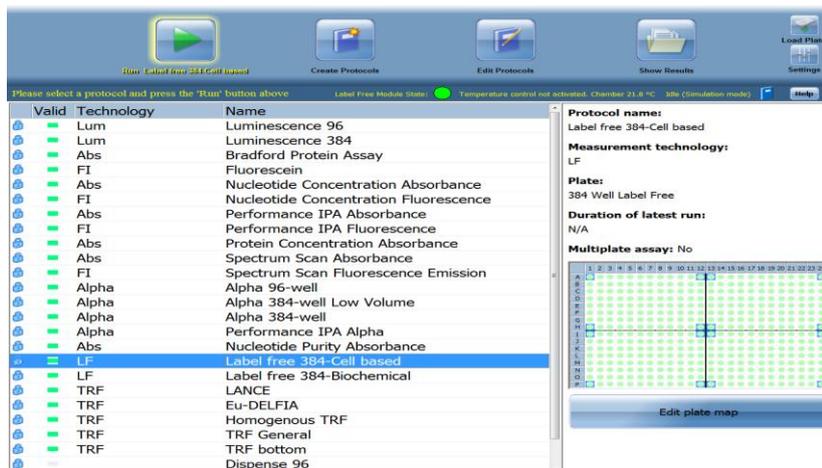


Figure 3.9: le logiciel Enspire

Les fichiers de résultats sont stockés dans un fichier .csv compatible Microsoft Excel® ou un fichier graphique format .mht. Les fichiers peuvent également être imprimés ou exportés dans un support.

Ultracent



Figure 3.10: ultracent Elma-hans schmidbauer GmbH&co.

Rota vapeur

Agitateur magnétique

Balance

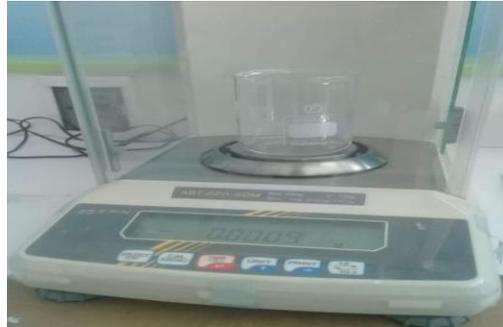


Figure3.11: balance KERN

3.2. Méthodes

3.2.1. Extraction

On utilise pour l'extraction des composés actifs de notre plante trois solvants de différentes polarités : Acétate 80%, Ethanol 80% et chlorure de méthylène(CH_2CL_2) 80%

3.2.2. Filtration

On fait la filtration des trois solvants à l'aide de papier filtre



Figure3.12:les trois extraits après filtration

3.2.3. Concentration des trois extraits

À l'aide d'un rota vapeur, on fait la concentration pour obtenir des poudres



Figure3.13:séchage avec la rota vapeur



Figure3.14:un ballon contient un extrait

3.2.4. Grattage des ballons

On fait un grattage des ballons à l'aides des spatules puis laissé les extraits obtenues bien séchée a l'air libre .

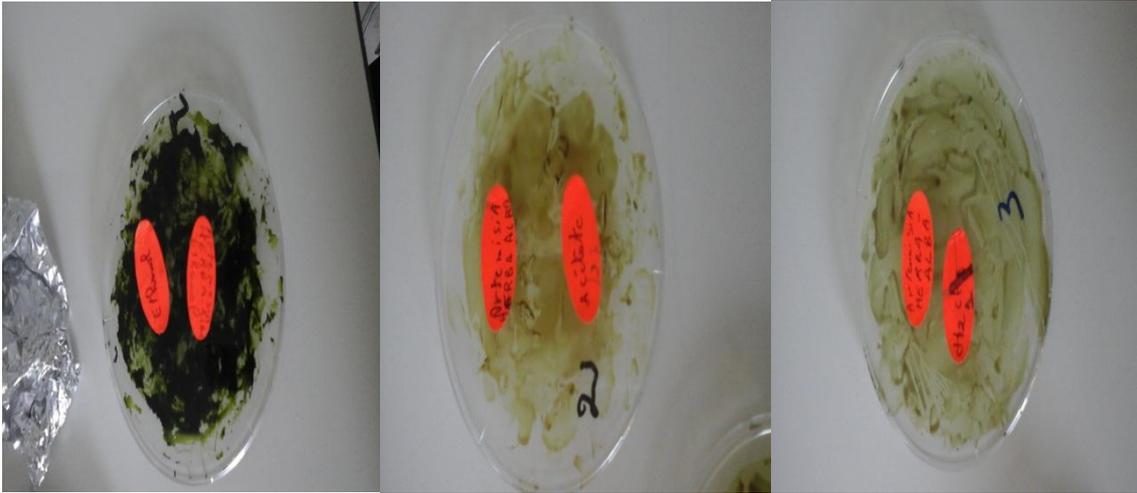


Figure 3.15: les trois extraits obtenues

3.2.5. La puse

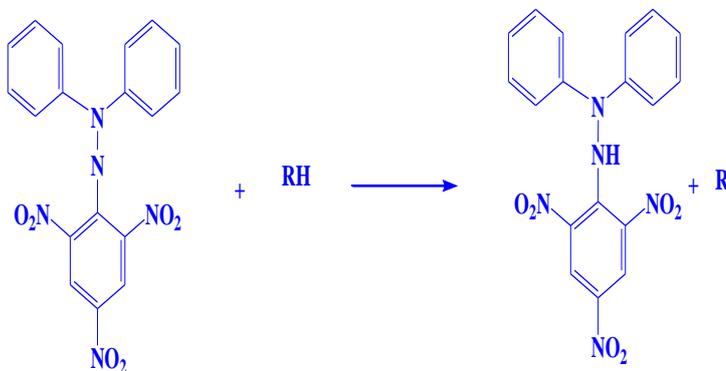
Après le calibrage de la balance on puse 4 mg de chaque extraits dans un épèndorphe ; puis on ajoute 1 mL de méthanol ; et on fait l'agitation ensuite on fait une gamme d'étalonnage de 1/1 jusqu'à 1/64.

3.3. Activité anti-oxydante *in vitro* :

On choisit quatre méthodes :

3.3.1. Piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH

Le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue



Transformation du radical DPPHo en DPPHH

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants[69].

Mode opératoire :

Préparation du DPPH :

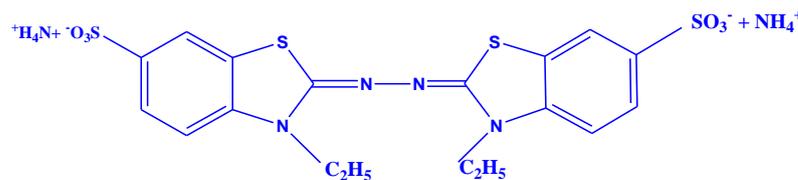
Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est (517 nm) dans le spectrophotomètre[69] .

Procédure :

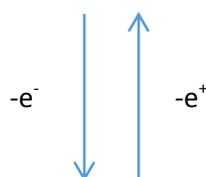
On met 160 μl DPPH + 40 μl extrait + attendre 30 min et dans l'obscurité + lecture à 517 nm

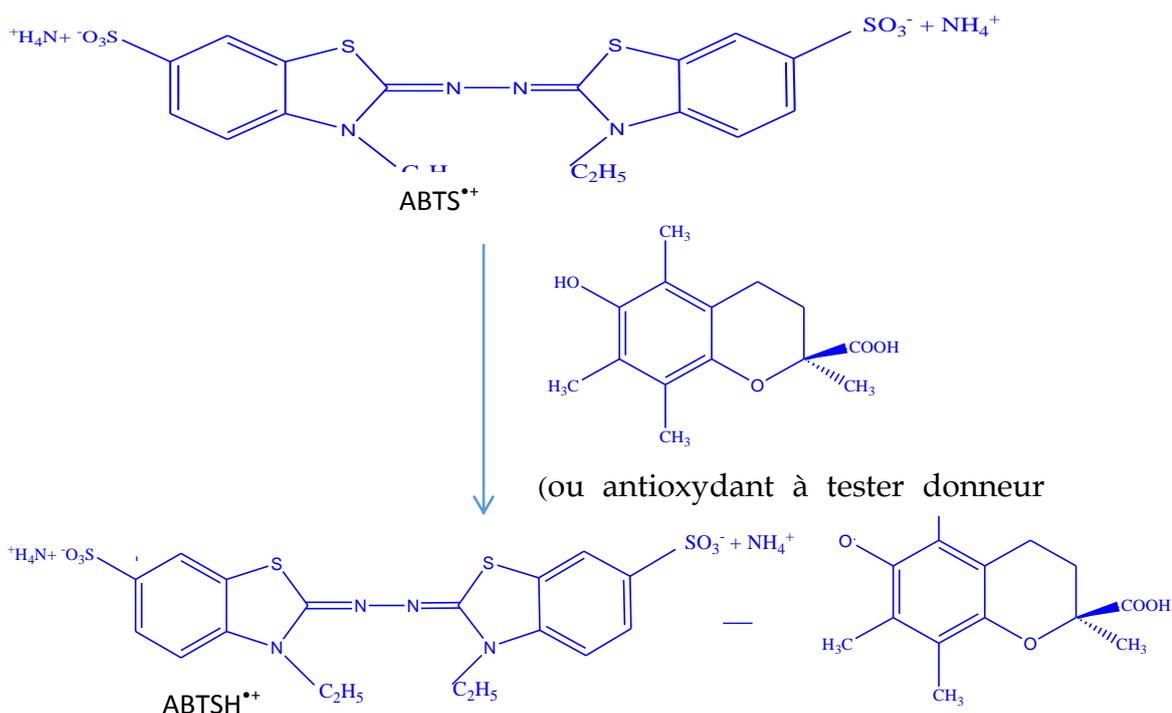
3.3.2. Activité ABTS :

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydant totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical $\text{ABTS}\bullet+$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence [70] .



ABTS: sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)





Procédure :

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 plus au moins 0.020 à 734 nm avant l'usage.

(ABTS⁺) → [19,2 mg (7 (mM) ABTS + 5 ml H_2O) + [3,3 mg (2,45 mM)($K_2S_2O_8$) + 5 mL H_2O] + attendre 16 heure à l'abri de la lumière

$M(\text{ABTS}) = 548,68 \text{ g/mol}$

$M(\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8) = 270,32 \text{ g/mol}$

La mesure de l'absorbance de l'ABTS avec le spectrophotomètre comme suit :

1 mL (ABTS) + 50 μl H_2O ----- 1,41 nm

1 mL (ABTS) + 75 μl H_2O ----- 0,98 nm

1 mL (ABTS) + 85 μl H_2O ----- 0,87 nm

1 mL (ABTS) + 90 μl H_2O ----- 0,83 nm

1 mL (ABTS) + 100 µl H₂O ----- 0,73nm

A = 0,70 - 0,75 nm de l'ABTS⁺

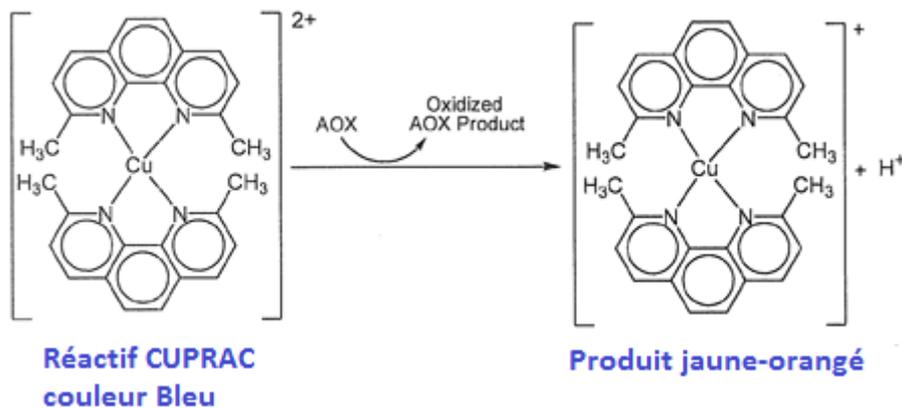
On met 160 µl (ABTS⁺) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm

L'activité ABTS⁺a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante[70]:

$$\text{ABTS}^+ \text{ scavenging effect (\%)} = (A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}} / A_{\text{Control}}) * 100$$

3.3.3. La méthode CUPRAC :

La méthode CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivie de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproéne (NC), cuivre (Cu⁺²) Nc²⁻-Cu⁺². En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproéne est réduit et cette réaction est quantifié spectrophotométriquement a une longueur d'onde de 450 nm[71].



Procédure :

Préparation des solutions:

- m = 1,927 g Acétate d'ammonium (ACNH₄) + 25 mL (H₂O) → S₁ transparent (PH=7.0)
- m = 0,046 g (Cu Cl₂, 2H₂O) + 25 mL (H₂O) → S₂ bleu
- m = 0,039 g (Neocupronin) + 25 mL (EtOH) → S₃

1- ajouter la solution S₁ au plat qui contient les extraits → pour lecture

2- mélanger la solution S₂ et S₃ → pour lecture

3- le CUPRAC prend une heure de temps pour lecture

On met 40 µl extrait+ 60 µl (S₁) + 50 µl (S₃) +50 µl (S₂) +attendre 1 heure+ lecture à 450nm[71].

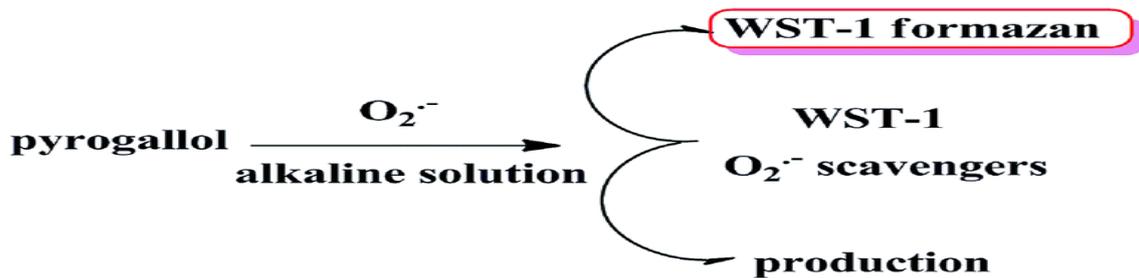
M(CuCl₂, 2H₂O) = 170,50 g/mol

M(ACNH₄) =77 g/mol

M(Neocupronin) = 208,27 g/mol

3.3.4.Superoxide DMSO alcalin :

Dans ce procédé, le radical superoxyde est engendré par l'addition d'hydroxyde de sodium à de l'air saturé de DMSO. Le superoxyde généré reste stable en solution et réduit tétrazolium nitrobleu (NBT) en colorant formazan à la température ambiante qui peut être mesurée à 560 nm[72].



Procédure :

On met 40 µl extrait + 130 µl DMSO alcalin (20 mg de NaOH est dissoute dans 1 ml de DMSO et compléter par le DMSO a 100 ml) + 30 µl NBT (10 mg dans 10 ml de l'eau distillé) + lecture à 560 nm[72].

Chapitre4 :
Résultats et discussions

4. Résultats et discussion

Quatre méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits d'éthanol (EEAH), acétate d'éthyle (EAAH) et chlorure de méthylène

CH_2Cl_2 (ECAH) d'*Artemisia herba-alba*.

4.1. Résultats

4.1.1. Evaluation de l'activité antioxydant par diphenyle-picarel-hydroxyle (DPPH)

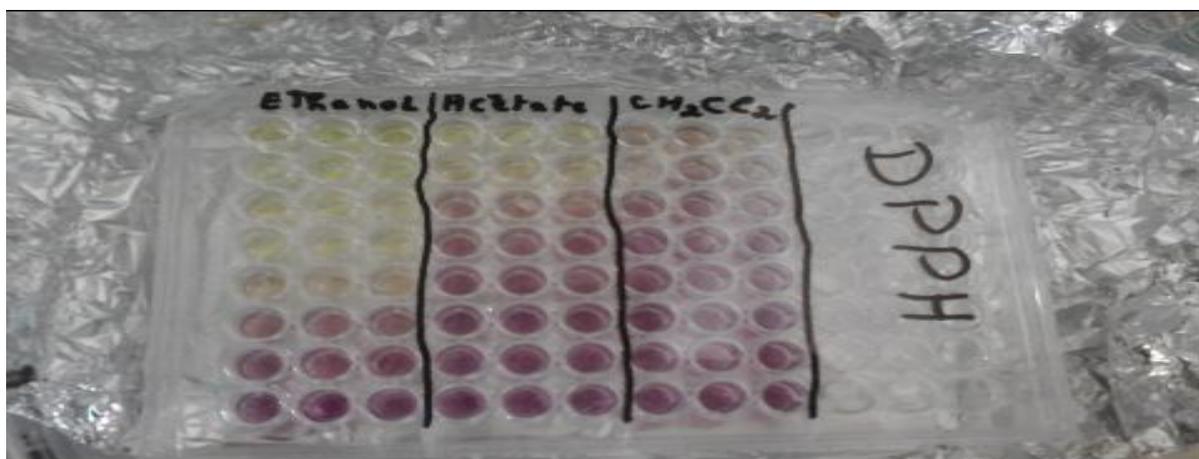


Figure 4.16 : Résultat de DPPH après l'incubation

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration.

Extraits	pourcentages d'inhibition de DPPH							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
EEAH	16.55±2.34	30.35±1.07	57.34±0.80	85.51±1.21	86.90±0.88	86.96±0.67	87.81±0.42	50.65±1.29
EAAH	3.56±0.09	9.71±1.82	12.44±1.11	24.47±1.67	40.40±0.91	69.21±1.39	81.45±3.72	262.34±7.91
ECAH	9.66±1.80	3.40±2.41	12.54±3.40	15.16±3.06	33.71±1.20	34.03±1.48	51.03±0.37	776.17±8.41
BHA	76,55± 0,48	79,89± 0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
BHT	49,09± 0,76	72,63± 2,06	88.73±0,89	94.00±0,31	94.97±0,08	95.38±0,41	95.02±0,23	12.99±0.41
α-Tocopherol	37,21±1,82	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13.02±5,17

Tableau 4.3 : activité anti oxydante avec le DPPH

4.1.2. Activité Superoxide DMSO alcalin



Figure 4.17 : Résultat de DMSO alcalin après l'incubation

Extraits	pourcentages d'inhibition de DMSO alcalin							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
EEAH	65.11±3.00	78.24±1.07	86.99±0.99	92.78±0.14	96.05±0.13	96.29±0.46	96.66±0.73	<12.5
EAAH	34.52±2.66	48.21±1.44	58.52±1.67	72.38±0.95	85.59±0.42	89.32±1.40	90.34±0.31	36.68±4.49
ECAH	22.63±2.14	28.46±0.00	38.19±0.00	60.68±1.12	74.49±2.08	82.55±1.82	86.17±3.01	81.03±2.50
BHT	92.66±0.42	94.98±0.85	96.53±0.23	96.95±0.81	97.54±0.68	/	/	< 3,125
BHA	85.1±1.36	89.48±0.88	94.76±0.28	96.62±0.29	96.86±1.53	/	/	< 3,125

Tableau 4.4 : Activité anti oxydante avec DMSO alcalin

4.1.3. Test de la capacité antioxydant par réduction du cuivre (CUPRAC)

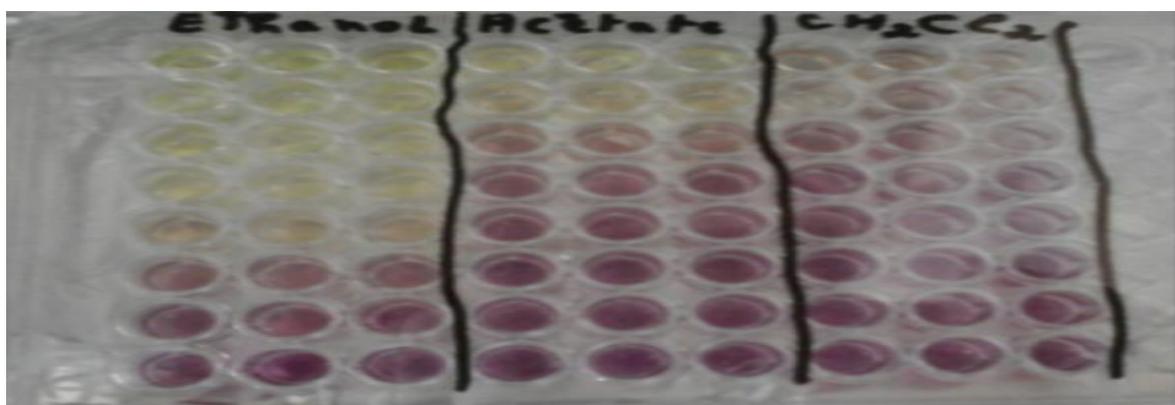


Figure 4.18 : Résultat de CUPRAC alcalin après l'incubation

Extraits	pourcentages d'inhibition de CUPRAC							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	A _{0.50} µg/mL
EEAH	0.24±0.01	0.35±0.00	0.57±0.06	1.03±0.04	1.60±0.07	2.65±0.34	3.33±0.11	41.23±1.49
EAAH	0.14±0.00	0.18±0.02	0.22±0.01	0.32±0.02	0.54±0.02	0.86±0.08	1.33±0.08	184.72±5.21
ECAH	0.17±0.09	0.14±0.00	0.18±0.01	0.25±0.02	0.38±0.01	0.55±0.01	1.00±0.03	340.66±6.98
BHA	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Tableau 4.5 : Activité anti oxydante avec CUPRAC

4.1.4. Activité ABTS



Figure 4.19 : Résultat de l'activité ABTS après l'incubation

Extraits	pourcentages d'inhibition d'ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
EEAH	45.43±1.28	76.22±1.21	91.01±2.10	91.55±0.21	92.15±0.10	92.39±0.18	92.58±0.18	14.35±0.48
EAAH	31.67±3.25	52.68±2.30	60.82±2.16	66.02±0.52	84.37±0.46	85.61±0.48	86.18±1.46	23.50±1.30
ECAH	23.76±1.25	53.40±1.05	72.47±4.70	78.15±0.64	84.91±0.55	88.11±0.69	88.95±2.04	29.84±2.26
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1.81±0.10

Tableau 4.6 : Activité anti oxydante avec ABTS

4.2. Discussion

4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydant par diphényle-picarel-hydroxyle (DPPH)

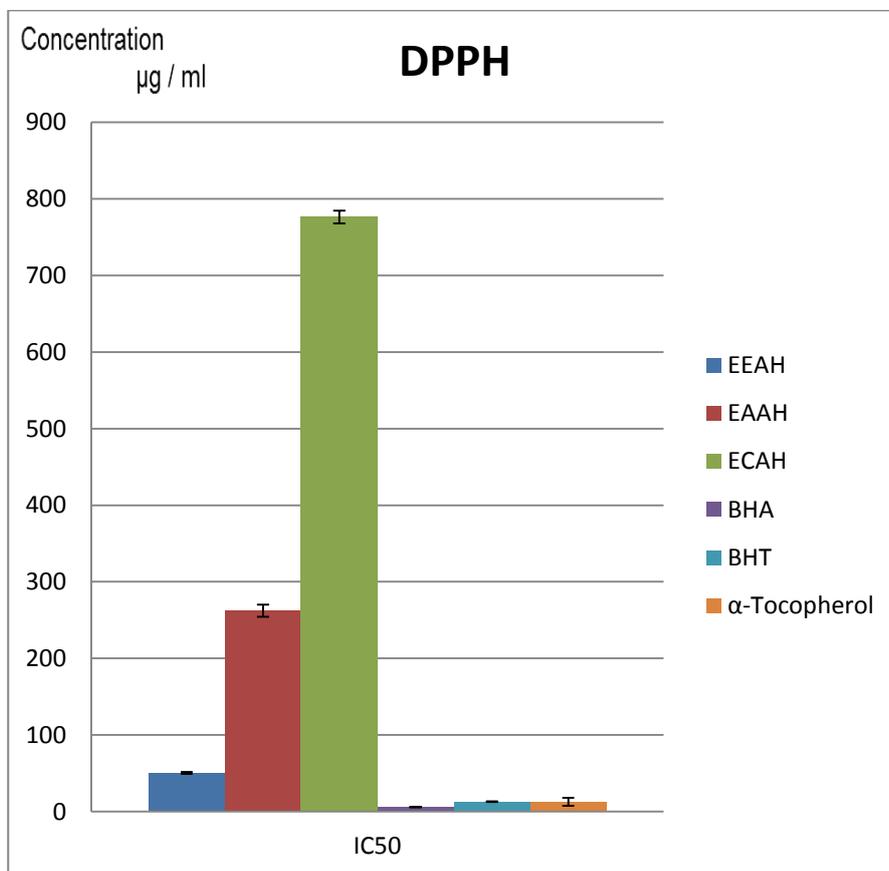


Figure 1 Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits d'*Artemisia herba alba*

L'EEAH ; L'EAAH et L'ECAH a présentés une faible activité anti radicalaire en comparaison avec le standard α -Tocopherol ($IC_{50} = 13.02 \pm 5,17$), L'EEAH a montré une activité inhibitrice du DPPH ($IC_{50} = 50.65 \pm 1.29 \mu\text{g.mL}^{-1}$) quatre fois moins faible que celle du α -Tocopherol, L'EAAH a montré une activité inhibitrice du DPPH ($IC_{50} = 262.34 \pm 7.91 \mu\text{g.mL}^{-1}$), Vingt fois moins faible que celle du α -Tocopherol et L'ECAH a montré une très faible activité inhibitrice du DPPH ($IC_{50} = 776.17 \pm 8.41 \mu\text{g.mL}^{-1}$) Soixante fois moins faible que celle du α -Tocopherol.

L'EEAH possède une bonne activité inhibitrice par rapport à EAAH et ECAH Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d'autres polyphénols.

4.2.2. Activité de Superoxyde DMSO alcalin

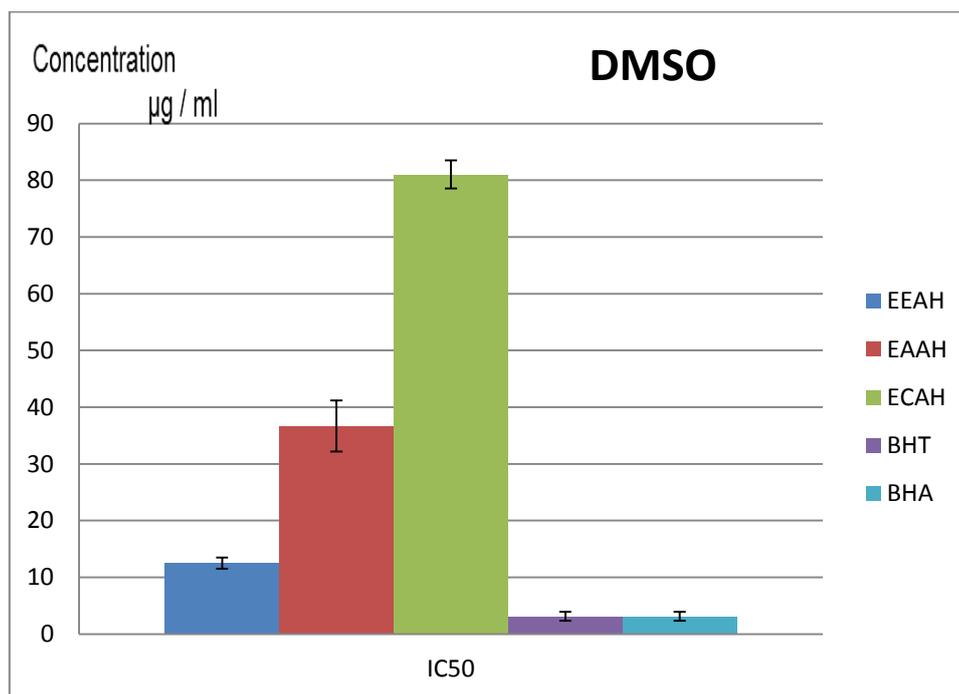


Figure 4.11 : Activité de Superoxyde DMSO alcalin des extraits de *Artemisia herba alba*

L' EEAH ; L' EAAH et L' ECAH a présentés une faible activité anti radicalaire en comparaison avec le standard BHA ($IC_{50} < 3,125 \mu\text{g.mL}^{-1}$) ; L' EEAH a montré une activité inhibitrice du DMSO ($IC_{50} < 12.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) quatre fois moins faible que celle du BHA; L' EAAH a montré une activité inhibitrice du DMSO ($IC_{50} = 36.68 \pm 4.49 \mu\text{g.mL}^{-1}$) douze fois moins faible que celle du BHA L' ECAH a montré une activité inhibitrice du DMSO ($IC_{50} = 81.03 \pm 2.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) vingt-six fois moins faible que celle du BHA.

Donc : L' EEAH possède une meilleur activité inhibitrice du DMSO par rapport à EAAH et ECAH Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d' autres polyphénols.

4.2.3. Test de la capacité antioxydant par réduction du cuivre (CUPRAC)

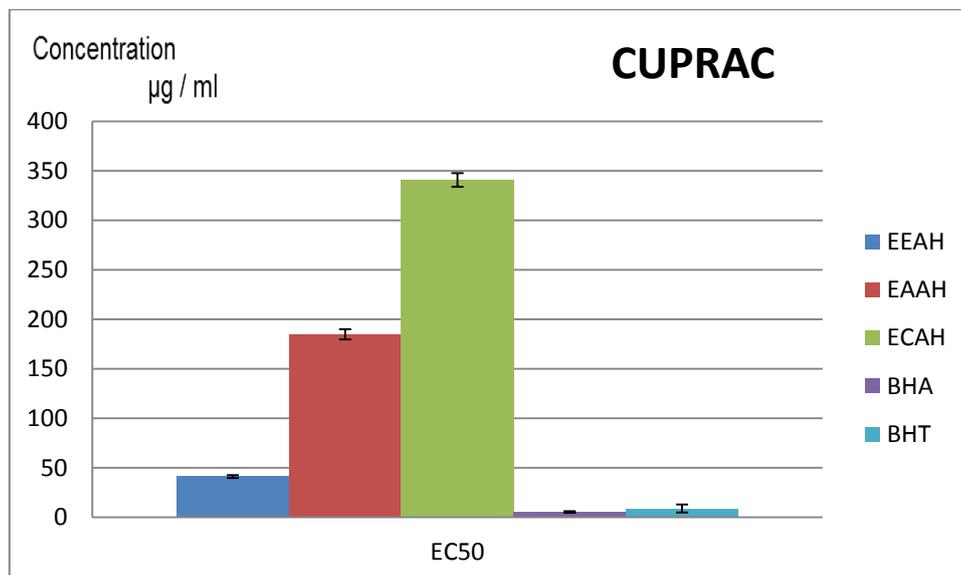


Figure 2 Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) des extraits de *Artemissia herba alba*

L' EEAH ; L'EAAH et L'ECAH a présentés une faible activité anti radicalaire en comparaison avec le standard BHT ($IC_{50}= 8.91\pm 3.94\mu g.mL^{-1}$), L' EEAH a montré une activité inhibitrice du CUPRAC ($IC_{50}= 41.23\pm 1.49\mu g.mL^{-1}$) cinq fois moins faible que celle du BHT, L' EAAH a montré une activité inhibitrice du CUPRAC ($IC_{50}= 184.72\pm 5.21\mu g.mL^{-1}$) vingt fois moins faible que celle du BHT, L' ECAH a montré une très faible activité inhibitrice du CUPRAC ($IC_{50}= 340.66\pm 6.98\mu g.mL^{-1}$) trente-huit fois moins faible que celle du BHT.

Donc : L'EEAH possède une meilleur activité inhibitrice du (CUPRAC) par rapport à EAAH et ECAH Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d'autres polyphénols.

4.2.4. Activité ABTS

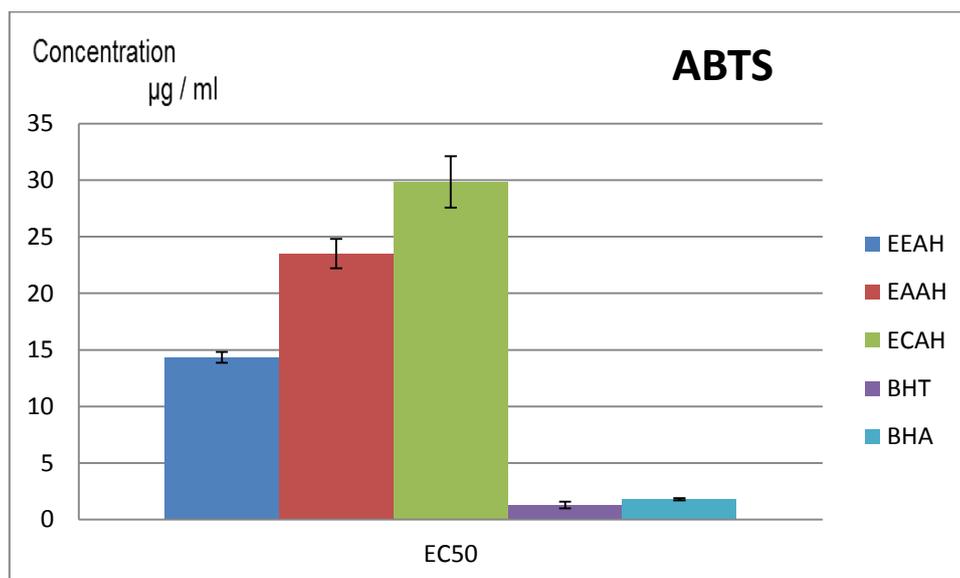


Figure 3 Test ABTS des extraits d' *Artemisia herba alba*

L' EEAH ; L'EAAH et L'ECAH a présentés une faible activité anti radicalaire ABTS en comparaison avec le standard BHA ($CI_{50} = 1.81 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{mL}$) , L'EEAH a montré une activité inhibitrice du radical ABTS ($CI_{50} = 14.35 \pm 0.48 \mu\text{g}/\text{mL}$) huit fois moins faible que celle du BHA , L'EAAH a montré une activité inhibitrice du radical ABTS ($CI_{50} = 23.50 \pm 1.30 \mu\text{g}/\text{mL}$) treize fois moins faible que celle du BHA , L'ECAH a montré une activité inhibitrice du radical ABTS ($CI_{50} = 29.84 \pm 2.26 \mu\text{g}/\text{mL}$) seize fois moins faible que celle du BHA.

Donc : L'EEAH possède une meilleur activité inhibitrice du ABTS par rapport à EAAH et ECAH Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d'autres polyphénols.

4.3. Conclusion

L'extrait éthanoïque (EEAH) de l'espèce *Artemisia herba alba* possède une bonne activité anti oxydante par rapport à l'extrait d'acétate (EAAT) et l'extrait de chlorure de méthylène (ECAT) .

Conclusion

Conclusion

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du stress oxydant pathologique. Notre travail porte sur l'étude de l'espèce *Artemisia herba alba* qui appartient à la famille des Asteraceae. C'est l'une des familles les plus importantes dans la région méditerranéenne, et le plus utilisé dans la médecine traditionnelle. L'étude de l'activité antioxydante des extraits selon la méthode du radical libre DPPH, DMSO alcalin, CUPRAC et ABTS a montré que l'extrait d'éthanol possède une activité antioxydante importante. Les propriétés antioxydantes d'*Artemisia herba alba* seraient liées à la présence de composés phénoliques et les flavonoïdes.

Les perspectives: pour bien déterminer l'activité anti oxydante de **Artemissia herba alba** on peut faire autre activités comme: Activité de blanchissement du β -carotène et

Pouvoir réducteur .

Références bibliographique

- [1] **Barouki Robert. (2006).** Stress oxydant et vieillissement *.MEDECINE/SCIENCES.* (22) : 266-72. Article disponible sur le site <http://www.medecinesciences.org> ou <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2006223266>.
- [2] **Iuchi Yoshihito. (2012).** Anemia Caused by Oxidative Stress, Anemia, Dr. Donald Silverberg (Ed.), ISBN: 978- 953-51-0138-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/anemia/anemia-caused-byoxidative-stress>.
- [3] **Scheibmeira H D., Christensena Katie., Whitakera Sally H., Jegaethesana Jay., Richard Clancyb., Janet D Pierce. (2005).** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21, 24—28.
- [4] **Kohen Ron., Nyska Abraham. (2002).** Oxydation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quanti.
- [5] **Cillard Josiane., Cillard Pierre. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations ; Article disponible sur le site <http://www.ocl-journal.org> ou <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2006.6666>. 13 (1) :24-29 .janvier-février.
- [6] **Park Sun Young., Youm Ji Hyun., Jung Kyoung Chul., Uy Dong Sohn. (2008).** Department of Pharmacology, College of Pharmacy, University of Chung-Ang, Seoul 156-756, Korea. *Arch Pharm Res*, 31(12) : 1552-1558.
- [7] **Hawkins C L., Pattison D I., Davies M. J. (2003).** Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins ; The Heart Research Institute, Free Radical Group, Camperdown, Sydney, Australia ; *Springer-Verlag* ; *Amino Acids* 25: 259–274.
- [8] **Astier Jeremy., Inonge Gross., Jörg Durner. (2017).** Nitric oxide production in plants: an update. *Journal of Experimental Botany*.

- [9] **Pacher Pál., Beckman Joseph S., et Lucas liaudet. (2007).** Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease, Published in final edited form as: *Physiol Rev*, 87(1): 315–424.
- [10] **Vergely Catherine., Rochette Luc. (2003),** Rappels sur la biochimie radicalaire et sur le stress oxydatif ; Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire.1 (3) 131-139.
- [11] **Pascual-Ahuir Amparo., Manzanares-Estreder Sara., Proft Markus. (2017).** Pro- and Antioxidant Functions of the Peroxisome-Mitochondria Connection and Its Impact on Aging and Disease ; *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, P : 17.
- [12] **Russell Eileen G., Cotter Thomas G. (2015).** New Insight into the Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cellular Signal-Transduction Processes. 319 : 1937-6448
- [13] **Briones Ana M., Touyz Rhian M. (2010).** Oxidative Stress and Hypertension: Current Concepts. *Curr Hypertens Rep.* (12):135–142.
- [14] **Sachdev Sean., Davies Kelvin J A. (2008).** Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise ; *Free Radical Biology & Medicine*, 44 : 215–223.
- [15] **Damien Maggiorani., Nicola Manzella., Dale E Edmondson., Andrea Mattevi., Angelo Parini., Claudia Binda., Jeanne Mialet-Perez. (2017).** Monoamine Oxidases, Oxidative Stress, and Altered Mitochondrial Dynamics in Cardiac Ageing. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* (8) :3017947.
- [16] **Morena M., Martin-Mateo M., Cristol J-P., Canaud B. (2002).** Stress oxydant, Hemo-incompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 :201-208.
- [17] **Bennamara Fatima zahra. (2017).** stress oxydant Et pathologies humaines. *Thèse Université Mohammed V-Rabat, Faculté De Médecine Et De Pharmacie-Rabat.*

- [18] **Koechlin-Ramonatxo Christelle. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 :165–177.
- [19] **Favier Alain. (2003).** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*.108-115.
- [20] **Therond P. (2006).** Stress oxydant Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant ; Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. *Ann Pharm Fr*, 64 : 383-389.
- [21] **Blandine G. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodine. *hal archive ouverte. These pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourier.*
- [22] **Cadet Jean., Douki Thierry., Gasparutto Didier., Ravanat Jean-Luc. (2003).** Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research*. (531) :5–23.
- [23] **Noori S. (2012).** An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. Muhammad Bin Qasim Medical & Dental College, Karachi, Pakistan. *Open Access Scientific Reports*.
- [24] **Pincemail J., Heusele C., Bonté F., Limet R., Defraigne J.O. (2001).** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement ; Act. Méd. Int. - *Métabolismes - Hormones - Nutrition*, 4.
- [25] **Scheibmeira H D., Christensena Katie., Whitakera Sally H., Jegaethesana Jay., Richard Clancyb., Janet D Pierce. (2005).** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21, 24—28.

- [26] **Daniel Tietze., corresponding., Jana Sartorius., Banabithi Koley Seth., Kevin Herr., Pascal Heimer., Diana Imhof., Doreen Mollenhauer., Gerd Buntkowsky. (2017).** New insights into the mechanism of nickel superoxide degradation from studies of model peptides. *Sci Rep.* (7): 17194.
- [27] **Lomri. Abderrahim. (2008).** Role of reactive oxygen species and superoxide dismutase in cartilage aging and pathology. *Future Rheumatol*, 3(4). 381-392.
- [28] **Ighodaro O M., Akinloye O A. (2017).** 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*.
- [29] **Grek Christina L., Zhang Jie., Yefim Manevich., Danyelle M Townsend., Kenneth D Tew. (2013).** Causes and Consequences of Cysteine S-Glutathionylation. *J Biol Chem.* 13 :288(37): 26497–26504.
- [30] **Taillé C., Lanone S., Aubier M., Boczkowski J. (2002).** Stress oxydant et diaphragme : rôle dans la défaillance contractile au cours du sepsis. *Revue des Maladies Respiratoires*, (19)5 : 593-599.
- [31] **Jiawen Fan., Gezhi Xu., Tingting Jiang., Yaowu Qin. (2012).** Pharmacologic Induction of Heme Oxygenase-1 Plays a Protective Role in Diabetic Retinopathy in Rats ; *IOVS*, (53) : 10.
- [32] **Rahman Khalid. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors ; *Published online*, 2(2): 219–236.
- [33] **Aprioku Jonah Sydney. (2013).** Pharmacology of Free Radicals and the Impact of Reactive Oxygen Species on the Testis. *J Reprod Infertil*, 14(4): 158–172.

- [34] **Descamps E., Gelé P., Bordet R., Vamecq J. (2006).** Modulation pharmacologique du stress oxydatif Pharmacological control of oxidative stress . *La Lettre du Pharmacologue*. (20) : 4.
- [35] **Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L., Had-Aissouni L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale; *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24 502–509.
- [36] **Xavier Leverage. (2009).** Stress oxydant et antioxydants. *cahiers de nutrition et de diététique*, 44.219-224. Page 220.
- [37] **Oroian Mircea., Escriche Isabel. (2015).** Antioxydants: Characterization, natural sources, extraction and analysis ; *Food Research International* 74 :10–36.
- [38] **A.-M. Roussel et M. Ferry, (2002).** « Stress oxydant et vieillissement », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 16, no 4, p. 285–291.
- [39] **A. Messai, (2015).** « Utilisation de l'armoise et de l'eau de riz en traitement adjuvant de la coccidiose chez le poulet de chair ».
- [40] **QUEZEL Pierre ,SANTA.S, NOUVELLE FLORE DE L'ALGERIE et des REGIONS DESERTIQUES MERIDIONALES.p.988-989.**
- [41] **Nabli M. A et MAB 198, (1989).** « Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes,tome I. Ed.186-188 p. ».
- [42] **J. Friedman et G. Orshan,(1975)** « The distribution, emergence and survival of seedlings of *Artemisia herba-alba* Asso in the Negev desert of Israel in relation to distance from the adult plants », *J. Ecol.*, p. 627–632.
- [43] **J. Friedman et G.cool,(1986)** « The distribution, emergence and survival of seedlings of *Artemisia herba-alba* Asso in the Negev desert of Israel in relation to distance from the adult plants », *J. Ecol.*, p.162-175.

- [44] **Abouelhamd Hassan Mohamed, Magdi El-Sayed, Mohamed F Hegazy, Soleiman E. Helaly, janv-(2010).** « Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba* ».
- [45] **R. Segal, L. Eden, A. Danin, M. Kaiser and H. Duddeck (1984).** Sesquiterpene lactones from a further population of *Artemisia Herba-alba*. *Phytochemistry*, 23(12), 2954-2956.
- [46] **J. F. Sanz, G. Castellano and J. A. Marco (1990).** Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 29 (2), 541-545.
- [47] **A. A. Ahmed, M. Abou-El-Ela, J. Jakupovic, A. A. Seif El-Din and N. Sabri (1990).** Eudesmanolides and other constituents from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 29 (11), 3661-3663.
- [48] **D. Boriky, M. Berrada, M. Talbi, G. Keravis and F. Rouessac (1996).** Eudesmanolides from *Artemisia herba alba*. *Phytochemistry*, 43 (1), 309-311.
- [49] **M. Laid, M-E. F. Hegazy and A. A. Ahmed (2008).** Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herbaalba*. *Phytochemistry lett.*, 1, 85-88.
- [50] **N. A. M. Saleh, S. I. El-Negoumy and M. M. Abou-Zaid (1987).** Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*. 26 (11), 3059-3064.
- [51] **S. M. Salah and A. K. Jager (2005).** Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* Asso with in vitro GABA benzodiazepine receptor activity. *J. of Ethnopharmacol.* 99, 145-146.
- [52] **R. Segal, D. Cohen, S. Sokoloff and D. V. Zaitschek (1973).** New flavone from *Artemisia herba-alba*. *Lloydia*, 36(1), 103-5.
- [53] **J. Yashphe, I. Feuerstein, S. Barel and R. Segal (1987).** The antibacterial and antispasmodic activity of *Artemisia herba-alba* Asso. II. Examination of essential oils from various chemotypes. *Int. J. Crude-Drug-Res.* 25 (2), 89-96.

- [54] **Z. Fleisher, A. Fleisher and R. B. Nachbar (2002)**. Chemovariation of *Artemisia herba-alba* Asso. Aromatic plants of the Holy land and the Sinai. Part XVI. J. Essen. Oil Res., 14, 156-160.
- [55] **R. Segal, A. Breuer and I. Feuerstein (1980)**. Irregular monoterpene alcohols from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **19**, 2761-2762.
- [56] **I. Feuerstein, D. Mueller, K. Hobert, A. Danin and R. Segal (1986)**. Constitution of essential oils from *Artemisia herba-alba* populations of Israel and Sinai. *Phytochemistry*, **25**, 2343-2347.
- [57] **A. M. El-Sayed and A. A. Seida (1990)**. Comparative study of the major constituents of the essential oils of wild and cultivated Egyptian *Artemisia herba-alba* with those of plants produced abroad. *Bull. Fac. Pharm.(Cairo Univ.)*, **28**, 57-58.
- [58] **M. Hurabielle, M. Malsot and M. Paris (1981)**. Chemical study of two oils from wormwood; *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia vulgaris* Linnaeus of chemotaxonomic interest. *Riv. Ital. EPPOS*, **63**, 296-299.
- [59] **G. Vernin and C. Parkanyi (2001)**. GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso. from Algeria, Nonpolar and polar extracts. *Riv. Ital. EPPOS*, **32**, 3-16.
- [60] **N. Dahmani-Hamzani and A. Baaliouamer (2005)**. Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa. *Riv. Ital. EPPOS*, **40**, 7-13.
- [61] **T. Dob, T. Benabdelkader (2006)**. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *J. Essen. Oil Res.*, **18**, 685-690.
- [62] **B. M. Lawrence (1993)**. Armoise oil, in: *Essential oils 1988-1991*. edit., Natural Flavor and Fragrance materials "perfumer & Flavorist", p. 52-54, Allures publ. corp., carol stream, IL.
- [63] **A. Maugini (1930)**. Some plants of Cyrenaica. *Agr. coloniale (Florence)*, **24**, 74-77,127-131,189-191.

- [64] **A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker and N. Vidal (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660.
- [65] **A. Amr (1995).** Antioxidative role of some aromatic herbs in refrigerated ground beef patties. *Pure and Applied Sciences*, 22B(6), 1475-1487.
- [66] **A. H. Al-Mustafa and O. Y. Al-Thunibat (2008).** Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak. J. of biol. sci.: PJBS*, 11(3), 351-8.
- [67] **Z. B. Abid, M. Feki, A. Hédhili and M. H. Hamdaoui (2007).** *Artemisia herba-alba* Asso (Asteraceae) has equivalent effects to green and black tea decoctions on antioxidant processes and some metabolic parameters in rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 51, 216-222.
- [68] **S. M. Suboh, Y. Y. Bilito and T. A. Aburjai (2004).** Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother. Res.*, 18(4), 280-4.
- [69] **Blois, M.S, (1958).** « antioxydant déterminations by the use of a stable free radical. *nature*, 26 1199-1200 ».
- [70] **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999),** « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231-1237. »
- [71] **Apak, R., Guclu", K., Ozyurek, M., & Karademir, S, (2004).** « Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981. » S.
- [72] **K. Elizabeth and M.N.A. Rao (1990).** Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm.* 58, 237-240

Pouvoir antioxydant de l'espèce *Artemisia herba alba*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliqué

Résumé :

L'objectif principal du présent travail était d'évaluer les activités antioxydantes *in vitro* des extraits éthanoïques, d'acétate d'éthyle et chlorure de méthylène d'*artémisia herba-alba*. Pour mesurer leurs activités antioxydants, quatre méthodes ont été réalisées: DPPH, DMSO alcalin, CUPRAC et l'activité ABTS *in vitro*. Comparé à des différents standards utilisés dans chaque méthodes (α -Tocopherol ,BHA;BHT) les résultats ont révélé que l'extrait d'éthanol possède une activité antioxydant significative, leur valeur IC₅₀ en DPPH est (IC₅₀=262.34±7.91 μ g.mL⁻¹),Vingt fois moins faible que celle du α -Tocopherol ,en DMSO alcalin (IC₅₀<12.5 μ g.mL⁻¹) quatre fois moins faible que celle du BHA, en CUPRAC (IC₅₀= 184.72±5.21 μ g.mL⁻¹) vingt fois moins faible que celle du BHT et en ABTS (CI₅₀ =23.50±1.30 μ g/mL) treize fois moins faible que celle du BHA.

L'extrait éthanoïque de l'espèce *Artemisia herba alba* possède une bonne activité anti oxydante par rapport à l'extrait d'acétate et l'extrait de chlorure de méthylène. Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycosylés qui ont été isolés et à d'autres polyphénols.

Mots clés : Aartémisia herba-alba, DPPH, CUPRAC, DMSO alcalin , ABTS, flavonoïdes glycosylés ,polyphénols.

Laboratoire de recherche : laboratoire 02 de centre national de recherche en biotechnologie (CRBT).

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUANIMBA NOUR (MCA Université des frères Mentouri Constantine)

Rapporteur : KITOUNI RACHID (MAA Université des frères Mentouri Constantine).

Examinatrice : HAROUNI SOUFIANE (MAA Université des frères Mentouri Constantine)

Date de soutenance : 01/07/2018