



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Republique algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Domaine : Science de la nature et de la vie

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE
D'UNE PLANTE MEDICINALE *ARTEMISIA JUDAICA***

❖ Présenté et soutenu par :

Le : 09 / 07 / 2019

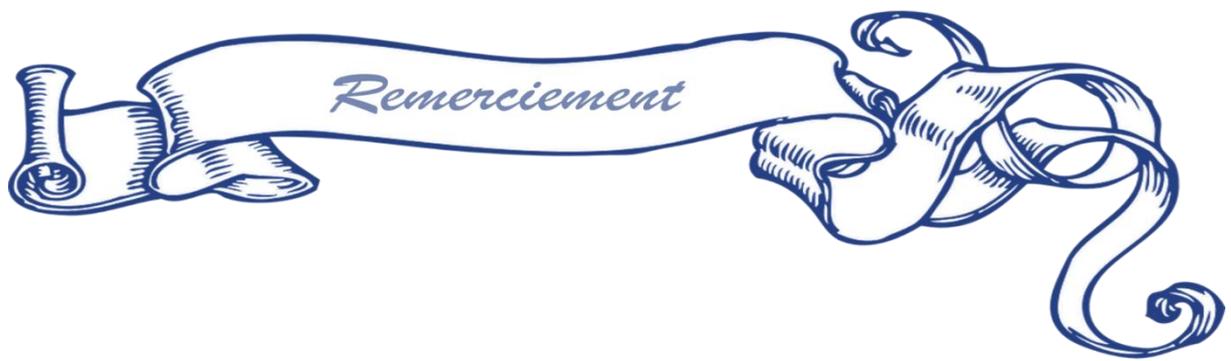
- BOUTITI Kaouther
- ZELLAGUI Oualid

❖ Jury d'évaluation :

- Président du jury : Mr. MOKRANI. E . H (M.A.A - UFM Constantine 1)
- Encadreur : Mr. RAHMANI. A (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine)
- Co-encadreur: Mr. KASHI. I (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine)
- Examineur : Dr. BENSOUICI. C (M.R.B – C.R.Bt. Constantine)

Année universitaire

2018 - 2019



Après avoir rendu grâce à *Allah* le tout-puissant et le Miséricordieux, nous tenons à remercier vivement tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce document.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur *Mr. RAHMANI Abdel Rahmen* et Co-encadreur *Mr. KASHI Imed* pour leur suivi et leur énorme soutien qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer tout au long de la période du projet.

Nous tenons aussi à remercier *Dr. MEGHIT BOUMEDIENE Khaled* Professeur à l'Université Djillalili Abes, faculté des sciences naturelles et de la vie, département de biologie, Sidi-Bel-Abbès, *Melle. BOULACHFAR Safia* doctorante aux départements de biochimie appliquée et biologie cellulaire et moléculaire, et *Dr. Asma BAKIRI* maître de conférence "B" département de biologie animale, faculté des sciences de la Nature et de la vie, université des frères Mentouri Constantine 1 pour le temps qu'ils nous ont consacré et pour leurs précieuses informations qu'ils nous ont prodiguées avec intérêt et compréhension.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail :

Mr. MOKRANI El hassen maître-assistant classe A, département de biochimie appliquée et biologies cellulaires et moléculaires, faculté des sciences de la nature et de la vie, université frères Mentouri Constantine 1

Dr. BENSOUICI Chawki, maître de recherche de classe B, responsable du laboratoire biochimie du centre de recherche C.R.Bt

Nos remerciements vont aussi à tout le personnel que nous avons rencontré durant notre stage au sein du Centre national de recherche de biotechnologie, et un spécial remerciement aux membres du laboratoire « analyse et contrôle de qualité » *DERDOUR Mouna*, *OUF-FROUKH Karima*, *HOUASSNIA Mourad* et *AIDI Bilel* auprès desquelles nous avons trouvé l'accueil chaleureux, l'aide et l'assistance dont nous avons besoin.





Dédicace Kouther

Je dédie ce travail

À ma famille elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui particulièrement :

À mon père Pour le gout à l'effort qu'il a suscité en moi de par sa rigueur

À toi ma mère Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternelle amour, que ce document soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir

*À vous mes frères **Didine, Nasrou, Zinou** qui m'avez toujours soutenu et encouragée durant ces années d'études*

*À la famille **nia** qui m'a apporté l'aide et le soutien dont j'avais besoins*

*A mon binôme **Walid** pour son entente et sa sympathie*

*À mes amis **Rania, Wahiba, Linda, Karima** et **Rayenne, Houda, Romi, Nihed, Lina, Wahiba** qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès*

Et aussi à mes Collègues étudiantes issues de la promotion 2019

Et à tous ceux que j'aime

Merci.





Dédicace Walid

Je dédie ce projet à

*À m'a mère **Meirieme** qui n'a cessé, de formuler des prières à mon
égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes
objectifs*

*À la mémoire de mon père qui m'a toujours poussé et motivé dans mes
études. Puissent dieu, le tout puissant, l'avoir dans sa sainte miséri-
corde*

*À mes frères et sœur pour leurs soutiens moraux et conseils précieux
tout au long de mes études*

*À mes chères amies **Abde el mouman, Fatahi, Karim et Rania, Kaou-
ther** pour leurs aides et supports dans les moments difficiles*

À mes collègues étudiantes issues de la promotion 2019

Et à tous ceux que j'aime

Merci.



Tables des matières

Introduction générales.....	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Etude botanique.....	2
I.1.1 Généralité.....	2
I.1.2 Systématique de la plante.....	2
I.1.3 Description de la plante.....	3
I.1.4 Distribution géographique.....	3
I.1.5 Composition chimique.....	3
I.1.6 Activité biologique et thérapeutique.....	3
I.2 Métabolites secondaires.....	4
I.2.1 Généralité.....	4
I.2.2 Classification.....	4
I.2.2.1 Composés phénoliques.....	5
I.2.2.2 Terpènes.....	7
I.2.2.3 Alcaloïdes.....	8
I.3 Activité biologique.....	9
I.3.1 Stress oxydant.....	9
I.3.1.1 Espèces réactives de l'oxygène.....	10
I.3.1.2 Mécanisme de production des ERO.....	11
I.3.1.3 Cible des ERO.....	12
I.3.1.4 Maladies liées au stress oxydant.....	13
I.3.2 Activité antioxydante.....	13
I.3.2.1 Système de défense enzymatique.....	14
I.3.2.2 Système antioxydant non enzymatique.....	15
I.3.2.3 Méthode de dosage de l'activité antioxydant.....	16

I.3.3 Activité enzymatique	16
I.3.3.1 Diabète sucré	16
I.3.3.2 α -amylase et α -glucosidase.....	17
I.3.3.3 Maladie d'Alzheimer.....	17
I.3.3.4 Acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase	17

Chapitre II : Matériels et méthodes

II .1 Matériels.....	18
II.1.1 Matériels végétal.....	18
II.2 Méthodes	18
II.2.1 Préparation des extraits.....	18
II.2.2 Criblage phytochimique	21
II.2.3 Dosage des polyphénols et flavonoïdes.....	23
II.2.4 Activités biologiques	24
II.2.4.1 Activités antioxydante.....	24
II.2.4.2 Test enzymatique	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III .1 Rendement d'extraction	32
III.2 Criblage phytochimique.....	33
III.3 Teneur en flavonoïdes et polyphénols totaux	35
III.4 Activités biologique de la plantes	39
III.5 Activité antioxydant.....	40
III.6 Activité enzymatique	47
Conclusion.....	52

Référence bibliographique

Annexe

Résumer

Liste des figures

Figure 1 <i>Artemisia judaica</i> L.....	2
Figure 2 Biosynthèse des composés phénoliques.	5
Figure 3 Classification et exemple de flavonoïdes et de leurs structures chimiques. Les structures chimiques de chacune des six classes de flavonoïdes sont présentées à titre d'exemple	6
Figure 4 Biosynthèse des composés terpéniques.....	8
Figure 5 Structure 3D de deux alcaloïdes : la morphine et la quinine.	9
Figure 6 Illustration simplifiée des relations entre les ERO et les AOX.	10
Figure 7 Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	12
Figure 8 Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène.....	13
Figure 9 Structure du tripeptide le glutathion réduit (GSH)	15
Figure 10 Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.....	16
Figure 11 Broyage de la plante par l'appareil MF 10 basic Micro-broyeur.....	18
Figure 12 Illustration des étapes de pesé et de macération de la plante.	19
Figure 13 Illustration des étapes de filtration (a), d'évaporation à pression réduite (b), et de dissolution dans appareil ultrason (e) ainsi que l'extrait brut (c) et l'extrait aqueux (d).	19
Figure 14 Illustration des différentes fractions après décantation.....	20
Figure 15 Schéma illustrant les différentes étapes d'extraction.	21
Figure 16 Illustration de l'appareil Perkin Elmer et d'une plaque à 96 puits.....	24
Figure 17 Formation de l' ABTS ⁺	25
Figure 18 Réaction du radical stable DPPH avec un composé antiradicalaire (AH)	26
Figure 19 Réaction du complexe néocuproïne avec un antioxydant	27
Figure 20 Réaction du radical GOR avec un antioxydant.....	27
Figure 21 Hydrolyse du PNPG en présence de l' α -glucosidase.....	29
Figure 22 Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman.....	30
Figure 23 Les Rendements en % des différents extraits.....	32
Figure 24 Dosage des polyphénols (b) et flavonoïdes (a).	36
Figure 25 Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	36

Figure 26 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	37
Figure 27 Histogramme présente les différents teneurs en flavonoïdes des différents extraits.	37
Figure 28 Histogramme présente les teneuses en polyphénols des différents extraits.....	38
Figure 29 Comparaison entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes.	39
Figure 30 Test du DPPH sur microplaque.....	40
Figure 31 Valeurs des CI_{50} au test DPPH.....	40
Figure 32 Corrélation entre la teneur en polyphénols et les valeurs des CI_{50} des extraits.	41
Figure 33 Test ABTS sur plaque à 96 puits	42
Figure 34 Valeur d' CI_{50} pour le test ABTS.	42
Figure 35 Comparaison entre les valeurs d' CI_{50} de l'ABTS des différent extrait et celle des composée phénolique et flavonoïdes.....	43
Figure 36 Profil de microplaque obtenu du GOR.	44
Figure 37 Valeur des CI_{50} dans le test GOR.....	44
Figure 38 Profil de microplaque obtenu d'CUPRAC.	45
Figure 39 Valeur d' $A_{0.5}$ pour le test CUPRAC.	45
Figure 40 Valeur d' $A_{0.5}$ du test phénanthroline.....	46
Figure 41 Profil de microplaque obtenu d'ACHE (a) et BCHE (b).....	47
Figure 42 Histogramme des valeurs d' CI_{50} du test BChE.....	48
Figure 43 Profil de microplaque obtenu d' α -amylase.	49
Figure 44 Profile de microplaque obtenue de l' α -glucosidase.	50
Figure 45 Valeur d' CI_{50} du standard acarbose et les différents extraits.....	50

Liste des tableaux

Tableau 1 Classification qu'occupe <i>Artemisia judaica L</i>	2
Tableau 2 Pourcentages les plus marquants des composés chimiques de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> d'origine algérienne	4
Tableau 3 Différent terpène ainsi que leur différent effet pharmacodynamique	7
Tableau 4 Principales espèces réactives	10
Tableau 5 Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant	14
Tableau 6 Aspects et couleurs des différents extraits d' <i>A. judaïca</i>	32
Tableau 7 Résultats du criblage phytochimique des quatre extraits.	33
Tableau 8 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de la quercétin	I
Tableau 9 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	II
Tableau 10 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	III
Tableau 11 Différent volume utilisé pour chaque degré de pH.	IV
Tableau 12 Schéma de la plaque de l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase	IV
Tableau 13 Activité antioxydante du test Phenanthroline.....	VII
Tableau 14 Activité antioxydante du test galvinoxyl.....	VII
Tableau 15 Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.....	VIII
Tableau 16 Activité antioxydante par le test DPPH.....	VIII
Tableau 17 Activité antioxydante par le test ABTS.....	IX
Tableau 18 Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase.....	IX
Tableau 19 Teste inhibiteur de l' α - d'amylase	X
Tableau 20 Activité antioxydante par l'essai CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity).	X
Tableau 21 Teste inhibiteure de l' α -glucosidase.....	XI
Tableau 22 Teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes.....	XI

Liste des abréviations

%: pourcentage.

[]: concentration

%INH: pourcentage d'inhibition.

°OH: radical hydroxyle.

µg/mL: microgramme par millilitre.

¹O₂: oxygée singulet.

Abs: absorbance

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

ACh: acétylcholine.

AChE: acétylcholinestérase.

ADN: acide désoxyribonucléique.

Al³⁺: ion aluminium.

AOX: les agents antioxydants.

BChE: butyrylcholinestérase.

BHA: l'hydroxyanisole butylé.

BHT: l'hydroxytoluène butylé.

Cl⁻: chlorure.

Cu: cuivre.

CUPRAC: pouvoir antioxydant réducteur de l'ion cuivrique.

DPPH: diphenyl-picrylhydrazyle.

DTNB: 5,5'-Dithiobis(2-nitro-benzoic acid).

EAAJ: extraits acétate d'éthyle d'*artemisia judaica*

EBAJ: extraits n- butanol d'*artemisia judaica*

EDAJ: extraits dichlorométhane d'*artemisia judaica*

EMAG: extraits méthanolique d'*artemisia judaica*

ERO: espèces réactives de l'oxygène.

F: fraction

FADH₂: flavine adénine dinucléotide.

FCR: Folin-Ciocalteu.

Fe³⁺: fer ferrique.

Fe²⁺: fer ferreux.

FeCl₃: chlorure ferrique.

FMNH₂: flavine mononucléotide.

GAE: acide galique.

GOR: galvinoxyl.

GPxs: glutathion peroxydases.

GSH: glutathion réduit.

GSSG: glutathion oxydé.

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène.

HCl: chlorure d'hydrogène.

IC₅₀: concentration inhibitrice.

MeOH: méthanol.

Mg: magnésium.

min: minute

N₂O: oxyde nitreux

NADH: nicotéamide adénine dinucléotide.

NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NaOH: hydroxyde de sodium.

nm: nanometre

NO: monoxyde d'azote.

NO⁻: anion nitroxyle.

NO⁺: cation nitrosomium.

NO[•]: oxyde nitrique.

O₂^{•-}: anion superoxyde.

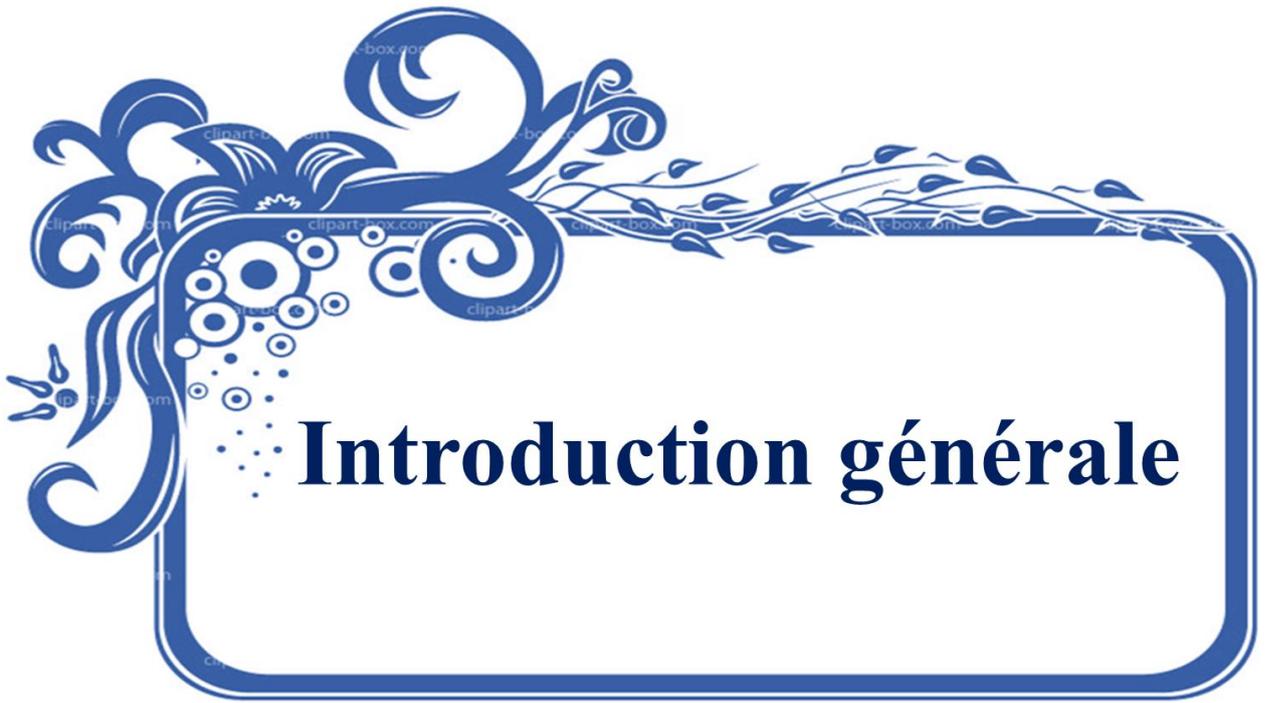
OH⁻: anion basique.

ONOOH: nitroperoxyde.

QE: quercetine.

Sm : solution mère.

SOD: superoxydes dismutases.



Introduction générale

Introduction générale

La nature est pleine de ressources aux vertus bénéfiques. Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement. En plus de son alimentation, l'homme y trouve des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présentes dans certains pays du monde, et surtout les pays en voie de développement [1] [2].

La médecine traditionnelle est très répandue en Algérie pour sa richesse en plante aux propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal [3]. Parmi les principales plantes utilisées sont celles du genre *Artemisia* [1]. Il a été démontré que ce genre a un effet antioxydant significativement plus élevé et antidiabétique en plus de ses effets antimicrobiens et antifongiques [4].

Ces activités biologiques que présentent les plantes ont incité les chercheurs scientifiques à étudier leurs métabolites bioactives qui sont impliqués dans le traitement naturel de plusieurs maladies. Dans le but de faire la découverte de nouvelles molécules bioactives qui seront utilisées dans la synthèse de nouveaux médicaments plus actives et plus efficaces pour le traitement des maladies, comme c'est le cas de l'aspirine extraite d'écorces de *Salix alba*, galegine isolée de *Galega officinalis*...ect [5].

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail, dont le but principal est de faire un dosage des polyphénols et flavonoïdes, ensuite faire une étude phytochimique des différentes espèces chimiques et enfin réaliser une étude des activités antioxydantes : DPPH, ABTS, GOR, phénanthroline et CUPRAC, et enzymatique : α -amylase, α -glucosidase et acétylcholinestérase.

Notre travail est divisé en trois chapitres, présentés comme suit : le premier chapitre contient d'une manière précise et résume tout ce qui concerne notre thème, sous le titre de recherche bibliographique. Le deuxième chapitre de ce document intitulé matériels et méthodes présente les méthodes choisies ainsi que le matériel utilisé au cours de cette étude, suivie du troisième et dernier chapitre qui présente et traite les résultats qui ont été obtenus au cours de cette recherche intitulés résultats et discussion.



Chapitre I
Recherche bibliographique

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Etude botanique

I.1.1 Généralité

La famille des astéracées contient plus de 500 espèces, parmi ces espèces : *Artemisia judaica* L, appelé aussi armoise de judée, elle est une plante vivace aromatique, à une odeur agréable, utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie [6]. (Voir Figure 1).



Figure 1 *Artemisia judaica* L[7].

I.1.2 Systématique de la plante

Tableau 1 Classification qu'occupe *Artemisia judaica* L [8].

Rang	Nom scientifique
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes.
Sous-embranchement	Angiospermes.
Classe	Eudicots
Sous classe	Asteridées
Ordre	Asterales.
Famille	Astéracées.
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia judaica</i> L
Sous espèce	<i>Artemisia judaica</i> L ssp. <i>sahariensis</i> .

I.1.3 Description de la plante

C'est une plante qui a un réceptacle très velu, capitules disposés en longues grappes terminales généralement simples. Feuilles de 1-2 cm de long. Fleurons insérés très obliquement sur l'akène, très velus au sommet (au moins sur ceux qui sont hermaphrodites). Tiges suffrutescentes à la base, de 20-40 cm. Forêts claires, pentes pierreuses [9].

I.1.4 Distribution géographique

On trouve cette plante répartie dans plusieurs régions dans des montagnes de 1200 à 1800 mètres d'altitude, dans le désert méridional de l'Algérie (large distribution du désert du sud jusqu'à la côte) en Égypte (désert et la côte) et au Moyen-Orient (péninsule du Sinaï, Arabie saoudite et Jordanie) [6], [10].

I.1.5 Composition chimique

Plusieurs enquêtes ont démontré que cette plante est riche en flavonoïdes et lactones sesquiterpéniques, riche aussi en d'autres composés comme le pipéritone et le cinnamate, la judaïcine, la cirsimaritrine, terpinène-4-ol et d'acétate de bornyle et aussi la présence de hydrocarbures monoterpéniques (santolina triene, artemisia cétone, et l'alcool artémisia.), aussi la présence de α -phellandrene qui est la plus abondante. Cette plante contient aussi des composés toxiques mais en petite quantité telle que β -thujone et camphre [6] [11] [12]. Son huile essentielle est riche en monoterpènes oxygénés [13]. (Voir tableau 2). Contiens aussi des saponins, terpènes et tannains [14].

I.1.6 Activité biologique et thérapeutique

Il a été démontré que le composé judaïcine de cette plante a un effet cardiotonique, et que la cirsimaritrine, possède une action antivirale et antibactérienne et antifongique (inhiber l'activité de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Rodotorula rubra*, *Callosobruchus maculatus*) ainsi qu'un effet inhibiteur de l'activité de plusieurs enzymes des mammifères [11] [14] [15]. Son huile essentielle à des propriétés insecticides, anti-médicamenteuses et antifongiques [12], elle contient aussi de la santonine qui a des effets vermifuges. Elle a une activité acaricide, allélopathique et antioxydante [10].

Les effets médicaux de cette plante sont les suivantes: traitement ophtalmique, amélioration de l'immunité, diminution du risque d'athérosclérose, cancer, arthrite et maladies gastro-intestinales [13], anthelminthique, anti-inflammatoire, analgésiques et antipyrétiques [14].

Chapitre I : Recherche bibliographique

Tableau 2 Pourcentages les plus marquants des composés chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* d'origine algérienne [16].

Composé chimique	Pourcentage (%)
Piperitone	53,5
chrysanthone	9,9
Cis-chrysanthyl acetate	7,5
Cis-chrysanthol	3,7
Devanone	3,4
Camphor	1,6
(Z)-ethyl cinnamate	1,6
(E)-ethyl cinnamate	1,9

I.2 Métabolites secondaires

I.2.1 Généralité

Composé secondaire, composé phytochimique et facteur antinutritionnel sont tous des termes qui désignent un ensemble de métabolites secondaires (plus de 200,000 structures), ils sont produits en faible quantité (répartition limitée dans les plantes supérieures) et indispensables à la vie du végétal (se protège contre les herbivores, bactéries champignon et virus), responsable de plusieurs fonctions essentielles telles que la communication intracellulaire la défense et la régulation des cycles catalytiques et l'adaptation dans les environnements [17] ; [18].

I.2.2 Classification

Les métabolites secondaires ont de nombreuses applications pharmaceutiques [19] ; ils sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes est composée d'un grand nombre de molécules à activité biologique [17].

I.2.2.1 Composer phénolique

Les composés phénoliques ou polyphénols sont importants pour la plante et aussi pour l'homme ; ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés, répartis en plusieurs composés. Les polyphénols sont très exploités par les chercheurs pour leurs propriétés physiologiques, comme les activités antiallergiques, anti-atherogéniques, anti-inflammatoires, hépato-protectives, antimicrobiennes, antivirales, antibactériennes, anticarcinogéniques, anti-thrombotiques, cardioprotecteur et vasodilatatrice [17], [18], [20].

❖ Biosynthèse et classification des composés phénolique

C'est la voie de l'acétate qui est à l'origine des composés phénoliques, dont les précurseurs sont les acides aminés phénylalanines et tyrosines, qui sont synthétisés par la voie de l'acide shikimique [21].

Les polyphénols sont classés en plusieurs groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques de leurs structures et les substituants qui les relie : les flavonoïdes, acide phénolique, tannin, saponines, stilbenes, lignanes [20] (Voir figure 2).

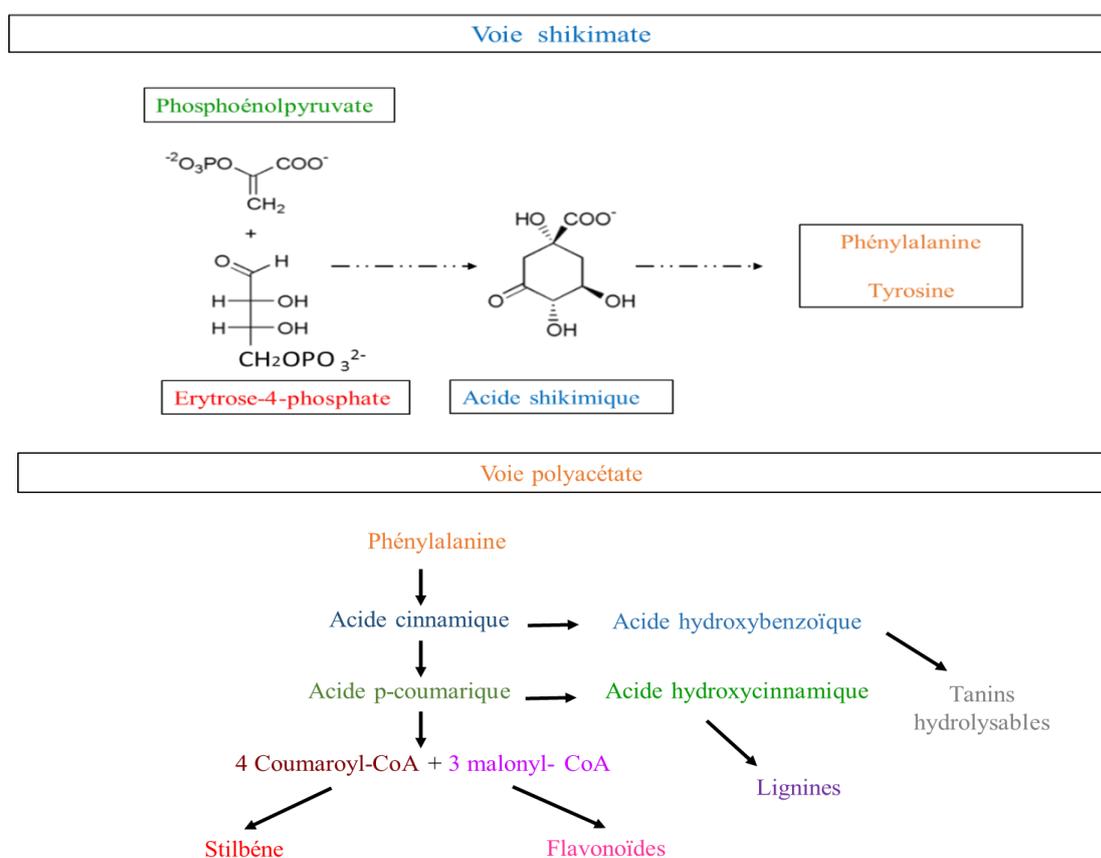


Figure 2 Biosynthèse des composés phénoliques [21], [22], [23].

a) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels à faible poids moléculaire hydrosoluble, ils contiennent un nombre variable de groupes hydroxyles phénoliques dans leurs structures chimiques. Ils ont d'excellentes propriétés de chélation du fer et autres métaux de transition, ses propriétés leur permettent d'avoir une excellente capacité antioxydante (contre les radicaux hydroxyles, et superoxyde). Ils jouent un rôle important dans la défense de l'organisme contre les agents oxydants (les rayons ultras violets, pollution de l'environnement...etc.), ont des effets thérapeutiques dans de nombreuses pathologies (cardiopathie, ischémie, athérosclérose ou cancer) [24], [25].

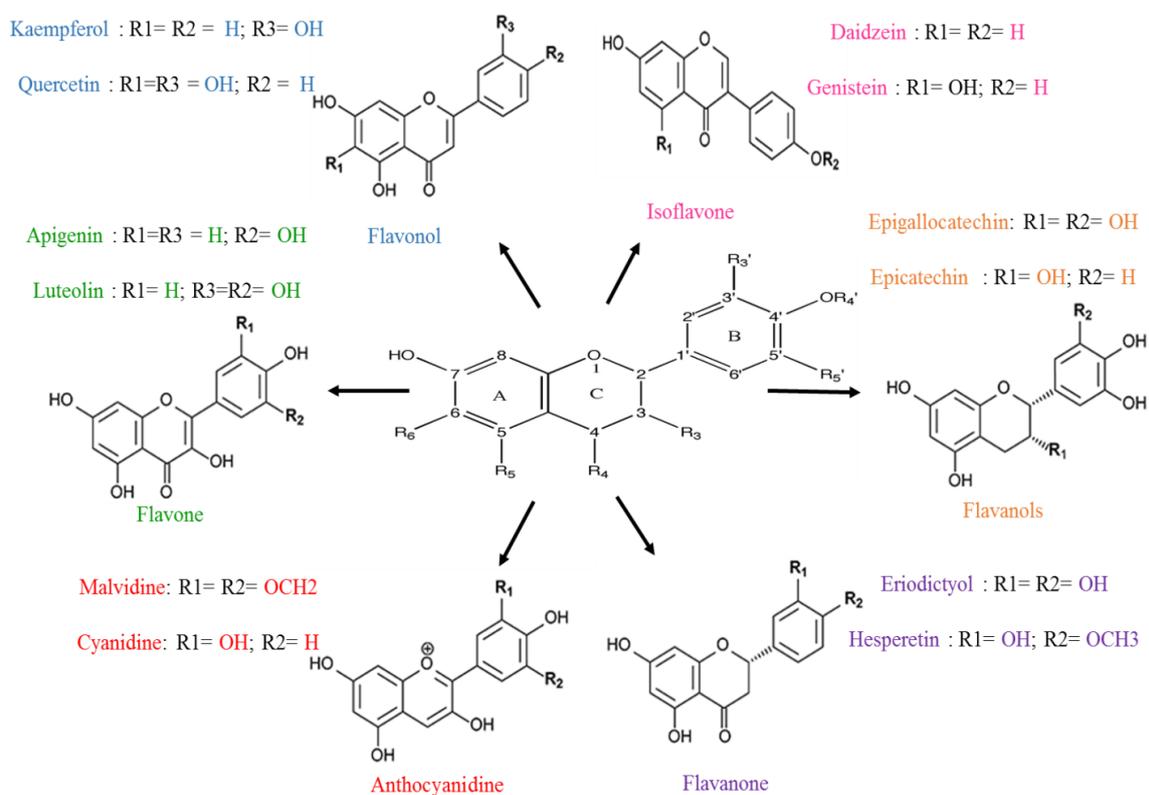


Figure 3 Classification et exemple de flavonoïdes et de leurs structures chimiques. Les structures chimiques de chacune des six classes de flavonoïdes sont présentées à titre d'exemple [29].

❖ Classification

Les flavonoïdes ont une structure chimique avec un squelette commun partagé, benzopyrane (C6-C3-C6), constitué de deux cycles de phényle (A et B) lié par un cycle pyrane (C).

Selon les variations du cycle C, la présence ou non de groupes hydroxyle et méthyle additionnels, ainsi que de la position où ceux-ci ont été insérés dans le squelette de base, on obtient une multitude de structures dont les principales classes sont: Flavan, Flavonols, Flavones, isoflavone, flavanone, et Anthocyanidines [26], [27]. (Voir la figure 3)

❖ Biosynthèse

Le cycle A est synthétisé à partir de 3 molécules de malonyles coenzyme A, le cycle B formé à partir de la *p*-coumaroyl-coenzyme A issue de la phénylalanine. Ces derniers vont subir plusieurs modifications enzymatiques pour aboutir à la synthèse des différentes classes de flavonoïdes. Des réactions de substitution catalysées par d'autres enzymes vont permettre la différenciation des flavonoïdes de chaque classe [28]. (Voir la figure 3)

I.2.2.2 Terpènes

Les terpènes sont des produits isoprénoïdes naturels bioactifs présents dans plusieurs plantes. La famille des terpènes est le principal constituant des huiles essentielles, ils sont complexes et renferment des milliers de composés classés selon leurs degrés de polymérisation [30], [31]. Ils sont répartis dans tous les organes de la plante. Ces composés ont des propriétés pharmacodynamiques en fonction du squelette terpénique [32], [33]. (Voir le tableau 3)

❖ Biosynthèse

La biosynthèse de tous les terpènes est initiée par la synthèse d'unité isoprénique à partir de l'acide mévalonique ou le méthylérythritol phosphate, ces unités sont soumises ensuite à l'action de condensation séquentielle pour former les différents terpènes cyclique et acyclique [32], [34] [35]. (Voir la figure 4)

Tableau 3 Différent terpène ainsi que leur différent effet pharmacodynamique [32].

Terpènes	Propriétés pharmacodynamiques
Pinènes	Rubéfiant
Azulène	Anti-inflammatoire

Chapitre I : Recherche bibliographique

Géraniol, Linalol, Cinéol	Antiseptique
Ascaridol	Vermifuge
Thuyone	Stupéfiant

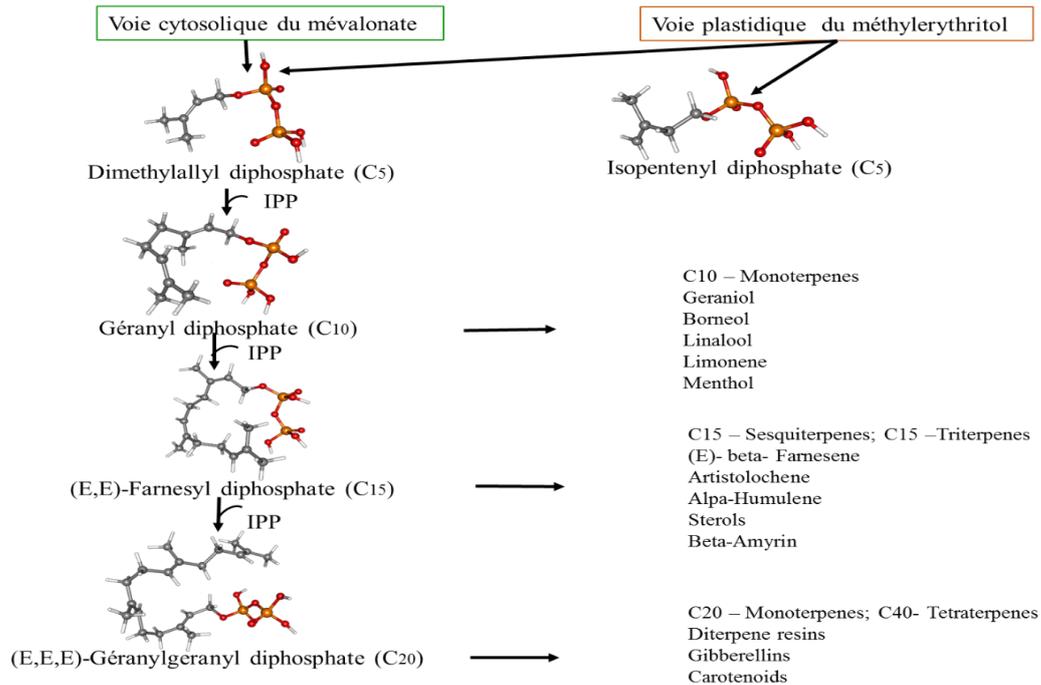


Figure 4 Biosynthèse des composés terpéniques [35].

I.2.2.3 Alcaloïdes

Ce sont des substances naturelles stables, cycliques, contiennent dans leurs structures un ou plusieurs atomes d'azote ; plus de 15 000 alcaloïdes ont été identifiés, ils sont trouvés principalement dans les plantes fleurissantes mais sont aussi produits par d'autres êtres vivants comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Ils possèdent différentes voies de biosynthèse mais sont principalement synthétisés à partir d'acides aminés (lysine, tyrosine, tryptophane), ils sont classés en fonction de la position de l'atome d'azote au sein de la structure et la famille de plantes [36] , [37].

Les alcaloïdes sont aujourd'hui utilisés dans tous les domaines de la santé. La morphine est un alcaloïde célèbre pour ses activités thérapeutiques puissantes, aussi l'opium utilisé pour ses propriétés analgésiques d'autres sont utilisées pour leurs propriétés anticancéreuses comme

la vinblastine et la vincristine, la quinine pour traiter du paludisme, la lidocaïne ou la tétracaïne en tant qu'anesthésiques locaux, la nicotine pour le sevrage anti-tabac, et bien beaucoup d'autres [40]. (Voir Figure 5)

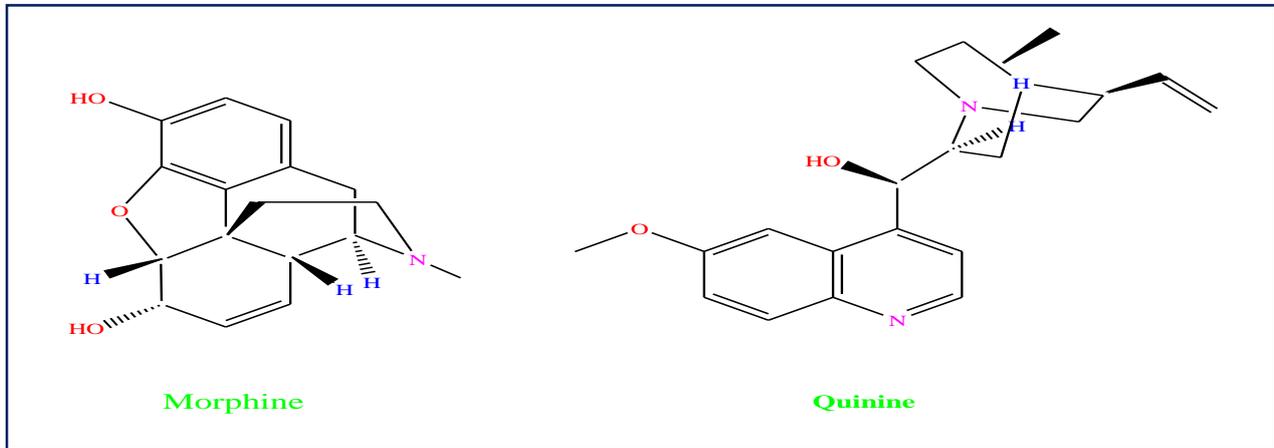


Figure 5 Structure 3D de deux alcaloïdes : la morphine et la quinine [38], [39].

I.3Activité biologique

I.3.1 Stress oxydant

C'est une agression de la cellule, provoqué lors d'un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les agents antioxydants (AOX) ; qui conduit à des dégâts structuraux et fonctionnels. La perturbation de la balance cellulaire est causée par plusieurs facteurs endogènes et exogènes:

- ✓ **Facteurs endogènes** : un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie, vieillissement,...), action de complexe enzymatique (xanthine oxydase, NADH, oxydase, monoamine oxydase...), inflammation, la libération du fer par la ferritine.
- ✓ **Facteurs exogènes** : le tabagisme, consommation d'alcool, mal nutrition, amiante, pollution, exercice intense ou mal géré [41], [42],[43]. (Voir figure 6)

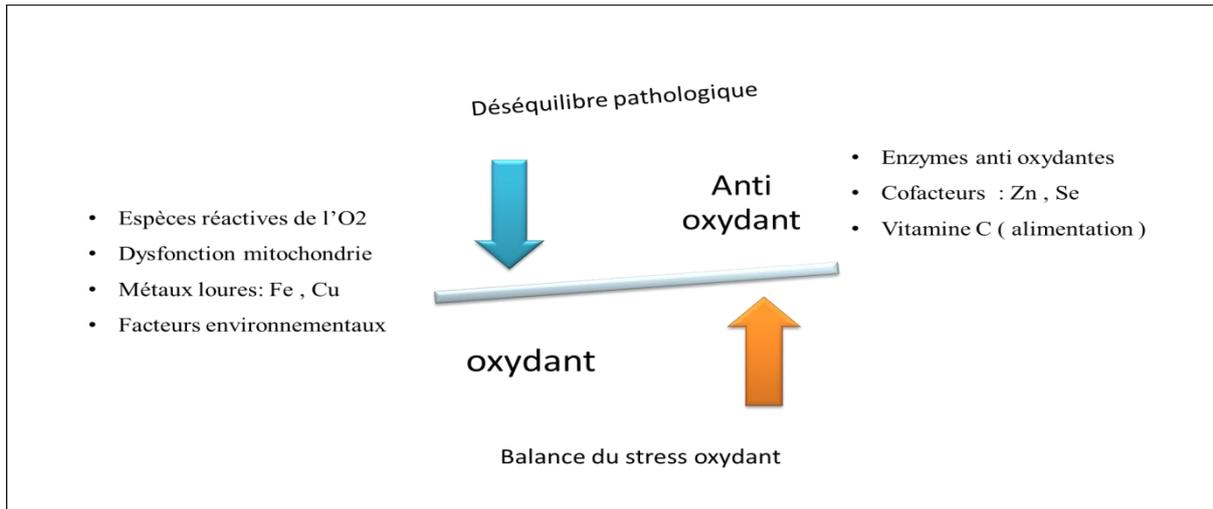


Figure 6 Illustration simplifiée des relations entre les ERO et les AOX [44].

I.3.1.1 Espèces réactives de l'oxygène

Les ERO sont des molécules réactives, instables ; ils ont un ou plusieurs électrons seuls sur la couche externe. Ces molécules vont constamment chercher la stabilité, ils vont donc soit arracher des électrons à d'autres molécules du milieu, soit perdre des électrons, les molécules qui sont attaqués, à leurs tours vont devenir des espèces réactives [45]. Voir le tableau qui suit :

Tableau 4 Principales espèces réactives [46], [47].

Espèces Radicalaires	Espèces non Radicalaires
Anion superoxyde (O₂^{•-}) : très réactif, oxyde les catécholamines.	oxygène singulet (¹O₂) : très réactive, peut initier l'oxydation des lipides.
Monoxyde d'azote (NO[•])	Nitroperoxyde (ONOOH)
Radical hydroxyle ([•]OH) : très réactif peut diffusable, initiateur principale de la lipoperoxydation	Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) : stable faiblement toxique, diffusible antiseptique.

I.3.1.2 Mécanisme de production des ERO

Les espèces réactives de l'oxygène sont produites principalement au niveau de la mitochondrie [48].

❖ Anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)

L'oxygène moléculaire subit une réduction mono-électronique pour produire l'anion superoxyde, aussi produit par le NADH déshydrogénase, le NADPH oxydase des cellules vasculaires endothéliales, par oxydation des composés suivants : neuromédiateur (adrénaline, noradrénaline, dopamine...), le thiol (cystéine), des coenzymes réduits (FMNH₂, FADH₂), ainsi que par la détoxification des xénobiotiques par le cytochrome P450 [48], [49]. (Voir figure 7)

❖ Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Il est obtenu soit par détoxification d' $O_2^{\circ-}$ par le superoxyde dismutase, soit par réduction bi-électronique de l'oxygène catalysé par des oxydases (aminoacides oxydases, glycolate oxydase, urate oxydase...), soit par une monoamine oxydase de la membrane externe de la mitochondrie qui catalyse la désamination oxydative de certaines amines [49]. (Voir figure 7)

❖ Radical hydroxyle ($^{\circ}OH$) et l'anion basique (OH^-)

Le H_2O_2 est dit toxique, car il est le précurseur de deux molécules extrêmement réactives de structure électronique différente, qui sont l' $^{\circ}OH$ et OH^- (réaction de Fenton) [49]. (Voir figure 7).

❖ Oxygène singulet (1O_2)

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou γ , soit en activant des molécules photosensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des $O_2^{\circ-}$ et de 1O_2 [48]. (Voir figure 7)

❖ Monoxyde d'azote et ces dérivés (NO)

Le radical NO est produit par différents types cellulaires. L'enzyme NO-synthase est un catalyseur dans la réaction qui produit du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique (NO^{\bullet}) à partir d'arginine et d'oxygène. Le NO^{\bullet} réagit avec l' $O_2^{\circ-}$ pour former la peroxydinitrite ($ONOOH$) possédant un puissant potentiel oxydant. [50]. (Voir figure 7)

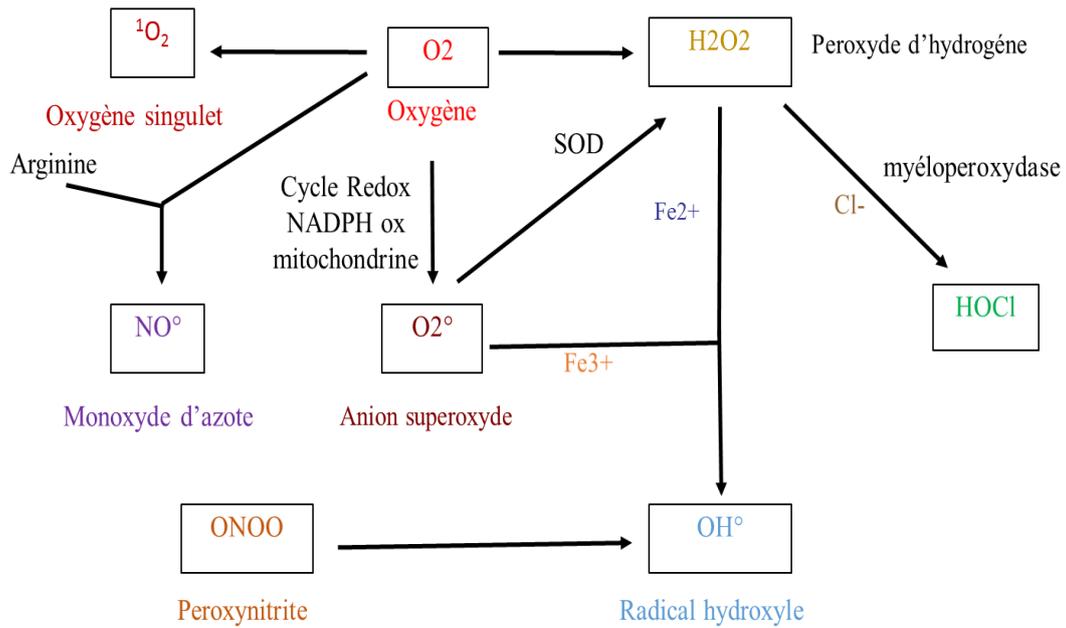


Figure 7 Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie [48].

I.3.1.3 Cible des ERO

La production d'ERO en quantité excessive et non régulée est la cause de lésion directe de molécules biologiques comme l'oxydation de l'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, par les radicaux $O_2^{\circ-}$ et OH° . Les attaques des ERO des protéines induisent l'apparition de groupements carbonyles, de cystéines oxydées, de fragments peptidiques (détachements d'acides aminés) ou d'agrégats protéiques ; ils peuvent également réagir avec les acides gras poly-insaturés des phospholipides membranaires et des lipoprotéines, initiant ainsi des chaînes de peroxydation lipidique, aussi avec des glucide, ainsi que d'autres lésions dites secondaires comme le mutagène des métabolites libres lors de l'oxydation des lipides qui peuvent conduire à des pertes de fonction et de stabilité et même aussi à une mort cellulaire [48], [51], [52]. (Voir figure 8)

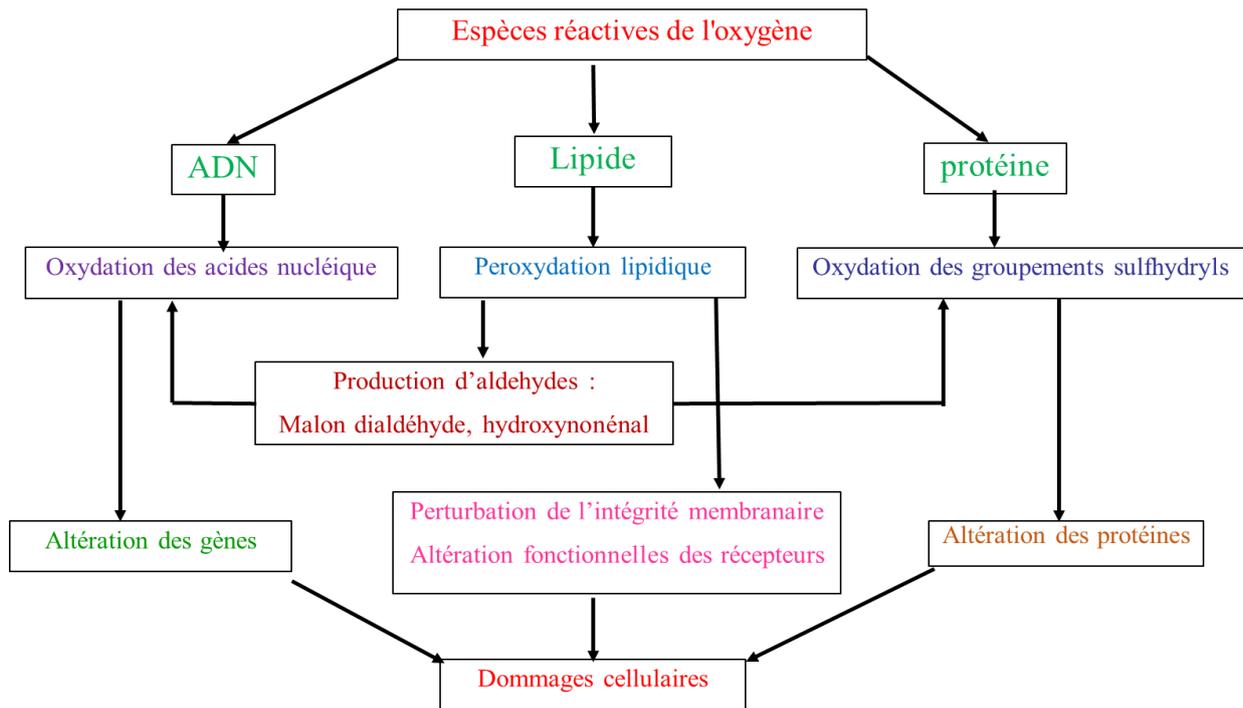


Figure 8 Différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène [53].

I.3.1.4 Maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est responsable de plusieurs maladies :

- Par l'apparition de molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdèmes pulmonaires, vieillissement accéléré.
- Responsable aussi de l'apparition de maladies plurifactorielles : le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et maladie cardiovasculaires.
- Il a aussi un rôle dans l'apparition des facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, l'homocystéine [48].

I.3.2 Activité antioxydante

Les AOX sont des substances à faibles concentrations capables d'inhiber ou de retenir les ERO, par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène et peuvent aussi agir en chélatant des ions métalliques (Fe, Cu). Ils peuvent développer des synergies entre eux (vitamine E et C) [54]. Ils sont de deux sources, exogènes, et endogènes [42] (voir le tableau 5). Les AOX assurent deux fonctions, un rôle sacrificiel car ils ont la capacité d'éliminer les ERO et un rôle préventif grâce à son potentiel d'inhibition de formation d'oxydant réactif [55].

Chapitre I : Recherche bibliographique

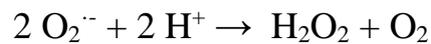
Tableau 5 Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant [56].

Endogène		Exogène	
Enzymatique	Non enzymatique	lipophiles	hydrophiles
<ul style="list-style-type: none"> - Super-oxyde dismutase - Glutathion peroxydase - Catalase 	<ul style="list-style-type: none"> - Glutathion - Albumine - Bilirubine - Coenzyme Q10 - Ac. Urique 	<ul style="list-style-type: none"> - Vitamine E - Vitamine A - Caroténoïdes 	<ul style="list-style-type: none"> - Polyphénols - Vitamine C - Oligoélément

I.3.2.1 Système de défense enzymatique

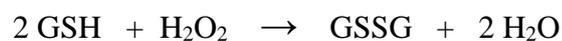
❖ Superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est une métalloprotéine qui se trouve sous trois isoenzymes, différents par leurs localisations chromosomiques dans le gène, le contenu métallique, structure quaternaire et leur localisation cellulaire. Elle permet la production de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène à partir de l'élimination de l'anion superoxyde [42], [50], selon la réaction suivante



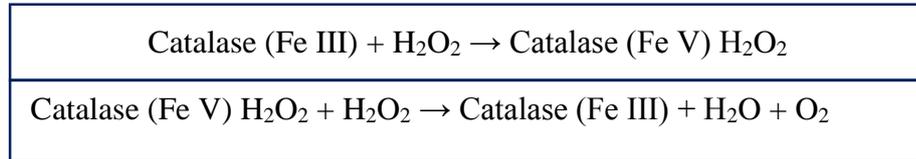
❖ Glutathion peroxydases (GPxs)

La GPxs est une sélénoprotéine synthétisée par le foie et le rein, présentée sous cinq isoformes. Elle agit par la réduction des peroxydes en présence de son substrat spécifique le glutathion (c'est un tripeptide : γ -glutamyl-cystenyl-glycine, (**Voir figure 10**)) réduit (GSH), démontré par la réaction suivante [42], [50] :



❖ Catalase

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases dont leur cofacteur est le fer, présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. et le glutathions peroxydases à cofacteur sélénium[48]:



I.3.2.2 Système antioxydant non enzymatique

❖ Glutathion

Il se trouve dans les compartiments cellulaires majoritairement sous forme réduite (GSH) et à faible concentration sous forme oxydée (GSSG), le rapport réduit/ oxydé représente un excellent marqueur de peroxydation lipidique [42]. Il est le cofacteur de nombreuses enzymes d'oxydation (GPxs). Il permet la conjugaison des protéines oxydées aux espèces électrophiles pour les réduire. Les radicaux $\text{O}_2^{\circ-}$ et OH° sont éliminés par interaction indirecte par le glutathion [53] [57]. (Voir figure 9).

❖ Les polyphénols

Sont des molécules organiques hydrosolubles qu'on trouve dans les végétaux. Elles jouent plusieurs rôles parmi lesquels : permettent l'emprisonnement des ERO, de bon chélateurs de métaux de transition ; comme le fer et cuivre qui catalyse des oxydations[42], [50]. (Voir figure 10)

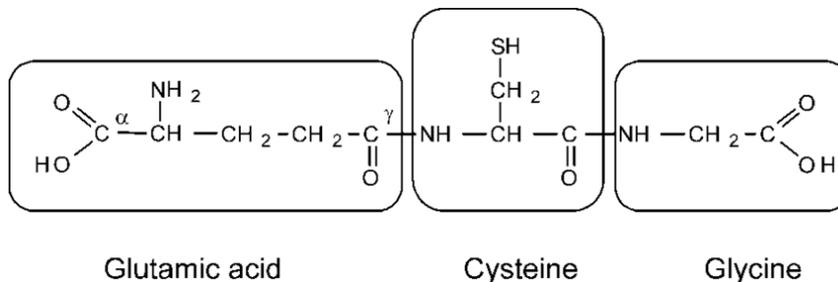


Figure 9 Structure du tripeptide le glutathion réduit (GSH) [58].

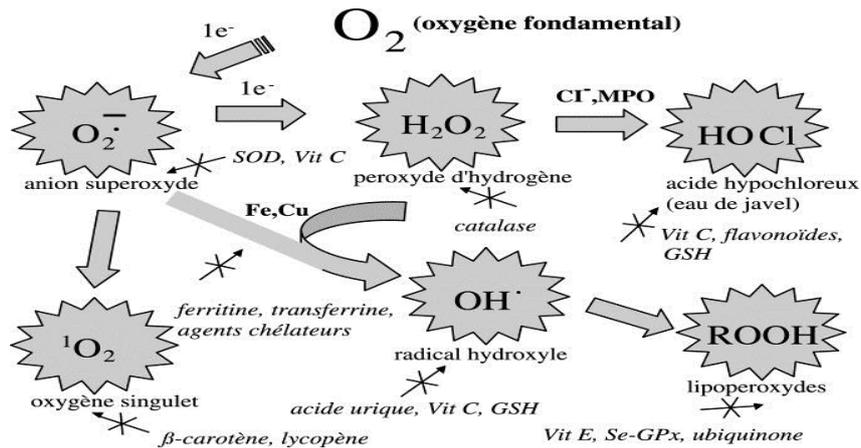


Figure 10 Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production [42].

I.3.2.3 Méthode de dosage de l'activité antioxydant

Dans le but de quantifier les AOX dans un échantillon biologique, les chercheurs ont exploité leurs capacités naturelles à piéger des radicaux libres pour élaborer des méthodes de dosage efficaces.

Plusieurs tests ont été développés afin de déterminer l'activité antioxydant *in vivo* et *in vitro*, parmi ces méthodes :

- ✚ **ORAC** (Oxygène Radical Absorbance Capacity) et **TRAP** (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter) permettent le piégeage des peroxydes ROO,
- ✚ **FRAP** (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) permettent le piégeage des ions ferriques,
- ✚ **ABTS** (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) et aussi le radical libre **DPPH** (diphenyl-picrylhydrazyle). Les résultats sont comparés à une solution de référence qui a une grande activité antioxydante [17].

I.3.3 Activité enzymatique

I.3.3.1 Diabète sucré

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une hyperglycémie et une perturbation des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques. Les types de diabète les plus connus sont : type 1 (diabète insulino-dépendant, est caractérisé par une absence ou une trop faible production d'insuline par les cellules du pancréas), type 2, (est caractérisé par un défaut d'action de l'insuline (insulinorésistance) qui peut évoluer vers un épuisement des cellules sécrétrices d'insuline) [18], [59].

I.3.3.2 α -amylase et α -glucosidase

L' α -amylase est présente dans les sécrétions salivaires et pancréatiques. Elle catalyse l'hydrolyse glucosidique des composants de l'amidon. Le rôle de l' α -amylase dans le clivage des glucides est complété par l'action de l' α -glucosidase, présente dans la bordure de la brosse de l'intestin grêle et responsable de la libération du glucose [60]. L'absorption digestive du glucose permet l'élévation glycémique postprandiale, ce qui représente un problème pour les diabétiques [61]. Une approche pratique pour réduire l'hyperglycémie postprandiale consiste à retarder l'absorption des hydrates de carbone après l'apport alimentaire. Ceci pourrait être réalisé par l'inhibition d' α -amylase et d' α -glucosidase présente dans le système gastro-intestinal [62].

I.3.3.3 Maladie d'Alzheimer

C'est une maladie neurodégénérative progressive, associée au déclin cognitif, une forme courante de démence chez les personnes âgées ; causée par l'accumulation de protéine au niveau des synapses, qui stop la communication entre deux neurones en bloquant l'entrée des produits chimiques qui permettent à l'information de circuler (acétylcholine (ACh)) [63] , [64].

L'un des principaux axes de recherche traiter les symptôme de cette maladie a été d'augmenter l'activité cholinergique par l'inhibition de la dégradation intra-synaptique de l'acétylcholine (produits chimiques qui sont libérés par un neurone et détecté par un neurone récepteur au niveau des synapses) en utilisant un inhibiteur de la cholinestérase [65], [64].

I.3.3.4 Acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) sont des enzymes acétylcholines hydrolases ayant une activité estérase. L'AChE met fin aux impulsions nerveuses en catalysant l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh), alors que le BChE dégrade l'acétylcholine, lorsque l'AChE est inhibée ou absente. L'inhibition des l'enzymes AChE et BChE par des inhibiteurs spécifiques est la cible thérapeutique pour le traitement de troubles tels que la maladie d'Alzheimer, Un grand nombre de flavonoïdes ont été isolés à partir de plantes, dont certains sont testés pour leur potentiel d'inhibition possible de l'AChE [66], [67], [68]



Chapitre II

Matériel et méthode

Chapitre II : Matériels et méthodes

La partie qui concerne le criblage phytochimique a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie RDC de l'université Mentouri Constantine 1. L'autre partie de l'étude expérimentale qui concerne les activités antioxydantes et anti-enzymatiques ainsi que le dosage des polyphénols et flavonoïdes a été réalisé au sein du laboratoire 02 de biochimie du centre de recherche de biotechnologie (Crbt), dont le siège est fixé à Constantine, chargé de la réalisation des programmes de recherche scientifique et du développement technologique dans les domaines des biotechnologies.

II.1 Matériels

II.1.1 Matériels végétal

La plante a été récoltée dans El Hoggar de la wilaya de Tamanrasset mois de février 2019. Elle a été sécher à température ambiante à l'abri du soleil dans un endroit aéré, ensuite elle a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique (MF 10 basic micro-broyeur). (**Voir figure 11**)



Figure 11 Broyage de la plante par l'appareil MF 10 basic Micro-broyeur.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation des extraits

❖ Extraction

La méthode qui a été utilisée pour l'extraction est la macération. C'est une méthode d'extraction solide-liquide très simple, s'obtient en mettant la plante en contact à froid avec un solvant quelconque. Le temps de contact est parfois très long [69].

Chapitre II : Matériels et méthodes

50 g de la plante broyée a été pesés avec une balance (KERN), puis a été mélangés dans un erlenmeyer avec 300 ml de solvant hydrométhanolique (7/3, v/v), pour une macération qui a duré 10 jours. Au cours de cette durée, 200 ml du même solvant ont été ajoutés, la macération a été répétée une autre fois mais n'a duré que 24h. (Voir figure 12)



Figure 12 Illustration des étapes de pesé et de macération de la plante.

Le mélange a été ensuite filtrés avec du coton. Le filtrat a été séché à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (R-210 BUCHI), pour obtenir un extrait brut. Il a été ensuite repris dans 150 ml d'eau distillé, puis laissé à température ambiante pendant une nuit. Après, le mélange a été dissous avec un appareil ultrason (Elmasonic S70 H) puis filtré 2 fois de suite, on obtient par la suite l'extrait aqueux. (Voir figure 13)

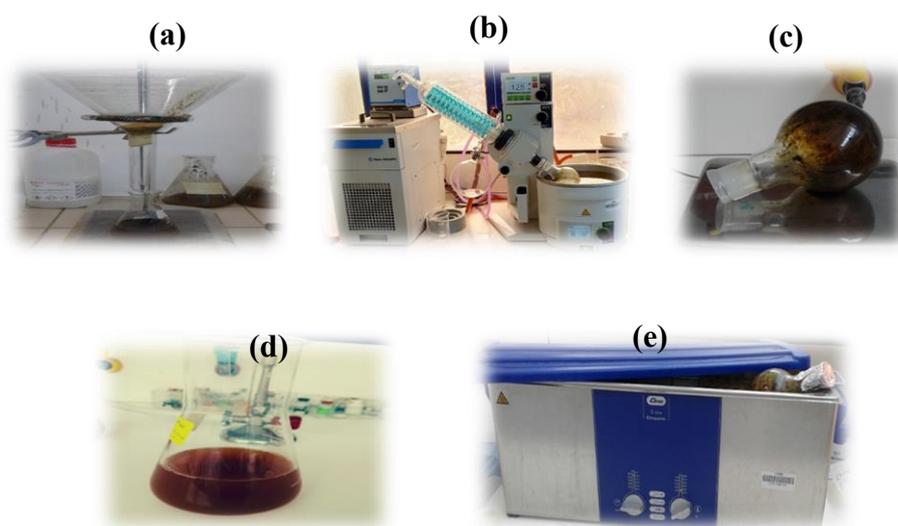


Figure 13 Illustration des étapes de filtration (a), d'évaporation à pression réduite (b), et de dissolution dans appareil ultrason (e) ainsi que l'extrait brut (c) et l'extrait aqueux (d).

❖ Fractionnement par décantation

La décantation consiste à séparer deux liquides non miscibles entre eux, le liquide le moins dense reste en surface et le liquide le plus dense se retrouve en bas. Cette étape va permettre de diviser l'extrait brute en plusieurs fractions par utilisation de solvants à différentes polarités. Les solvants qui ont été utilisés pour l'affrontement avec l'extrait aqueux, du moins polaires aux plus polaires sont le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol respectivement.

Dans une ampoule à décanter l'extrait aqueux a été mélangé avec 150 ml de dichlorométhane. Après que les deux phases se soient bien séparées, on a récupéré le dichlorométhane dans un ballon pour évaporer le solvant, le solvant évaporé a été récupéré pour faire un deuxième et un troisième affrontement. Ces étapes ont été les mêmes pour les deux autres solvants (**Voir figure 14**). En plus de l'extrait méthanolique le résultat était trois fractions qui ont été récoltées dans des boîtes de pétrie :

- ✓ F₁ : extrait dichlorométhane
- ✓ F₂ : extrait acétate d'éthyle
- ✓ F₃ : extrait N-butanol



Dichlorométhane



Acétate d'éthyle



n-Butanol

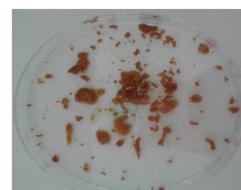


Figure 14 Illustration des différentes fractions après décantation.

Les quatre extraits ont été pesés, puis les rendements d'extractions (R_{ex}) exprimé en pourcentage (%) ont été calculés selon la formule suivante :

Chapitre II : Matériels et méthodes

$$R_{ex} = P_1 / P_2 * 100$$

P₁ : poids de l'extrait après extraction

P : poids de la poudre avant extraction

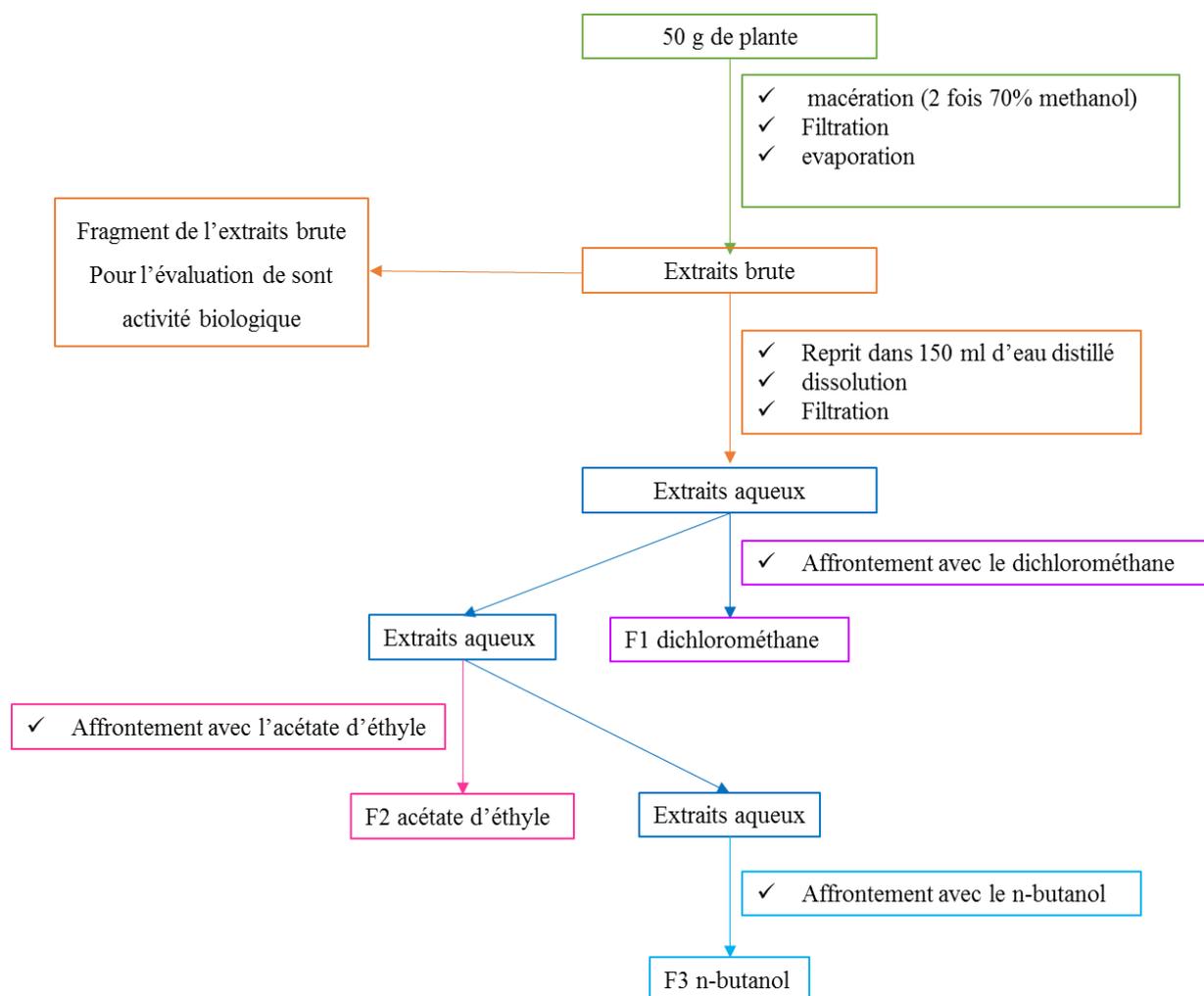


Figure 15 Schéma illustrant les différentes étapes d'extraction.

II.2.2 Criblage phytochimique

Le principe est soit basé sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitations, soit sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions de coloration.

II.2.2.1 Les stéroïdes

Ils sont mis en évidence par l'ajout de 1 ml d'acide sulfurique concentré à 1 ml d'extraits dissout dans du chloroforme. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couche supérieure de couleur rouge [70].

II.2.2.2 Les quinones libres

On mélange 2 ml d'extraits avec quelque goutte de NaOH (1:10). L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet est le signe de la présence de quinones libres [71].

II.2.2.3 Flavonoïdes

Ils sont mis en évidence par un teste simple et rapide, teste au magnésium. On met quelque goutte d'HCl concentré (2 N) et 0.5 g de Mg dans 5 ml de l'extrait, puis on laisse agir pendant 3 min à température ambiante. La coloration rose-rouge ou jaune après incubation indique la présence de flavonoïdes [72].

II.2.2.4 Flavonoïdes glycoside

2 ml d'extraits dilués dans le méthanol avec 1 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1 % l'apparition d'une couleur jaune révèle la présence des flavonoïdes glycosides [73].

II.2.2.5 Sucre réducteur

5 ml de liqueur de Fehling ont été ajouté à 5 ml de l'extrait, la formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70 °C indique une réaction positive [74].

II.2.2.6 Teste des saponines

La détection des saponines est réalisée par l'ajout d'un peu d'eau à 1 ml d'extraits. Ensuite cette solution est fortement agitée, après 15 min de repos la détection des saponines se traduit par la persistance d'une mousse d'aux moins 1 cm après les 15 min [75], [76].

II.2.2.7 Anthocyanines

On mélange 5 ml d'extraits avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH₄OH) concentré (30%). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines [72].

II.2.2.8 Alcaloïde

Teste d'alcaloïde ou test de Mayer (mercuritétraiodure de potassium): les extraits méthanoliques sont repris dans quelques ml d'HCl (50%). La formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne la présence d'alcaloïdes. Ce test est fondé sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds [76].

II.2.2.9 Tanin complexe

Un aliquot d'extraits est repris dans 2ml d'eau distillée, on a ensuite ajouter quelques gouttes d'HCl concentré, le tout est chauffée au bain-marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif [74].

✚ La préparation des différents solutions utilisée lors des différents dosages et teste biologique sont au niveau de l'annexe I

II.2.3 Dosage des polyphénols et flavonoïdes

A. Dosage des flavonoïdes

La méthode de **Topçu et al [77]**, pour le dosage des flavonoïdes est basée sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. Cette méthode a été utilisée après modification pour une détermination sur microplaque à 96 puits.

❖ Procédure

Une plaque à 96 puits a été rempli avec 50 μ l de chaque dilution des différent extrait de plante, puis 130 μ l de méthanol (MeOH) ont été ajouté. Ensuite 10 μ l de la solution de potassium acétate (CH_3COOK) (S_1) et 10 μ l de la solution de nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$) (S_2) ont été ajouté. Une lecture avec un lecteur de microplaque (Perkin Elmer) à 415 nm après 40 min à température ambiante à l'abri de la lumière. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol. La procédure est la même pour l'étalon avec la quercétin à la place de l'extraits. (**Voir figure 17**)

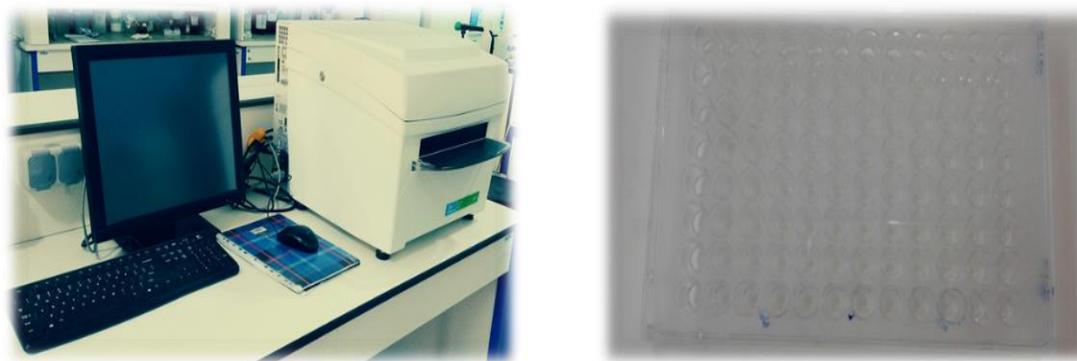


Figure 16 Illustration de l'appareille Perkin Elmer et d'une plaque a 96 puits.

B. Dosage des polyphénols total

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) selon la méthode de **Singleton et Rossi [78]**, modifié par **Muller et al [79]**. Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleu produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

❖ Procédure

20 μ l de chaque dilution des différents extraits de la plante sont mélangé avec plaque de 96 puits, 100 μ l de FCR dilué (1 :10) et 75 μ l de carbonate de sodium (7,5%) (Na_2CO_3), après la plaque a été mise à l'obscurité à température ambiante et pendant 2h avant d'effectuer une lecture à 765 nm. Un blanc d'échantillon est préparé en remplaçant l'extrait par du méthanol. La procédure est la même pour l'acide gallique.

II.2.4 Activités biologiques

II.2.4.1 Activités antioxydante

A. Teste de l'ABTS

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al [80]**. L'activité totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le cation radical $ABTS^{*+}$ il est formé par arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de H^{\bullet}), l'atome d'azote concerné piège un H^{\bullet} , conduisant à l' $ABTS^+$, ce qui entraîne

Chapitre II : Matériels et méthodes

la décoloration de la solution, et cette activité est comparé à des antioxydants de références (BHT et BHA°). (Voir figure 17)

❖ Procédure

Dans une plaque à 96 puits, 40 µl de chaque dilution des différents extraits de la plante est ajouté à 160µl de ABTS⁺ ensuite le mélange est mis à l'obscurité pendant 10 min avant d'effectuer une lecture à 734 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le méthanol. L'activité d'ABTS⁺ a été exprimée en pourcentage d'inhibition qui a été calculée par l'équation suivante :

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

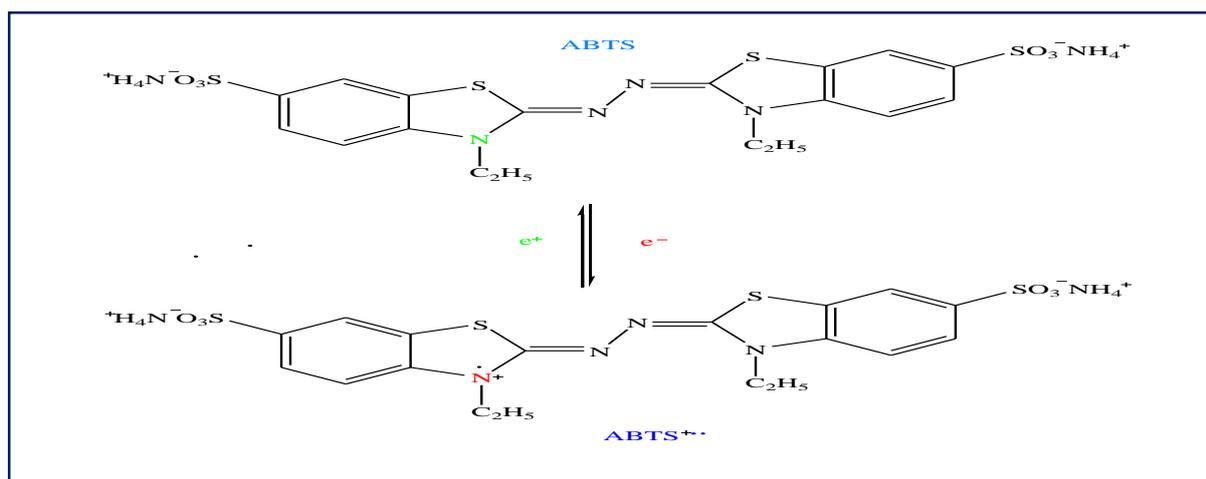


Figure 17 Formation de l' ABTS^{•+} [81].

B. Teste DPPH

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée spectrophotométriquement par le dosage du DPPH selon la méthode décrite par Blois [82]. 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. Lorsque le DPPH est réduit par un antioxydant, son absorption diminue. BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. (Voir figure 18)

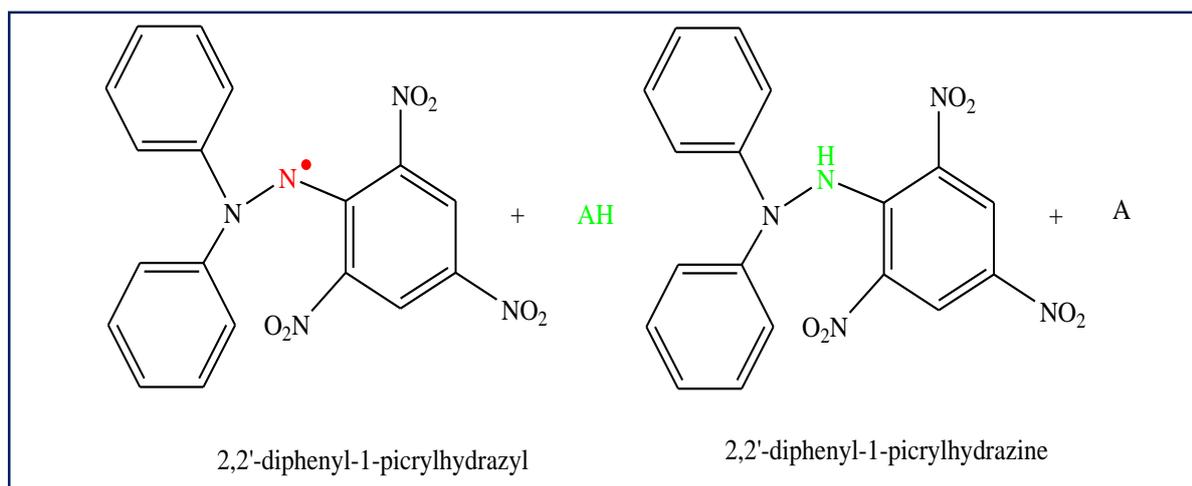


Figure 18 Réaction du radical stable DPPH avec un composé antiradicalaire (AH) [83].

❖ Procédure

Un volume de 40 μl de chaque dilution des différents extraits de la plante est utilisé pour remplir une plaque de 96 puits à qui sont ajouté 160 μl de DPPH, ensuite la plaque a été mise à l'obscurité pendant 30min avant d'effectuer une lecture à 517 nm. Un blanc est préparé en remplaçant de l'extrait par du méthanol.

C. Teste CUPRAC

La capacité antioxydante réductrice du cuivre est déterminée par la méthode CUPRAC d'Apak *et al* [84]. La méthode CUPRAC (Pouvoir antioxydant réducteur de l'ion cuivrique) est basée sur le suivie de la diminution de l'absorbance accrue du complexe néocuproène (NC), cuivre (Cu^{+2}) $\text{NC}_2\text{-Cu}^{+2}$. En effet en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproène est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement. (**Voir figure 19**)

❖ Procédure

Une plaque à 96 puis est remplie avec 40 μl de chaque dilution des différent extraits de plante puis 60 μl d'acétate d'ammonium (AcNH_4) (S_1) sont ajoutés, ensuite 50 μl de la solution de néocupronin (S_3) et 50 μl de la solution de chlorure de cuivre S_2 ($\text{Cu C}_{12}, 2\text{H}_2\text{O}$) sont ajoutés. Une lecture avec un lecteur de plaque a été faite à 450 nm après 1h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol.

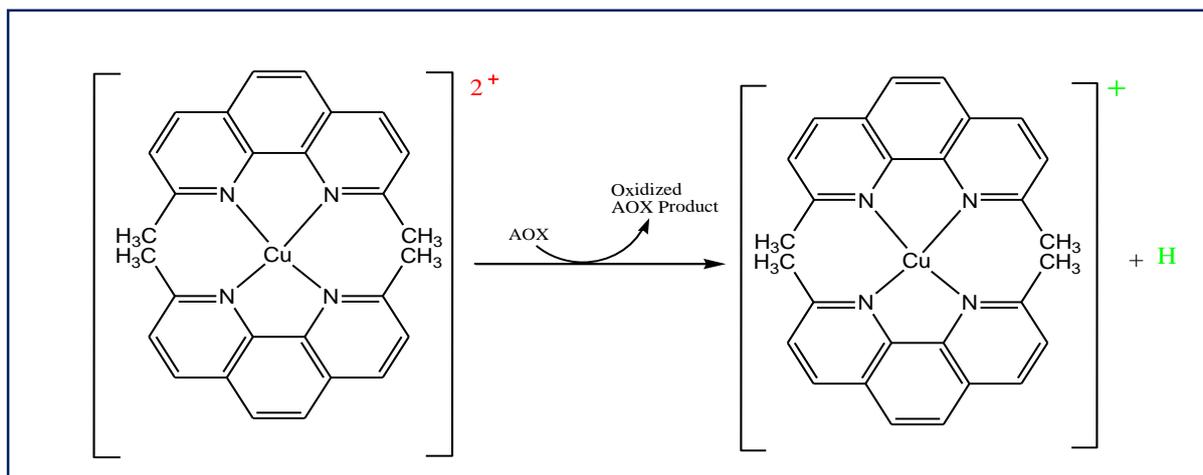


Figure 19 Réaction du complexe néocuproïene avec un antioxydant [84].

D. Test GOR

L'activité anti radicalaire du galvinoxyl (GOR) est déterminée par la méthode de **Shi *et al*** [85]. Le galvinoxyl est un radical phénoxyyle stable ayant un pic d'absorption élevé à 428 nm dans l'éthanol. En présence des composés phénoliques ou d'autres antioxydants, il est réduit par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène à l'état incolore [86]. (**Voir figure 19**)

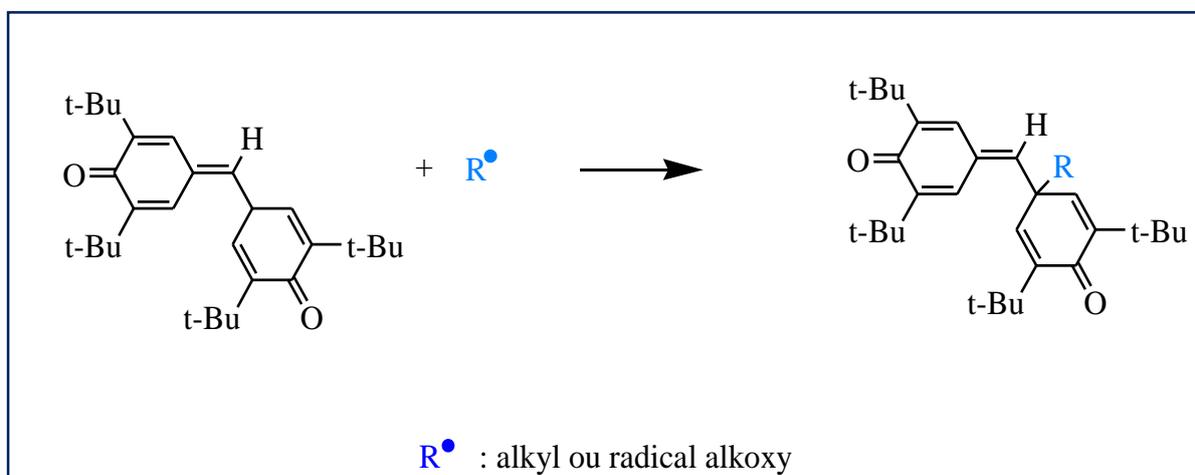


Figure 20 Réaction du radical GOR avec un antioxydant [85].

❖ Procédures

Une plaque à 96 puits est rempli avec 40 µl de chaque dilution des différents extraits de plante puis 160µl de galvinoxyl sont ajoutés. Une lecture avec un lecteur de plaque est effectuée

à 428 nm après 120 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Un blanc d'échantillon est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol.

E. Test de la phénanthroline

L'activité de la phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka**, [87]. Le BHT est utilisé comme standard. Elle est basée sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} ion en présence d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénanthroline pour donner un complexe rouge orange.

❖ Procédures

10 μl de chaque dilution des différents extraits de la plante est utilisés pour remplir une plaque de 96 puis à qui on a ajouté 50 μl de chlorure de fer (FeCl_3) ensuite 30 μl de phénanthroline et 110 μl de méthanol après incubation pendant 20 min à 30°C avant d'effectuer une lecture a été faite à 510 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

II.2.4.2 Test enzymatique

A. Test de l' α -amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisée à l'aide de la méthode de **Zengin et al** [88] iode / iodure de potassium (IKI) avec une légère modification.

❖ Procédures

La microplaque est remplie selon le schéma mis dans la partie annexe I, 25 μl de chaque dilution des différents extraits de plante sont utilisé pour remplir une plaque de 96 puis ensuite on ajoute 50 μl de solution d' α -amylase après on incube pendant 10 min à 37°C, puis 50 μl d'amidon sont ajoutés, on incube encore une fois dans les mêmes conditions, enfin on ajoute 25 μl d'HCl et 100 μl IKI puis lecture directe à 630 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante:

$$\% \text{INH} = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b) / (A_c - A_e)]$$

✓ A_c = Absorbance [Amidon+ IK I+ HCl + Vol de solvant d'extrait + Vol tampon Enzyme].

- ✓ A_e = Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCL+ Vol de solvant d'extrait].
- ✓ A_s = Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + IKI + HCl].
- ✓ A_b = Absorbance [Extrait + IKI + 125 μ l de tampon].

B. Test de l' α -glucosidase

L'activité inhibitrice de α -glucosidase est déterminée par la méthode de **Sinéad Lordan**, [89]. Elle a été évaluée *in vitro* par l'hydrolyse du p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside en présence d'enzyme.

❖ Procédure

Un volume de 50 μ l de l'extrait est mélangé avec 100 μ l de la solution d'enzymes et 50 μ l du substrat, après 30 min d'incubation à 37 °C, une lecture à 405 nm est effectuée. Le contrôle et le blanc sont préparés en utilisant les mêmes solutions mais pour le contrôle l'extrait est remplacé par le méthanol, et l'enzyme est remplacé par le tampon.

$$\%INH = (\text{Abs de l'extrait} - \text{Abs de Blanc}) / \text{Abs de control} \times 100$$

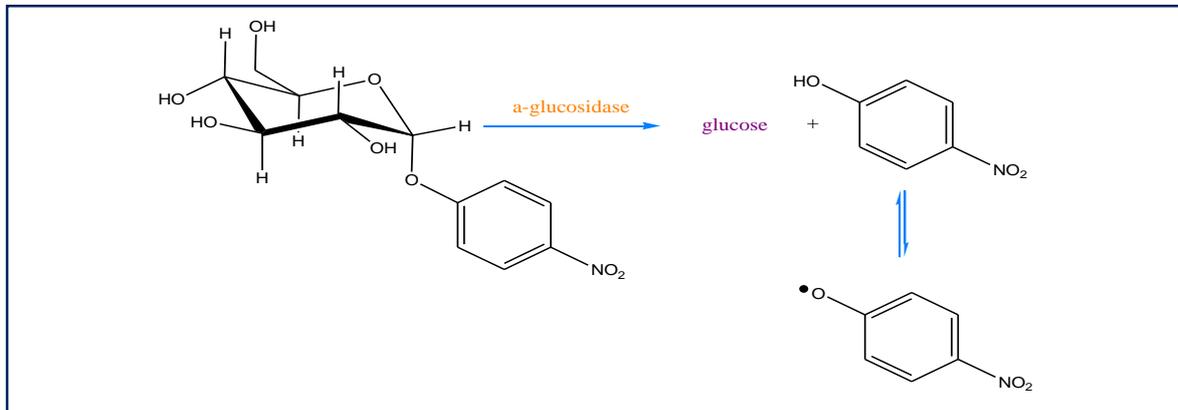


Figure 21 Hydrolyse du PNPG en présence de l' α -glucosidase [89].

C. Teste anticholine estérase

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase est présentée par la méthode d'**Ellman *et al*** [90]. Le principe chimique de la réaction est présenté dans la figure 22. L'enzyme hydrolyse le substrat acétylcholine iodé (ATCI) en thiocholine et en acide

Chapitre II : Matériels et méthodes

acétique. La thiocholine peut réagir avec le DTNB, et cette réaction donne naissance à une couleur jaune. L'intensité de la couleur du produit est mesurée à 412 nm et elle est proportionnelle à l'activité enzymatique. La galantamine est utilisée comme référence.

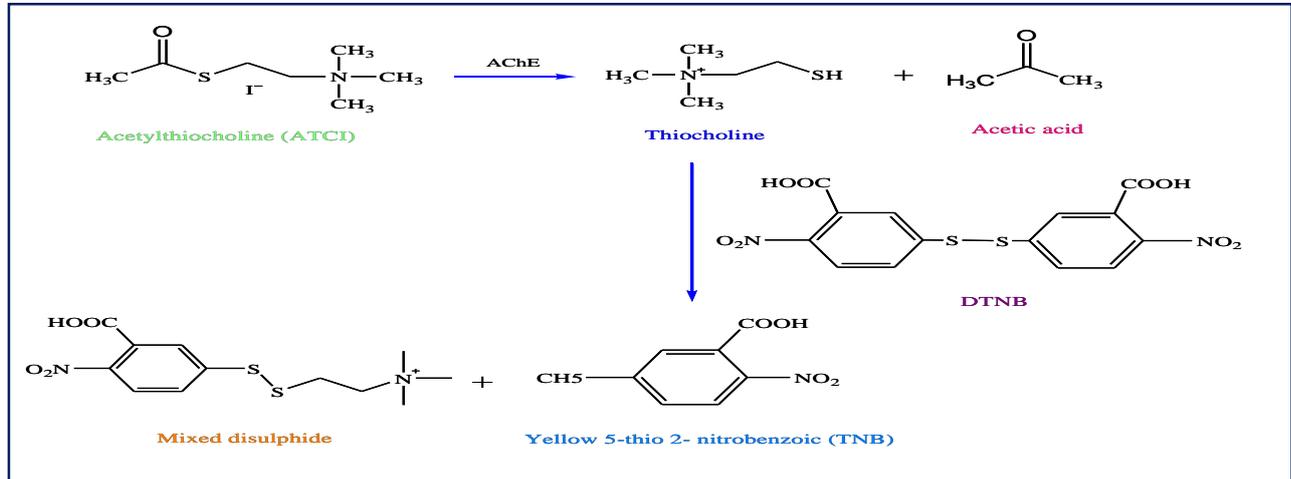


Figure 22 Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman [91].

❖ Procédure

Dans une microplaque de 96 puis on a mis 150 μ l de sodium phosphate buffer (pH 8.0), ensuite 10 μ l d'extrait de plante puis 20 μ l AChE ou BChE, après on a incubé à 25⁰ C pendant 15 min et on a ajouté 10 μ l de DTNB et 10 μ l d'acetylthiocholine iodide ou 10 μ l de butyrylthiocholine chloride après on a fait une lecture à 412 nm, pour 0 min et à 15 min.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE ou BChE est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule suivante :

$$\%INH = (abs E - abs S) / abs E * 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait

S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

❖ Statistique

Les résultats des activités antioxydantes et enzymatiques ont été exprimés soit en pourcentage d'inhibition et en CI_{50} ou $A_{0.5}$. Ces derniers sont inversement liés à la capacité antioxydante d'un composé, elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour inhiber à 50 % le radical, plus la CI_{50} est faible plus l'activité antioxydante est grande.

Ils ont été calculés à partir de la courbe tracée, à partir du pourcentage d'inhibition ou l'absorbance en fonction de la concentration des différentes dilutions des extraits dont l'équation est sous forme $y = ax + b$. Les résultats sont les moyennes des trois répétitions exprimées en $\mu\text{g/ml}$. Le logiciel qui a été utilisé pour le calcul des valeurs d' IC_{50} et $A_{0.5}$ est l'Excel 2013.



Chapitre III
Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Rendement d'extraction

L'extraction par macération des molécules bioactives à partir de 50 g de la poudre végétale et la décantation avec différent solvant a permis d'obtenir en plus de l'extrait brut trois fractions, dont les rendements d'extraction ont été calculés, et la couleur et l'aspect ont été déterminés pour chaque extrait. (Voir tableau 6 et figure 23).

Tableau 6 Aspects, couleurs et masse des différents extraits d'*A. judaïca*.

Extrait	Masse (g)	Aspects	couleurs
Méthanol	13.62	pâteux	Marron
Dichlorométhane	0.54	pâteux	Marron
Acétate d'éthyle	0.79	cristallisé	Jaune-orange
n-Butanol	4.41	pâteux	Brique

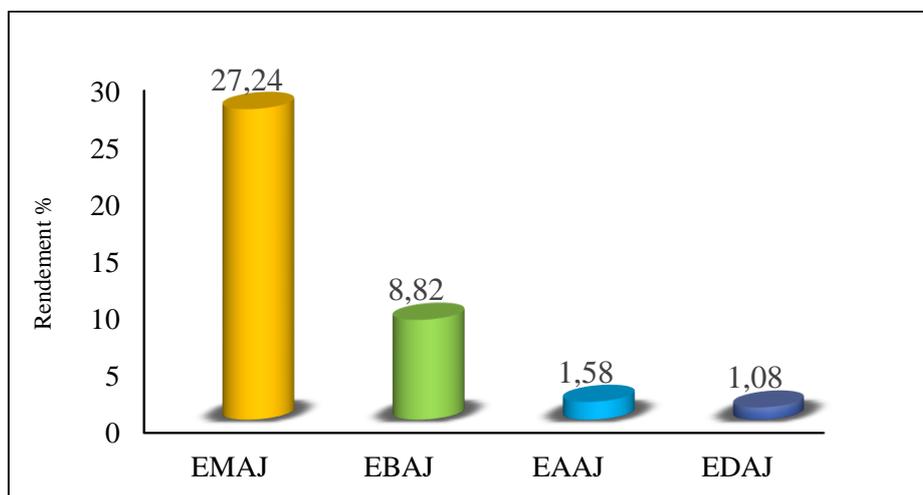


Figure 23 Les Rendements en % des différents extraits

L'histogramme présenté dans la **figure 23** a permis d'établir les observations suivantes : l'extraction avec le méthanol à 70% a donné un rendement d'extraction de 27,24 % c'est une quantité élevée, donc il représente un bon choix d'extraction des métabolites secondaires. Des

Chapitre III : Résultats et discussion

études ont montré que les solvants polaires comme le méthanol et l'éthanol ont une meilleure extraction des composés phénoliques à partir de matières végétales, en les comparant avec les solvants moins polaires comme l'acétone et l'hexane [92].

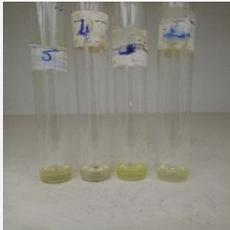
Parmi les fractions c'est le n-butanol, qui vient en première place suivi par l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane avec des rendements d'extraction de 8,82 ; 1,58 ; 1,08 % respectivement, on peut dire que l'EBAJ a permis une bonne extraction de métabolites secondaire que les autres solvants donc la composition de l'extrait brute été riche en métabolite polaire. La comparaison avec d'autres travaux est difficile, car cela dépend de plusieurs facteurs tel que la méthode d'extraction, les solvants utilisé et les conditions de travail [93].

III.2 Criblage phytochimique

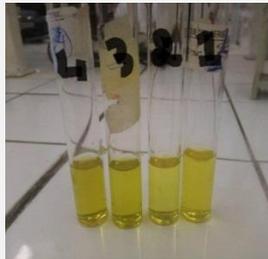
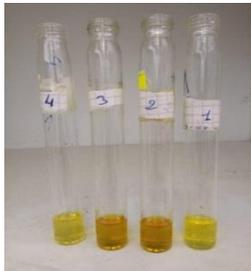
Une analyse qualitative des différents extraits d'*A. judaica* a été effectuée dans le but de mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires qui la compose, Toutefois, ce screening phytochimique ne renseigne pas sur la nature des molécules chimiques, mais les tests de caractérisation phytochimique présentent des imprécisions, car ils sont basés en grand partie sur l'analyse qualitative. (Voir tableau 7)

- ✓ Une réaction franchement positive est représentée par: +++
- ✓ Une réaction moyennement positive est représentée par: ++
- ✓ Une réaction faiblement positive est représentée par: +
- ✓ L'absence de la substance est représenté par: -.

Tableau 7 Résultats du criblage phytochimique des quatre extraits.

Teste	1	2	3	4	Résultats	Témoin
Saponine	-	-	-	-		

Chapitre III : Résultats et discussion

Steroides	Couche supérieure de couleur rouge	+++ + ++ +++		
Alcaloïdes	La formation d'un précipité jaune	++ + + +++		
Quinones Libre	L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet	++ +++ ++ +		
Anthocianidine	L'apparition d'une coloration rouge	- - - -		
Flavonoïdes Glycosyle	L'apparition d'une couleur jaune	++ +++ +++ +		

Chapitre III : Résultats et discussion

<p>Sucre Reducteur</p>	<p>La formation d'un précipité rouge brique</p>					
	<p>++ +++ +++ +</p>	<p>La formation d'un précipité rouge</p>				
<p>Tannain complexe</p>	<p>- - - -</p>					

1 : Extraits brute ; 2 : Extraits dichlorométhane ; 3 : extraits acetate d'éthyle ; 4 : extraits n-butanol

Le criblage phytochimique de la partie aérienne d'*A. judaica* a révélé dans les quatre extraits la présence des familles chimiques suivantes : les flavonoïdes, flavonoïdes glycosylés, sucre réducteur, quinone libre et stéroïde, alcaloïdes par contre elle a révélé l'absence des tanins, saponine et des anthocyanidine.

En se basant sur les données bibliographiques, nous avons trouvé des résultats similaires aux nôtres en ce qui concerne la présence de flavonoïdes [14], alcaloïdes [94] et les flavonoïdes glycosyle [72] ; et pour les tanins complexe et saponine [14] et pour les anthocyanidine nos résultats révèlent leur absence par rapport à d'autres travaux. Ils ont aussi révélé la présence d'autres composés : les terpènes [14] et les coumarins [94], la différence dans la composition en métabolites secondaires est peut-être dû à la différence climatique d'une région à une autre.

III.3 Teneur en flavonoïdes et polyphénols totaux

Les flavonoïdes ont été quantifiés selon la méthode de **Topçu et al**, basés sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes, le résultat est obtenue par l'apparition de couleur jaune, (voir la figure 24) [77].

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de FCR [78] selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al** [79]. On a obtenu une couleur bleue foncé comme résultats (voir figure 24).

Chapitre III : Résultats et discussion

La teneur en flavonoïde et polyphénols est exprimée en microgramme équivalent en acide gallique ou quercétine par milligramme de l'extrait, les résultats ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ou la quercétine dans une gamme de concentrations allant de 3,125 à 200 µg/ml. Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols et des flavonoïdes sont les moyennes de trois répétitions plus ou moins l'écart-type. L'équation est sous forme $y = a x + b$. (Voir figure 25 et 26)

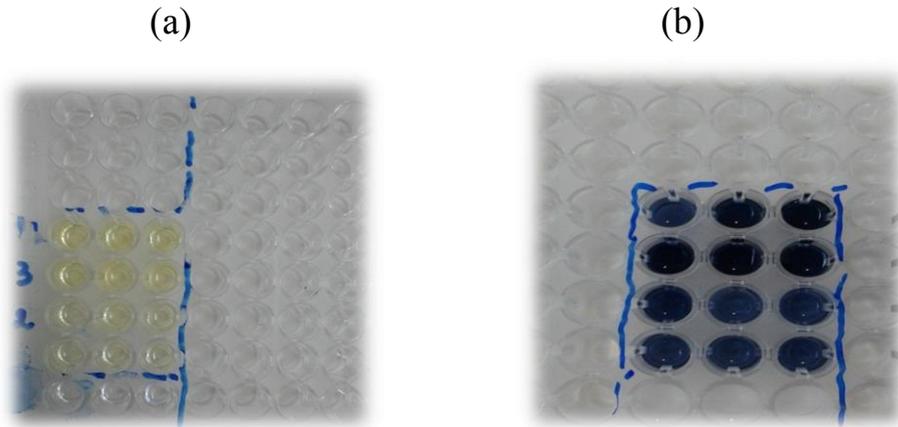


Figure 24 Dosage des polyphénols (b) et flavonoïdes (a).

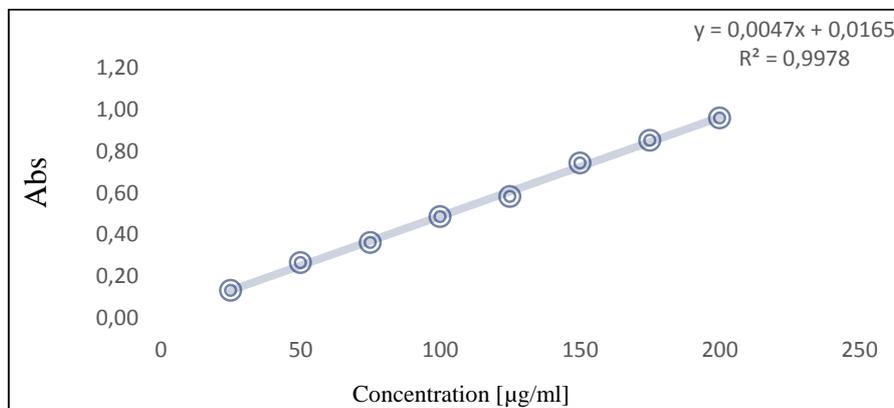


Figure 25 Courbé d'étalonnage de la quercétine.

Chapitre III : Résultats et discussion

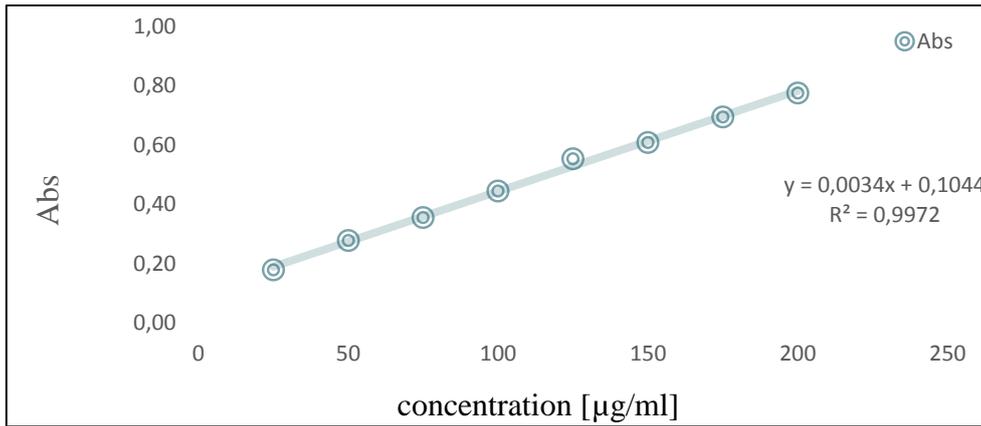


Figure 26 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de polyphénols et flavonoïdes totaux sont présentés comme suit :

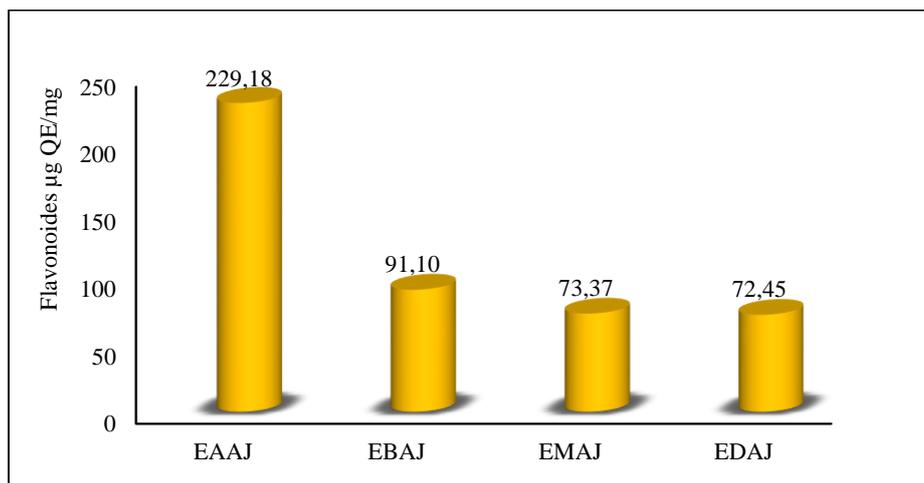


Figure 27 Histogramme présente les différents teneurs en flavonoïdes des différents extraits.

D'après les résultats obtenus (**voir figure 27**), tous les extraits possèdent une importante quantité de flavonoïdes. L'acétate d'éthyle est le plus riche en flavonoïdes que les autres extraits avec une valeur de $299,18 \pm 5,91 \mu\text{g QE/mg}$, alors que le taux des autres extraits sont beaucoup plus faible, que l'acétate d'éthyle, dont le taux du n-butanol est de $91,10 \pm 1,57 \mu\text{g QE/mg}$, le méthanol et le dichlorométhane ont des quantités presque identique : $73,3 \pm 2,47 \mu\text{g QE/mg}$ et $72,45 \pm 3,90 \mu\text{g QE/mg}$ respectivement. On peut dire que l'extrait brut été plus riche en flavonoïdes a polarité modéré car l'EAAJ a une teneur plus élevé que le EBAJ qui est à polarité élevé.

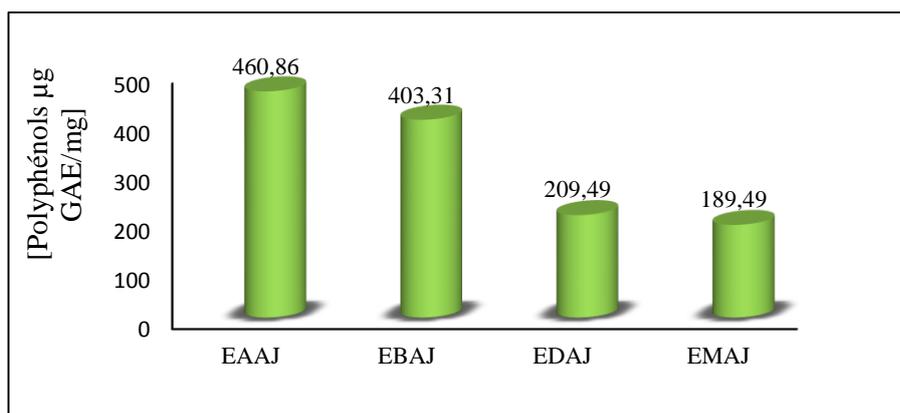


Figure 28 Histogramme présente les teneurs en polyphénols des différents extraits.

D'après les résultats obtenus (**voir figure 28**), toutes les fractions ainsi que l'extrait brut ont une importante teneur en composée phénolique, cependant les fractions polaires :acétate d'éthyle et le n-butanol, ont les résultats les plus significatifs par rapport aux deux autres extraits, donc ils sont plus riches en composée phénolique, avec des concentrations de $460,86 \pm 7,83 \mu\text{gGAE/mg}$ et $403,31 \pm 5,15 \mu\text{g GAE/mg}$ respectivement, puis vient ensuite l'extrait dichlorométhane et l'extrait méthanol avec une teneur presque identique de $209,49 \pm 5,34 \mu\text{g GAE/mg}$, $189,49 \pm 2,21 \mu\text{g GAE/mg}$ respectivement. Donc on conclue que l'extrait brut est riche en composés phénoliques polaires que les autres extraits.

Cette grande différence dans les teneurs phénoliques entre les extraits peut être le résultat vraisemblablement du fait que le dosage par le réactif FCR n'est pas spécifique seulement aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif comme les protéines, les sucres, donnant un taux phénolique apparent élevé [95]. Ou on peut dire que la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits [96].

Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol présentent une teneur de polyphénols et flavonoïdes plus élevée que l'extrait brut, cela peut être dû à l'interférence des différents composés dans ce dernier.

Des travaux sur *A. judaica* L révèlent que l'extrait méthanolique 70% à une teneur en flavonoïdes de $35,77 \text{ mg EQ/g Ps}$ et de 100 mg EQ/g Ps en polyphénols [72]. Aussi d'autres études concernant les différentes espèces du genre *Artemisia* révèlent des résultats élevés en flavonoïdes et polyphénols : 91 et $19,47 \text{ mg EAC/g Ps}$ pour l'extrait acétate d'éthyle d'*A. com-*

Chapitre III : Résultats et discussion

pestris [97] et 2,11 et 0,30 mg EAC/g Ps pour l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* [98] respectivement. Ces résultats sont supérieurs à celle de nos extraits, on peut dire que la plante *Artemisia judaica* est moins riche en composés phénoliques et flavonoïdes que les autres espèces, mais ces résultats sont obtenus dans des condition d'extraction différentes, donc on ne peut pas faire une comparaison complète, car la méthode d'extraction influence sur la quantité totale et la teneur en phénols et en flavonoïdes [93].

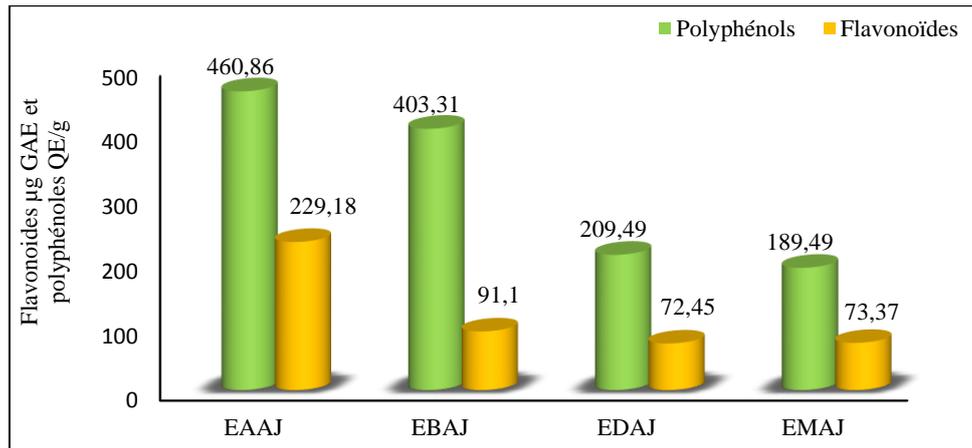


Figure 29 Comparaison entre la teneur en polyphénols (vert) et flavonoïdes (jaune).

D'après l'histogramme présenté dans la **figure 29**, on constate que les extraits sont plus riches en polyphénols qu'ont flavonoïde et que le taux de flavonoïde représente 49,73 % pour l'extrait acétate d'éthyle et 22,59 % pour le n-butanol et 34,60 % et 38,72 % pour l'extrait dichlorométhane et l'extrait méthanolique respectivement. De ça en déduit que cette plante contient d'autres composés phénoliques en plus des flavonoïdes. Une étude a démontré qu'en plus des flavonoïde il y a la présence d'autres familles chimiques : les tannins ; les anthocyanes, les glucosides, les saponosides [72]. Les composés phénoliques et les flavonoïdes sont détectés en forte quantité uniquement dans les extraits polaires.

III.4 Activités biologique de l'extraits de la plantes

Tous les extraits ont des pourcentages d'inhibition ou des absorbances qui augmentent avec l'augmentation de la concentration et aussi avec l'augmentation de l'efficacité de l'activité biologique.

✚ Les pourcentages d'inhibition ainsi que les absorbances des différents extraits pour les différents tests sont présenté dans **l'annexe II**.

III.5 Activité antioxydant

Il est préférable d'utiliser plusieurs méthodes pour mesurer l'activité antioxydante, car chaque méthode est spécifique par son mode d'action [99].

Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits sont : DPPH, ABTS^{•+}, CUPRAC, GOR et phénantroline.

A. Activité anti-radicalaire DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire DPPH des extraits, a été effectuée selon la méthode décrite par Blois [82], l'apparition d'une couleur jaune signifie que le DPPH de couleur violette a été réduit par un antioxydant (voir figure 30). Les résultats sont ensuite comparés aux références, le BHA et le BHT.

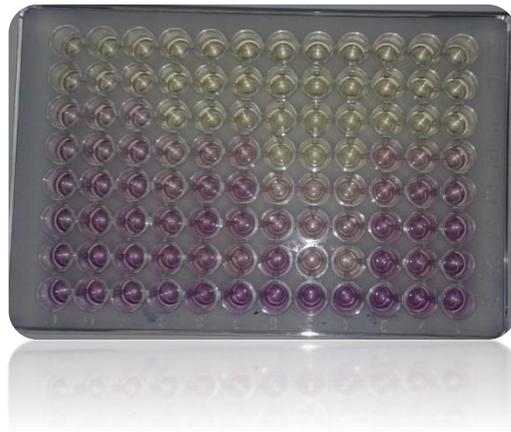


Figure 30 Test du DPPH sur microplaque

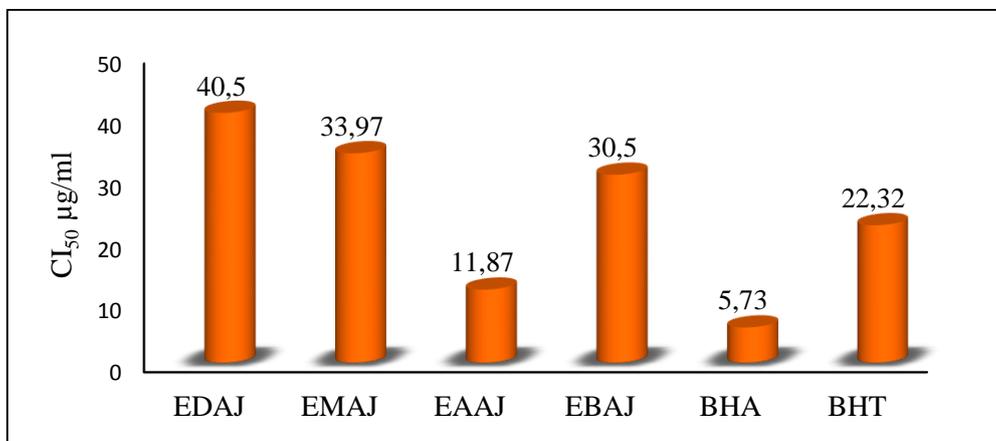


Figure 31 Valeurs des CI₅₀ au test DPPH.

Chapitre III : Résultats et discussion

D'après l'histogramme présenté dans la **figure 31**, on a pu constater que parmi les extraits, seule l'EAAJ à manifester la meilleur activité avec une $CI_{50} = 11,87 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$, cette activité est deux fois supérieure à celle du standard le BHT ($22,32 \pm 1,19 \mu\text{g/ml}$), et proche à celle du standard le BHA ($5,73 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$).

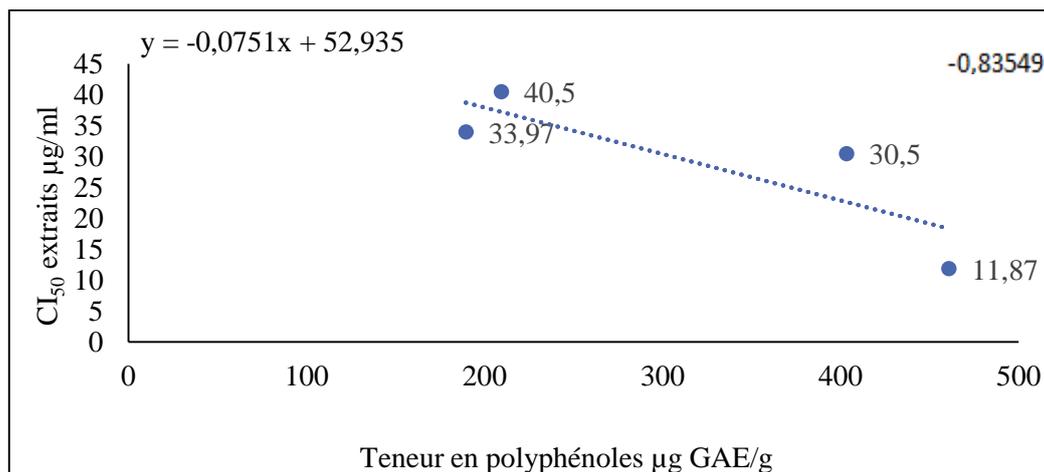


Figure 32 Corrélation entre la teneur en polyphénols et les valeurs des CI_{50} des extraits.

D'après la courbe présentée dans la **figure 32**, on observe une bonne corrélation avec un coefficient de régression linéaire proche de 1, donc il y a une forte relation entre les polyphénols et les valeurs des CI_{50} , puisque à chaque fois que les polyphénols augmentent les CI_{50} diminuent. Donc on peut dire que l'activité antioxydante des différents extraits peut être expliquée par leur richesse en composés phénoliques. Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et ils sont capables de piéger les radicaux libres [100]. Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, l' α -tocophérol, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH [101].

Nos recherches bibliographiques nous ont permis de trouver des travaux réalisés dans les mêmes conditions donc on a comparés nos résultats avec des travaux faits sur une huile essentielle de la même espèce ou l'huile a manifesté une $CI_{50} = 200 \mu\text{g/ml}$ à la concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$ [72]. Cette huile essentielle est faible en activité par rapport à nos extraits et cela est dû à la non présence des composés polaires dans les huiles.

B. Activité antiradicalaires ABTS⁺

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al [80]**, l'activité totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS⁺ obtenu à partir de l'ABTS le résultat est obtenue par le changement de la couleur du bleu vers l'incolore. (Voir figure 30)

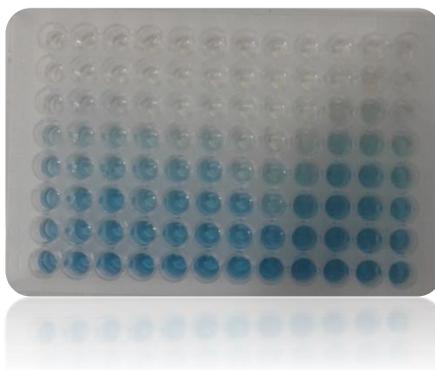


Figure 33 Test ABTS sur plaque à 96 puits

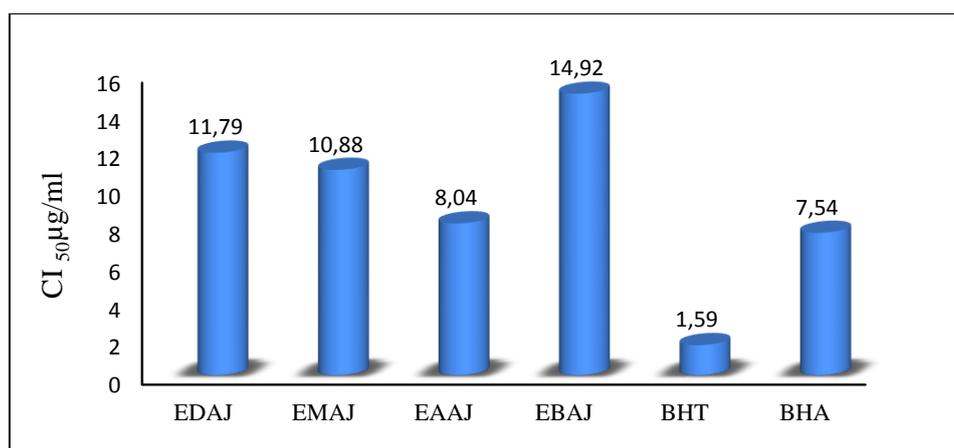


Figure 34 Valeur d'CI₅₀ pour le test ABTS.

La fraction acétate d'éthyle a manifesté le meilleur pouvoir antioxydant avec une CI₅₀ = 8,05±0,27 µg/ml meilleurs aux autres extraits qui ont des CI₅₀ proches : 11,79±0,33µg/ml ; 10,88±0,65µg/ml et 14,92±0,87µg/ml pour l'EDAJ, EMAJ et EBAJ respectivement. On comparant l'EAAJ avec les standards on constate que sa valeur d'CI₅₀ est presque égale à celle du BHA et proche a cele du BHT, L'EBAJ est plus polaire et il a présenté une activité antioxydante moyenne par rapport aux EDAJ et EMAJ, on peut dire que les polyphénols qui ont réduit le radicale ABTS sont majoritaire dans ces extraits et minoritaire dans l'extrait butanolique.

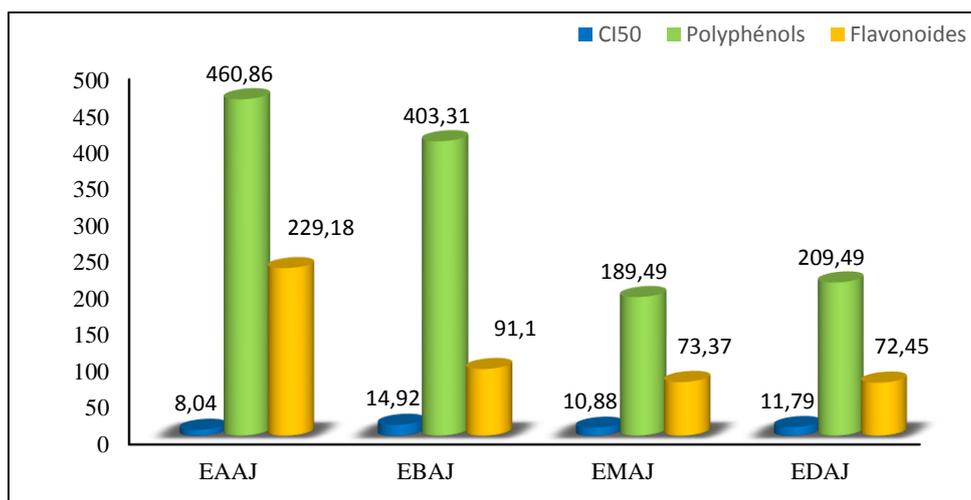


Figure 35 Comparaison entre les valeurs d'CI₅₀ de l'ABTS des différents extraits et celle des composés phénoliques et flavonoïdes

A partir de la **figure 35** on constate que les CI₅₀ diminuent avec l'augmentation des composés phénoliques et flavonoïdes mais ce n'est pas le cas chez l'EBAJ car il a une teneur plus élevée en polyphénols et flavonoïdes mais ils présentent une faible activité antioxydante par rapport aux EMAJ et EDAJ cela peut être expliqué par le fait que tous les molécules faisant partie des composés phénoliques et flavonoïdes ne peuvent avoir une activité antioxydante ou que certaines composés n'ont pas pu réagir correctement avec la molécule d'ABTS. Certains travaux ont trouvé que une teneur élevée en flavonoïdes ne signifie pas nécessairement une capacité élevée antioxydante [99].

Parmi les peu de travaux réalisés sur la même espèce en ce qui concerne l'activité antioxydante ABTS cette plante a révélé un grand pouvoir antioxydant [4], mais une autre étude a montré que *A. judaica* a une faible activité antioxydante en la comparant à d'autres plantes [102].

C. Teste de galvinoxyl

L'activité du radical galvinoxyl est déterminée par la méthode de Shi *et al* [85]. (Voir **figure 36**)

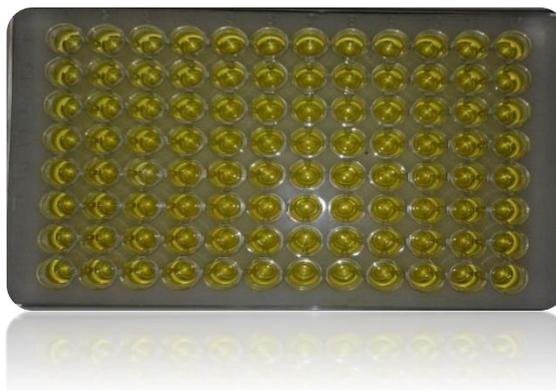


Figure 36 Profil de microplaque obtenu du GOR.

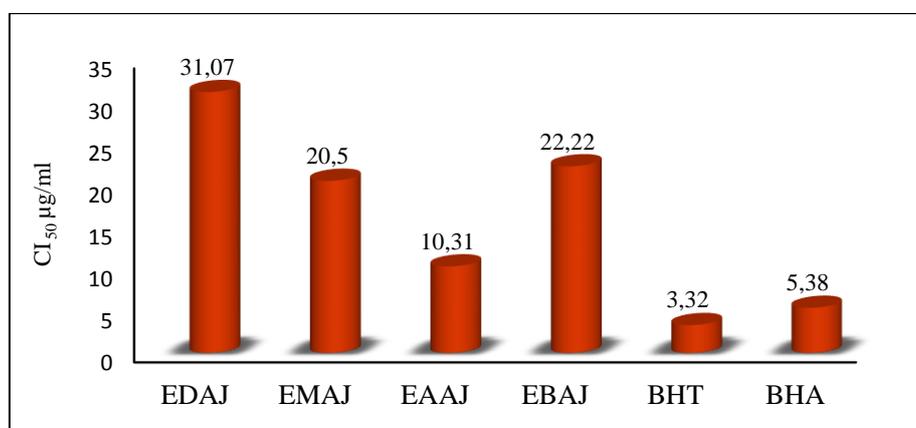


Figure 37 Valeur des CI₅₀ dans le test GOR.

De l'histogramme présenté par la **figure 37** on observe que l'extrait acétate d'ethyle a la meilleur valeur d'CI₅₀ = 10,31 ± 0,11 µg/ml, donc c'est l'extrait qui a le pouvoir anti-radicalaire le plus élevé, par contre si on le compare avec les valeurs d'CI₅₀ des standards (BHA = 5,38 ± 0,06 ; BHT = 3,32 ± 0,18 µg/ml) ce même extrait a une valeur proche de CI₅₀ ce qui veut dire que son activité antioxydante est par rapport au standard bonne.

Les extraits en présenté une bonne activité antioxydante, dû surement la richesse de ces extraits en composée phénolique qui ont la capacité de réduire la molécule galvinoxyle.

D. Test CUPRAC

Ce test est déterminé par la méthode **Apak et al [84]**, basé sur le suivie de la diminution de l'absorbance accrue du complexe néocuproéne-cuivre (Cu⁺²) en présence d'un agent antioxydant. (**Voir figure 38**)

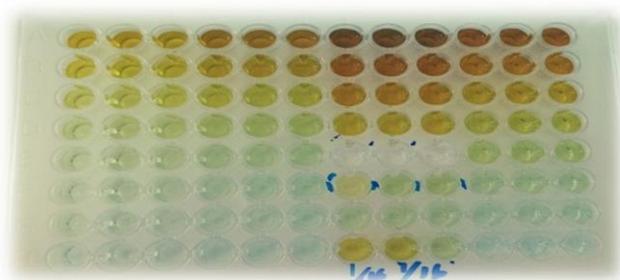


Figure 38 Profil de microplaquette obtenu d’CUPRAC.

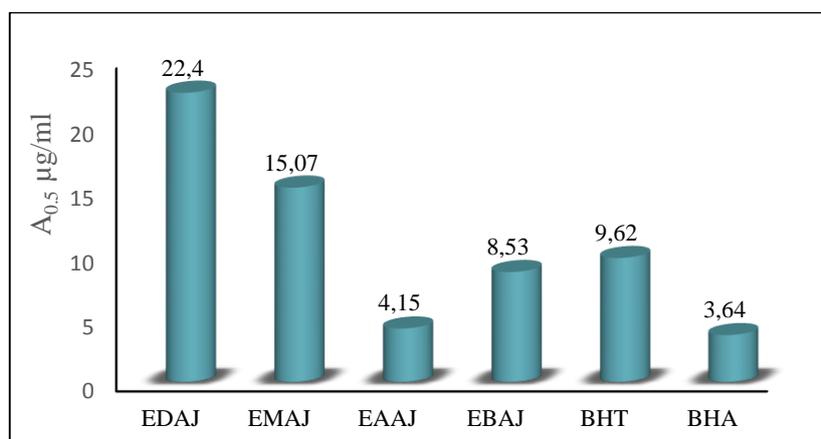


Figure 39 Valeur d’ $A_{0.5}$ pour le test CUPRAC.

En observant la **figure 39** on remarque que, parmi les extraits c’est l’acétate d’éthyle et le n-butanol qui ont les meilleurs valeurs de $A_{0.5}$ de $4,15 \pm 0,75$; $8,53 \pm 0,18$ respectivement. En comparaison avec les standards on remarque que la valeur $A_{0.5}$ de l’acétate d’éthyle est meilleure par rapport à celle du BHT = $9,62 \pm 0,87$; et proche de celle du BHA = $3,64 \pm 0,19$, cependant l’extrait n-butanol a une valeur très élevée par rapport au BHA, et proche à celle du BHT. On conclue que les deux extraits EAAJ et EBAJ ont pu réduire le complexe neocupronin d’une manière comparable à celle des standards.

E. Test phénanthroline

La méthode de la phénanthroline est basée sur la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} par un antioxydant. Le Fe^{2+} formé a réagi avec l’orthophénanthroline pour donner un complexe rouge orange. elle est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka [87]**. Le BHT est utilisé comme standard.

Chapitre III : Résultats et discussion

Parmi les extraits seuls l'acétate d'éthyle a révélé une absorbance supérieure à 0.5 de $0,65 \pm 0,01$ à la concentration de $50 \mu\text{g/ml}$, par rapport au standard l'acétate d'éthyle a présenté une absorbance faible par rapport au BHT ($4,84 \pm 0,01$). En les comparants au réduction des standards utilisés à la concentration $50 \mu\text{g/ml}$ nos extraits n'ont pas pu réduire le complexe Fe-orthopénanthroline.

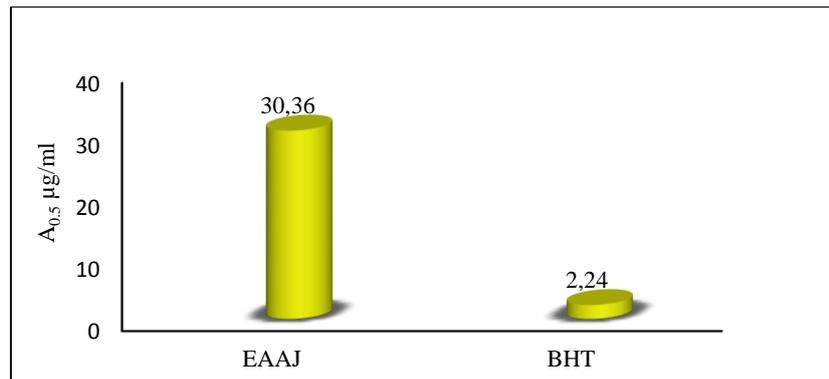


Figure 40 Valeur d' $A_{0,5}$ du test phénanthroline.

L'acétate d'éthyle révélé une valeur très élevé d' $A_{0,5}$ qui est de $30,36 \pm 2,42 \mu\text{g/ml}$ par rapport au standard BHT qui est de $2,24 \pm 0,17$, donc on peut dire que l'EAAJ a une activité antioxydante vis-à-vis de la phénanthroline moyenne à celle du standard.

- ✚ Pour tous les tests c'est l'acétate d'éthyle qui a révélé de très bon résultats antioxydante a des concentrations de $1,5625$ à $100 \mu\text{g/ml}$ comparable à celle des standard et même supérieur à eux pour certain test, mais pas pour la phénanthroline a la concentration de $50 \mu\text{g/ml}$. cette activité est dû peut être a la forte teneur de nos extraits en polyphénols et flavonoïdes ou au faite que notre plante contient différents types de polyphénols et la synergie entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir antiradicalaire important.
- ✚ En constate aussi que pour tous les tests l'extrait brute a révélé une activité antioxydante très faible par rapport à l'EAAJ peut-être est dû à des interférences entre les molécules.

Plusieurs travaux ont démontré que cette plante a une importante activité antioxydante a savoir l'étude faite par **Adel El-Sayed *et al* [4]** et celle de **el massrey *et al* [103]** A.judaica L. possède un bon pouvoir antioxydant mais avec différent valeur d' CI_{50} . La méthode d'extraction des antioxydants influe sur la capacité antioxydante. Divers facteurs tels que les conditions expérimentales, les méthodes de préparation des échantillons et la pertinence physiologique de l'échantillon. devraient être pris en compte dans l'évaluation des antioxydants [93].

III.6 Activité enzymatique

A. Acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase

L'activité inhibitrice de l'AChE et le BChE est déterminée par la méthode d'**Ellman *et al* [90]**. Le changement de couleur du jaune vers le transparent indique qu'il y a une inhibition. La Galantamine est utilisée comme solution de référence. (**Voir figure 41**)

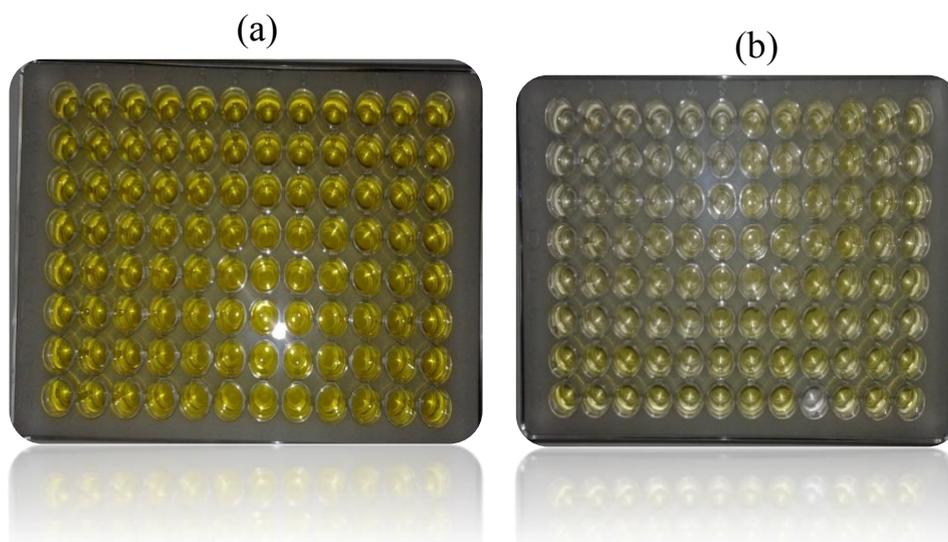


Figure 41 Profil de microplaque obtenu d'ACHE (a) et BCHE (b).

❖ Antiacétylcholinestérase

Les extraits EDAJ, EBAJ et EMAJ ont présenté un pourcentage d'inhibition très faible (inférieure à 50%) à des concentrations de 800 µg/ml, les valeurs obtenues sont incomparables au standard car ce dernier a présenté un pourcentage de $94,77 \pm 0,34$ % qui est très élevé à la concentration de 200 µg/ml, donc aucun des extraits n'a montré une activité inhibitrice significative.

Une étude a prouvé que l'extrait éthanolique de cette plante a une activité inhibitrice contre cette enzyme chez les pucerons à forte concentration [94]. Un certain nombre d'études ont attribué l'inhibition de l'AChE à la présence prédominante de squiterpènes dans les extraits. Le monoterpène alpha-pinène a été démontré comme un puissant inhibiteur de l'AChE [104], on peut dire que nos extraits ne sont peut-être pas riches en composé terpénique. D'autre étude ont prouvé que certains flavonoïdes peuvent fortement inhiber les enzymes AChE et BChE [66]; malgré que nos extraits sont riches en flavonoïdes mais ils n'ont pas présenté une bonne activité inhibitrice, cela veut dire que nos extraits sont pauvres en certains types de flavonoïdes.

❖ Butyrylcholinestérase

Seulement les deux extraits brut et EDAJ ont montré un pourcentage d'inhibition élevé de $58,01 \pm 1,05$ et $74,40 \pm 3,85$ % respectivement à une concentration de $800 \mu\text{g/ml}$ par rapport aux autres extraits donc ils ont la capacité d'inhiber l'enzyme. Par comparaison avec le standard qui a une valeur de $78,95 \pm 0,58$ % à la concentration de $200 \mu\text{g/ml}$ seul l'EDAJ à une capacité d'inhibition proche du standard. On constate aussi que l'EDAJ a présenté un pourcentage d'inhibition élevé malgré sa composition en produits apolaires, donc on peut dire que les métabolites bioactifs qui sont impliqués dans l'inhibition de l'enzyme sont des molécules de faible polarité.

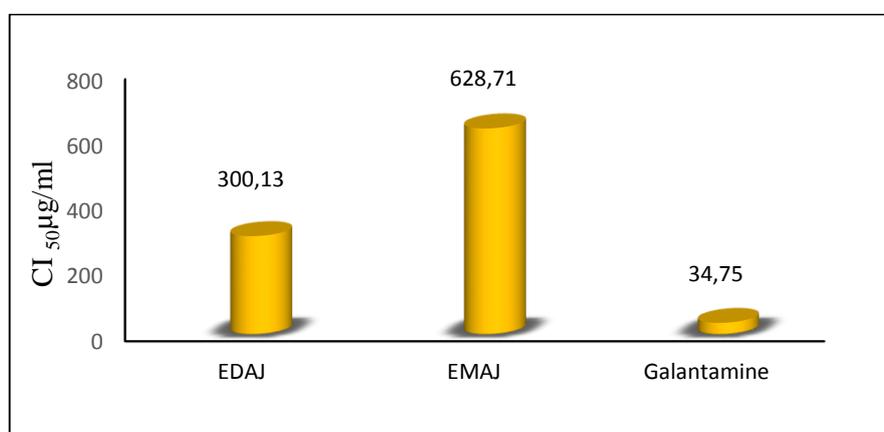


Figure 42 Histogramme des valeurs d'CI₅₀ du test BChE.

D'après l'histogramme présenté dans la **figure 42** l'EDAJ et EMAJ ont une faible activité par rapport au standard ce qui veut dire que la capacité d'inhibition est très faible par rapport à celle de la galantamine.

Des études ont révélé que le limonène qui est un composé terpénique a une activité inhibitrice modérée contre la BChE [105], de ça on peut dire que nos extraits sont pauvres en limonène. Malgré que le criblage phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes dans ces extraits mais ils ont quand même présenté une très faible inhibition car selon certains travaux, plusieurs alcaloïdes comme la galanthamine sont des inhibiteurs des cholinestérases [106].

B. Teste d'inhibition de l' α -amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisée à l'aide de la méthode iode / iodure de potassium (IKI) avec quelques modifications [88]. (Voir **figure 43**)

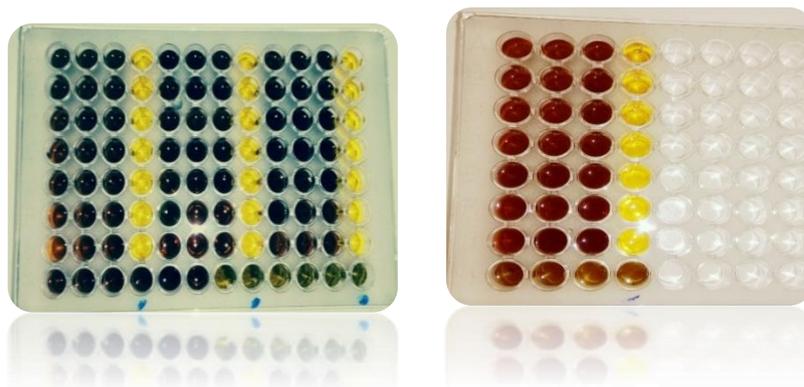


Figure 43 Profil de microplaque obtenu d' α -amylase.

Les pourcentages d'inhibition des trois fractions et celle de l'extrait brut n'ont présenté aucune absorbance à la concentration de 800 $\mu\text{g/ml}$, ce qui signifie que nos extraits ne possèdent pas d'activité inhibitrice contre cette enzyme.

Des études sur la même espèce en Arabie saoudite a montré que l'extrait méthanolique à 80% possède une activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase avec un pourcentage d'inhibition de 94 % à 4000 $\mu\text{g/ml}$ [107], ce qui est différent de ce que nous avons obtenu. Certaines études affirment que les composés phénoliques présents dans les plantes inhibent les enzymes en les hydrolysant en glucides tels que l'alpha amylase [108], mais malgré la richesse de l'EAAJ en composée phénolique cela n'a eu aucun effet sur l'enzyme, peut-être cela est dû à l'absence des polyphénols qui peuvent inhiber l'enzyme ou que ces derniers empêche son inhibition par leur interaction les unes avec les autres. Une autre étude sur *Artemisia* de Sibérie montre que les acides caféoylquiniques qui sont des polyphénols été des inhibiteurs les plus efficaces de l' α -amylase [109]. De cela on peut dire aussi que notre plante est pauvre en certaines composées phénoliques qui ont un rôle dans l'inhibition de cette enzyme.

C. Test d'inhibition de l' α -glucosidase

L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été évaluée *in vitro* par dosage du composé nitrophenyl résultant de l'hydrolyse du p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside en présence de cette enzyme. Selon de nombreuses études *in vivo*, l'inhibition de l' α -glucosidase est considérée comme l'une des approches les plus efficaces pour la maladie du diabète [89]. L'acarbose est utilisée comme standard. (Voir figure 44).



Figure 44 Profile de microplaque obtenue de l' α -glucosidase.

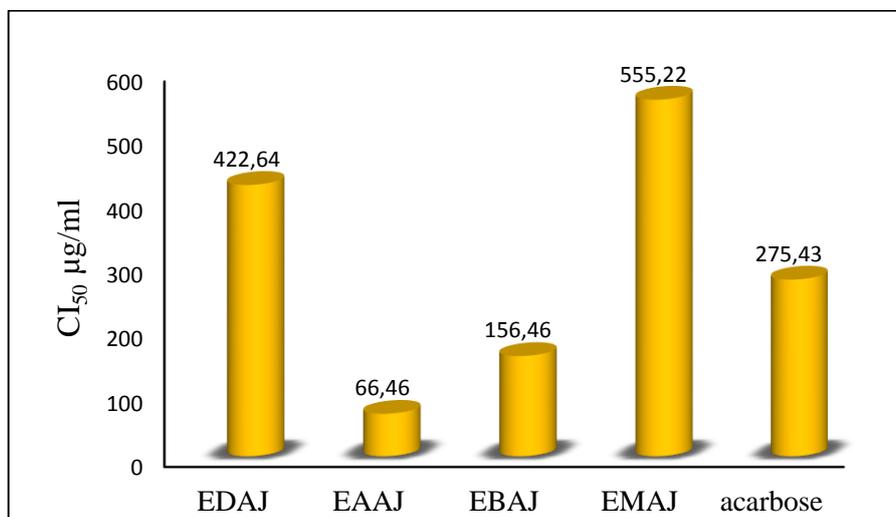


Figure 45 Valeur d'CI₅₀ du standard acarbose et les différents extraits.

De la **figure 45** on remarque que les deux extraits EDAJ et EMAJ, ont présenté une faible activité inhibitrice de l'enzyme α -glucosidase, contrairement à l'EAAJ, et EBAJ qui ont une bonne valeur d'CI₅₀ de $66,46 \pm 0,71$ et $156,46 \pm 0,69$ $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectivement, cependant l'extrait acétate d'éthyle a manifesté une très bonne activité, par rapport au standard l'acarbose ($275,43 \pm 1,59$ $\mu\text{g} / \text{ml}$). Cela est peut être dû à la richesse de l'extrait en composé phénolique car d'après certains travaux, les plantes riches en polyphénols totaux et qui ont un potentiel anti-oxydant sont généralement prescrits en médecine traditionnelle pour traiter le diabète [107], cela explique aussi la faible capacité d'inhibition des extraits de faible polarité comme le EDAJ qui est moins riches en composé phénolique, mais cela n'explique pas la faible inhibition de l'extrait brut qui est dû peut-être à l'interférence entre les molécule présente dans

Chapitre III : Résultats et discussion

l'extraits . Aussi que les composés polyphénoliques présents dans les plantes, inhibent les activités des enzymes hydrolysant les glucides, en raison de leur capacité à se fixer aux protéines [108].

D'autres études sur la même espèce réalisés en Egypte ont révélé que l'extrait méthanolique à 95% n'a aucun effet inhibiteur sur l'enzyme avec un pourcentage de 0% [110], ce qui est différent de ce que nous avons trouvé puisque dans notre cas l'EMAJ a une faible activité inhibitrice sur l'enzyme, due peut être à sa pauvreté en composée phénolique. Une autre étude sur *A. judaica* d'Arabie saoudite a démontré que l'extrait méthanolique 80% à une activité inhibitrice sur l'enzyme avec un pourcentage d'inhibition de 60% à 4000 µg/ml [107] ce qui est similaire mais cette inhibition été obtenue a des concentrations élevé. Cela peut être expliqué par la différence dans la région de récolte et aussi d'autres facteurs qui influe sur la modification de la teneur en composée phénolique.



Conclusion

Conclusion

Ce travail avait pour ambition d'évaluer l'activité antioxydante et enzymatique *in vitro*, ainsi qu'une étude phytochimique suivi d'une analyse quantitative de polyphénols et flavonoïdes des extraits d'*Artemisia judaica*.

Les tests ont été effectués sur l'extrait brut obtenu après macération dans 70% de méthanol, et les fractions dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol obtenus après décantation. Les résultats ont été comme suit : tous les extraits ont présentés une activité antioxydante mais celle de l'acétate d'éthyle a été plus élevée ; ces résultats s'expliquent par la richesse de l'extrait en composé phénolique et flavonoïdes avec des teneurs de $460,86 \pm 7,83 \mu\text{gGAE/g}$ et $229,18 \pm 5,91 \mu\text{g QE/g}$ respectivement. En ce qui concerne les tests enzymatiques seule l' α -glucosidase a pu être fortement inhibée par l'extrait acétate d'éthyle.

Ces résultats satisfaisants peuvent nous permettre de continuer à faire d'autres études *in vivo*, de plus l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, afin d'avoir une vue plus approfondie sur les activités antioxydantes et enzymatiques des extraits de cette plante. Les résultats de ces activités intéressantes nous encouragent à caractériser les molécules responsables de ces activités par des méthodes chromatographiques. Il serait aussi intéressant d'explorer les activités antibactériennes, antifongiques, anti-protozoaires...etc des extraits de cette plante.



Références bibliographique

Références bibliographique

- [1] L. Reguieg, "Using medicinal plants in Algeria," *Am. J. Food Nutr.*, vol. 1, pp. 126–127, 2011.
- [2] J. R. S. Tabuti, K. A. Lye, and S. S. Dhillion, "Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: Plants, use and administration," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 88, pp. 19–44, 2003.
- [3] H. Zabeirou, M. O. E. H. Didi, and M. Hadj-mahammed, "Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est)," *Courr. du savoir*, vol. 3, pp. 47–51, 2003.
- [4] M. A. El-Sayed, R. Baabbad, A. Balash, N. A. Al-Hemdan, and A. Softah, "The Potential Anti Helicobacter pylori and antioxidant effects of Artemisia Judaica," *Funct. Foods Heal. Dis.*, vol. 3, pp. 332–340, 2013.
- [5] A. D. P. Bidie, B. B. N'guessan, A. F. Yapo, J. D. N'guessan, and A. J. Djaman, "Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne," *Artic. Orig. Sci. Nat.*, vol. 8, pp. 1–11, 2011.
- [6] T. Dob and C. Chelghoum, "Chemical composition of the essential oil of Artemisia judaica L. from Algeria," *Flavour Fragr. J.*, vol. 21, pp. 343–347, 2006.
- [7] "Flore du monde." [Online]. Available: <http://floredumonde.blogspot.com/2014/>.
- [8] M. Gherib, "Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des flavonoïdes d'Artemisia herba alba Asso; Artemisia judaica L. ssp. sahariensis; Artemisia campestris L; Herniaria mauritanica Murb et Warionia saharae Benth. et Coll," mémoire de magister; Université Abou Belkaid-Tlemcen, Algérie, pp. 1-109, 2009.
- [9] P. Quezel and S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome II. Paris: CNRS, pp. 571-1170, 1963.
- [10] M. Gast, "Armoise," *Encycl. berbère*, vol. 6, pp. 1–6, 1989.
- [11] C. Z. Liu, S. J. Murch, and M. El-Demerdash, "Regeneration of the Egyptian medicinal plant Artemisia judaica L.," *Plant Cell Rep*, vol. 21, pp. 525–530, 2003.
- [12] N. Benmansour, A. Benmansour, F. El Hanbali, M. C. González-Mas, M. A. Blázquez, A. El Hakmaouib and M. Akssira, "Antimicrobial activity of essential oil of Artemisia judaica L. from Algeria against multi-drug resistant bacteria from clinical origin," *Flavour Fragr. J.*, vol. 31, pp. 137–142, 2016.

Références bibliographique

- [13] P. Janačković, J. ovaković, M. Soković, L. Vujisić, A. A. Giweli, Z. Dajić Stevanović and P. D. Marin, “Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia judaica*, *A. Herba-Alba* and *A. arborescens* from Libya,” *Arch. Biol. Sci.*, vol. 67, pp. 455–466, 2015.
- [14] S. M. Nofal, S. S. Mahmoud, A. Ramadan, G. A. Soliman, and R. Fawzy, “Anti-Diabetic effect of *Artemisia judaica* extracts,” *Res. J. Med. Med. Sci.*, vol. 4, pp. 42–48, 2009.
- [15] S. A. M. Abdelgaleil, M. A. Abbassy, A. S. H. Belal, and M. A. A. Abdel Rasoul, “Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L.,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 5947–5950, 2008.
- [16] S. Charchari, “The essential oil of *artemisia judaica* l. from algeria,” *J. Essent. Oil Res.*, vol. 14, pp. 16–17, 2002.
- [17] G. Berkal and S. Bouchama, “Etude phytochimique et activités biologiques d’une plante médicinale : *Euphorbia characias* L. Présenté,” mémoire de master, Universités des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie, pp. 1-60, 2016.
- [18] N. Ababsa and H. E. K. Boukaous, “Etude phytochimique et activités biologiques de l’extrait méthanolique d’*artemisia herba alba*,” Université des memoire de mastère, université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie, pp. 1-89, 2018.
- [19] S. Mansour, “Evaluation de l’effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* - Etude in vivo -,” thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie d’Oran Mohamed Boudiaf, Algerie, pp. 1-105, 2015.
- [20] H. Djeghim, “Etude phytochimique et biologique d’une plante médicinale Algérienne du Genre *Genista* (Fabaceae),” mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algerie, pp.1-73, 2016.
- [21] C. Lambert, “Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne Contre Les maladies du bois,” thèse de doctorat, université Bordeaux 2 Segalen, Francais, pp. 1-179, 2011.
- [22] I. Hmid, “Contribution a la valorisation alimentaire de la grande Marocaine (*Punica Granatum* L.): caracterisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais,” hese de doctorat, Université ED VENAM/ ED Béni Mellal, Maroc, pp. 1-177

Références bibliographique

- 2013.
- [23] A. Chalal and L. Tighrmine, “Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l’ extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* L,” Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira Bejaia, Algerie, pp. 1-38, 2012.
- [24] M. Nabors, *biologie végétal structure fonctionnement ecologie et biotechnologie*, 1e édition. Paris: Pearson education, pp. 1-614, 2008.
- [25] H. Rahou, “Estimation quantitative des polyphénols totaux et évaluation de l’activité anti-oxydante de trois espèces de *Lavandula* de la région de Tlemcen,” mémoire de mastère, Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algerie, pp. 1-34, 2017.
- [26] S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras, and M. J. Tuñón, “Flavonoids: properties and anti-oxidizing action.,” *Nutr. Hosp.*, vol. 17, pp. 271–278, 2002.
- [27] D. Labbé, “Les flavonoïdes d’origine alimentaire et le cancer inhibition de l’angiogenèse tumorale et du potentiel invasif des médulloblastomes,” Mémoire de master, Université du Québec a Montéeial, Canada, pp. 1-133, 2008.
- [28] F. Pessel, “Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisés par le glucose comme antioxydants potentiels,” thèse de doctorat, Université Paris Sud - Paris XI, Français, pp. 1-161, 2014.
- [29] M. K. Hossain A. A. Dayem, J. Han, Y. Yin, K. Kim, S. Kumar Saha, G-M. Yang, H. Y. Choi and S-G. Cho, “Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, 2016.
- [30] J-F. Morot-Gaudry, R. Prat, I. Bohn-courseau, M. Jullien, F. Percy, C. Perrot-Rechenmann, M. Reisdorf-Rren, L. Richard, A. Savouré., *biologie végétal croissance et développement*, 2e édition. paris: Dunod, pp. 1-256, 2012.
- [31] N. Hamza, “Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J,” these de doctorat, Université Mentouri de Constantine 1, Algérie, pp. 1-139, 2011.
- [32] L. Messai, “Etude phytochimique d’une plante médicinale de l’est Algérien (*Artemisia Herba alba*),” thèse de doctora; Université Mentouri Constantine 1, Algérie, pp. 1-96,

Références bibliographique

- 2011.
- [33] S. Chibani, “Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l’est Algérien,” thèse de doctorat, Université des frères mentouri Constantine1, Algerie, pp. 1-163, 2013.
- [34] A. Lamarti, A. Badoc, G. Deffieux, and J.-P. Carde, “Biogénèse des monoterpènes (*) ii-la chaîne isoprénique,” *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, vol. 133, pp. 79–99, 1994.
- [35] R. Nagel, J. Gershenzon, and A. Schmidt, “Nonradioactive assay for detecting isoprenyl diphosphate synthase activity in crude plant extracts using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry,” *Anal. Biochem.*, vol. 422, pp. 33–38, 2012.
- [36] J. Dunet, “Reactions de Michael et de Mannich appliquées à des arylcyclohexa-2,5-diènes en vue de la synthèse d’alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes.,” thèse de doctorat, Université Bordeaux I, Français, pp. 1-245, 2009.
- [37] M. N. Muniz, “Synthèse d’alcaloïdes biologiquement actifs : la (+) -anatoxine-a et la (±) -camptothécine,” thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier - Grenoble I, Français. pp 1-181, 2007.
- [38] “Morphine.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5288826>.
- [39] “Quinine.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quinine>.
- [40] J. Ceccon, “Synthèse Totale d’Alcaloïdes Polyhydroxylés : la (-)-Swainsonine, la (+)-6-Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (-)-Détoxinine,” thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Français, pp. 1-151, 2015.
- [41] J. Pincemail, K. Bonjean, K. Cayeux, and J. O. Defraigne, “Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante,” *Nutr. Clin. Metab.*, vol. 16, pp. 233–239, 2002.
- [42] J. Haleng, J. Pincemail, J. O. Defraigne, C. Charlier, and J. P. Chapelle, “Le stress oxydant,” *Rev Med Liege*, vol. 62, pp. 628–638, 2007.
- [43] C. Migdal and M. Serres, “Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant,” *Medecine/Sciences*, vol. 27, pp. 405–412, 2011.
- [44] T. Burg, “Les maladies neuro-dégénératives,” *Planet-Vie*, 2017. [Online]. Available: <https://planet-vie.ens.fr/article/2383/maladies-neurodegeneratives>.

Références bibliographique

- [45] X. Leverve, “Stress oxydant et antioxydants ?,” *Cah. Nutr. Diététique*, vol. 44, pp. 219–224, 2009.
- [46] F. Klibet, “Impact du sélénium sur la cytotoxicité induite par l’arsenic chez le rat de la souche Wistar : Exploration des effets protecteurs de *Pistacia lentiscus*,” these de doctorat, université Badji Moukhtar-Annaba, Algérie, pp.1-156, 2016.
- [47] F. Tessier and P. Marconnet, “Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice,” *Sci. Sport.*, vol. 10, pp. 1–13, 1995.
- [48] A. Favier, “le stress oxydant,” *Actual. Chim.*, pp. 108–115, 2003.
- [49] M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, and D. Jore, “Espèces réactives de l’oxygène. Comment l’oxygène peut-il devenir toxique?,” *Actual. Chim.*, vol. 269, pp. 91–96, 2003.
- [50] A. Guillouty, “Plantes médicinales et antioxydants,” these de doctorat, Université de Toulouse III Paul Sabatier, Français, pp.1-95, 2016.
- [51] B. Garait, “Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GLISODIN®,” these de doctorat, Université Joseph-Fourier - Grenoble I, Français, pp.1-159, 2006.
- [52] C. Koechlin-Ramonatxo, “Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires,” *Nutr. Clin. Metab.*, vol. 20, pp. 165–177, 2006.
- [53] C. Poisson-Moreau de Lizorieux, “Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l’uranium après exposition chronique,” these de doctorat, Université Paris Sud - Paris XI, Français, pp.1-113, 2013.
- [54] C. N. Tsumbu Cesar, G. Deby-Dupont, M. Tits, L. Angenot, M. Frederich, S. Kohnen, A. Mouithys-Mickalad, D. Serteyn and T. Franck., “Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, pp. 628–650, 2012.
- [55] J. P. Zegarac, “Antioxidants: Mechanisms of Action and Effectiveness,” *brunswicklab*, 2016. [Online]. Available: <https://brunswicklabs.com/blog/antioxidants-mechanisms-of-action-and-effectiveness/>.

Références bibliographique

- [56] D. Durand, M. Damon, and M. Gobert, “Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux,” *Cah. Nutr. Diet.*, vol. 48, pp. 218–224, 2013.
- [57] F. Sekli-belaidi, “Fonctionnalisation de surfaces d’électrodes par un film de poly(3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l’élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l’étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin,” Thèse de doctora, Université, Toulouse III - Paul Sabatier, France, pp. 1-168., 2011.
- [58] R. I. M. Van Haaften, G. R. M. M. Haenen, C. T. A. Evelo, and A. Bast, “Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes,” *Drug Metab. Rev.*, vol. 35, (2–3), pp. 215–253, 2003.
- [59] D. Bonnefont-Rousselot, J. L. Beaudeux, P. Thérond, J. Peynet, A. Legrand, and J. Delattre, “Diabète sucré, stress oxydant et produits, de glycation avancée,” *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 62, pp. 147–157, 2004.
- [60] H. Bennacer, “Effet inhibiteur des extraits de *Zygophyllum geslini* sur l’activité d’alpha-amylase,” Mémoire de master, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, pp. 1-32, 2017.
- [61] B. Willemin, A. Stahl, A. M. Lamalle, J.F. Blicklé, and J. M. Brogard, “Inhibiteurs des alpha-glucosidases une nouvelle approche thérapeutique du diabète et des hypoglycémies fonctionnelles J.M.,” *Rev Med Interne*, vol. 10, pp. 365–374, 1989.
- [62] G. Oboh, O. B. Ogunsuyi, M. D. Ogunbadejo, and S. A. Adefegha, “Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose,” *J. Food Drug Anal.*, vol. 24, pp. 627–634, 2016.
- [63] C. C. Liu, T. Kanekiyo, H. Xu, and G. Bu, “Apolipoproteine and Alzheimer disease: Risk, mechanisms and therapy,” *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 9, pp. 106–118, 2013.
- [64] J. Gaugler, B. James, T. Johnson, K. Scholz, and J. Weuve, “2019 Alzheimer’s disease facts and figures,” *Alzheimer’s Dement.*, vol. 12, pp. 459–509, 2019.
- [65] E. L. Barns and S.L. Gray, “Donepezil use in Alzheimer disease,” *Ann. Pharmacother.*, vol. 32, pp. 70–77, 1998.
- [66] H. Khan, Marya, S. Amin, M. A. Kamal, and S. Patel, “Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects,”

Références bibliographique

- Biomed. Pharmacother.*, vol. 101, pp. 860–870, 2018.
- [67] Y. H. Kim and S. H. Lee, “Invertebrate acetylcholinesterases: Insights into their evolution and non-classical functions,” *J. Asia. Pac. Entomol.*, vol. 21, pp. 186–195, 2018.
- [68] H. Mabrouk, H. Mechria, A. Mechri, H. Rahali, W. Douki, L. Gaha. M. F. Najjar., “Étude de l’activité butyrylcholinestérase chez des patients schizophrènes Butyrylcholinestérase activity in schizophrenic patients,” *Ann Biol Clin Biol Clin*, vol. 69, pp. 52–647, 2011.
- [69] G. Debuigne and F. Couplan, *Petit Larousse des plantes médicinales*, 1er éditio. Larousse, pp. 1-383, 2009.
- [70] G., Ehiowemwenguan, J. E. Inetianbor, and J. M. Yakubu, “Antimicrobial Qualities of Senna Alata,” *IOSR J. Pharm. Biol. Sci.*, vol. 9, pp. 47–52, 2014.
- [71] S. Himour, A. Yahia, H. Belattar, and L. Bellebcir, “Etude phytochimique de feuilles d’*Olea europaea L. var Chemlel* d’Algérie,” *J. Bioresour. Valorization*, vol. 1, pp. 34–38, 2016.
- [72] N. Benmansour, “Etude des activités antioxydantes et antibactériennes de l’*Artemisia judaïca L.* par les composés du métabolisme secondaire,” Thèse de doctorat, Université Abou-Bakr-Belkaid Telemcen, Algérie, pp. 1-209, 2016.
- [73] H. Iqbal, M. U. R. Khattak, Riaz Ullah, M. Zia, and N. Khan, F. A. Khan, Zahoor Ullah, S. Haider “Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan,” vol. 5, pp. 746–750, 2011.
- [74] Y-A. Bekro, J. A. M. Beko, B. B. Boua, F. H. Tra Bi, and E. Ehile, “Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae),” *Sci. Nat.*, vol. 4, pp. 217–225, 2007.
- [75] N. Koffi, K. Beugré, Z. N. Guédé, T. Dossahoua, and A-A. Laurent, “Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire),” *Sci. Nat.*, vol. 6, pp. 1–15, 2009.
- [76] N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouche, L. M. I. Hassani, A. Badoc, N. Gmira., “Screening phytochimique d’une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*,” *Bull.Soc.Phar.Bordeaux*, vol. 142, pp. 61–78, 2003.

Références bibliographique

- [77] G.Topçu, A. Ay, A. Bilici, C. Sarıkürkcü, M. Öztürk, and A. Ulubelen, “A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*,” *Food Chem.*, vol. 103, pp. 816–822, 2007.
- [78] V. L. Singleton and J. A. J. Rossi, “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents,” *Amer. J. Enol. Viticult*, vol. 16, pp. 144–158, 1965.
- [79] L. Müller, S. Gnoyke, A. M. . Popken, and V. Böhm, “Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 43, pp. 992–999., 2010.
- [80] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay,” *Free Radic. Bio. Med*, vol. 26, pp. 1231–1237., 1999.
- [81] Z. Chen and G. Yin, “Nitrogen-doped Carbon Nanodots for bioimaging and delivery of paclitaxel,” *R. Soc. Chem.*, pp. 1–18, 2013.
- [82] M.S. Blois, “Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical,” *Nature*, vol. 4617 (181), pp. 1119–1200, 1958.
- [83] S. de Oliveiraa, G. A. de Souzaa, C. R. Eckerta, T. A. Silvaa, E. S. Sobralb, O.A.Fáverob, M. J. P. Ferreirab, P. Romoffb and Wilhelm Josef Baadera., “Evaluation Of Antiradical Assays Used In Determining The Antioxidant Capacity Of Pure compounds and plant extracts,” *Quim. Nov.*, vol. 37, pp. 497–503, 2014.
- [84] R. Apak, K. Guclu”, M. Ozyurek, and S. E. Karademir, “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,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, pp. 7970–7981, 2004.
- [85] H. Shi, N. Noguchi, and E. Niki, “Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity,” *Methods Enzym.*, vol. 335, pp. 157–66., 2001.
- [86] R. Amorati and L. Valgimigli, “Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants,” *Free Radic. Res.*, vol. 49, pp. 633–649, 2015.
- [87] A. Szydłowska-Czerniaka, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, and E. Szlyk, “Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion

Références bibliographique

- spectrophotometric methods,” *Talanta*, vol. 76, pp. 899–905., 2008.
- [88] G. Zengin, C. Sarikurkcu, A. Aktumsek, R. Ceylan. O. Ceylan, “A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 53, pp. 244–251, 2014.
- [89] S. Lordan, T. J. Smyth, A. Soler-Vila, C. Stanton, and R. P. Ross, “The alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts,” *Food Chem.*, vol. 141, pp. 2170–2176, 2013.
- [90] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, and R. M. Featherston, “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 7, pp. 88–95, 1961.
- [91] M. S. Ali-Shtayeh, R. M. Jamous, S. Y. Abu Zaitoun, I. B. Qasem, and M. S. Ali-Shtayeh, “In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer’s disease,” *Funct. Foods Heal. Dis.*, vol. 4, pp. 381–400, 2014.
- [92] S. Al-kharabsheh, M. Al-dabbas, and H. Ghazzawi, “Antioxidant activity and α -amylase inhibitory effect of selected medicinal plants grown in Jordan : an in-vitro study,” *J. Arab Soc. Med.*, vol. 12, pp. 19–26, 2017.
- [93] K. W. Lee, Y. J. Kim, H. J. Lee, and C. Y. Lee, “Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, pp. 7292–7295, 2003.
- [94] F. Acheuk, W. Lakhdari, K. Abdellaoui, M. Belaid, R. Allouane, and F. Halouane, “Phytochemical Study and Bioinsecticidal Effect of the Crude Ethonolic Extract of the Algerian Plant *Artemisia Judaica* L. (Asteraceae) Against the Black Bean Aphid, *Aphis fabae* Scop.,” *J. Agriculture For.*, vol. 63, pp. 95–104, 2017.
- [95] B. Bakchiche and A. Gherib, “Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d’Algérie,” *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, vol. 9, pp. 167–172, 2014.
- [96] N. Ghedadba, L. Hambaba, A. Ayachi, M. C. Aberkane, H. Bousselsela, and S. M. Oueld-Mokhtar, “Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des

Références bibliographique

- extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé,” *Phytotherapie*, vol. 13, pp. 118–129, 2015.
- [97] M. Boudjouref, “Etude de l’activité antioxydante et antimicrobienne d’extraits d’*Artemisia campestris* L.,” mémoire de magister, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie, pp. 1-99, 2011.
- [98] S. Kessoum, “Activité antioxydante des polyphénols d’*Artemisia herba alba*,” Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie, pp. 1-36, 2014.
- [99] W. Tongpoothorn, S. Chanthai, M. Sriuttha, K. Saosang, and C. Ruangviriyachai, “Bioactive properties and chemical constituents of methanolic extract and its fractions from *Jatropha curcas* oil,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 36, pp. 437–444, 2012.
- [100] M. Edeas, “Les polyphénols et les polyphénols de thé,” *Phytotherapie*, vol. 5, pp. 264–270, 2007.
- [101] K. Gheffour, K. Boucherit, and Z. Boucherit-Otmani, “Étude phytochimique et évaluation de l’activité antioxydante des extraits d’*Echinops spinosus*,” *Phytotherapie*, vol. 13, pp. 288–294, 2015.
- [102] A. H. Al-Mustafa and O. Y. Al-Thunibat, “Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes,” *Pakistan J. Biol. Sci.*, vol. 11, pp. 351–358, 2008.
- [103] K. F. El-massry, A. H. El-ghorab, and A. Farouk, “Antioxidant activity and volatile components of Egyptian,” *Food Chem.*, vol. 79, pp. 331–336, 2002.
- [104] I. A. Owokotomo, O. Ekundayo, T. G. Abayomi, and A. V. Chukwuka, “In-vitro anti-cholinesterase activity of essential oil from four tropical medicinal plants,” *Toxicol. Reports*, vol. 2, pp. 850–857, 2015.
- [105] W. Chaiyana and S. Okonogi, “Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant,” *Phytomedicine*, vol. 19, pp. 836–839, 2012.
- [106] A. Marston, J. Kissling, and K. Hostettmann, “A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants,” *Phytochem. Anal.*, vol. 13, pp. 51–54, 2002.
- [107] S. H. Bhat, M. F. Ullah, and F. M. Abu-Duhier, “Bioactive extract of *Artemisia judaica*

Références bibliographique

- causes in vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV and pancreatic/intestinal enzymes of the carbohydrate absorption cascade: implication for anti-diabetic new molecular entities (NMEs),” *Orient. Pharm. Exp. Med.*, vol. 19, pp. 71–80, 2019.
- [108] B. Hazrat, Y. Ruksana, M. Al, H. Nazmul, I. Dobirul, A. Islam, MN.Tasnin, M.K. Rezaul , R. Matiar, H.K. Masudul, M. Ismail Hossain, I.Amirul, “In vitro comprehensive analysis of phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities of three different plants of bangladesh,” *wjpls*, vol. 3, pp. 39–48, 2017.
- [109] D. N. Olennikov, N. K. Chirikova, N. I. Kashchenko, V. M. Nikolaev, S. W. Kim, and C. Vennos, “Bioactive phenolics of the genus *Artemisia* (Asteraceae): HPLC-DAD-ESI-TQ-MS/MS profile of the Siberian species and their inhibitory potential against α -amylase and α -glucosidase,” *Front. Pharmacol.*, vol. 9, pp. 1–27, 2018.
- [110] M. A. El-manawaty and L. Gohar, “in Vitro Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of Egyptian Plant Extracts As an Indication for Their Antidiabetic Activity,” *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 11, pp. 360–367, 2018.

A decorative border in blue ink, featuring stylized floral and leaf motifs in the corners of a rounded rectangle. The motifs include various leaves, stems, and small flowers, arranged in a corner pattern.

Annexe

Annexe I: Préparation des solutions

1. Préparation des solutions pour le dosage des flavonoïdes

✚ Préparation des solutions de Potassium acétate (1 M) et de nitrate d'aluminium (10%)

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80g de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution (S_1). Pour 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) on pèse 10g dans 100ml d'eau distillée.

✚ Préparation de la gamme d'étalon de la quercetin

La gamme d'étalon de la Quercetin a été préparé comme suit : 1 mg de la quercetin est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml S_m . Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs présentés par le tableau suivant :

Tableau 8 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de la quercetin

<i>Quercetin (200)</i>	<i>200μl S_m</i>
// (175)	175 μ l S_m + 25 μ l MeOH
// (150)	150 μ l S_m + 50 μ l MeOH
// (125)	125 μ l S_m + 75 μ l MeOH
// (100)	100 μ l S_m + 100 μ l MeOH
// (75)	75 μ l S_m + 125 μ MeOH
// (50)	50 μ l S_m + 150 μ l MeOH
// (25)	25 μ l S_m + 175 μ l MeOH

2. Préparation des solutions pour le dosage des polyphénols

✚ Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% et Folin Ciocalteu (FCR)

7,5 g de Na_2CO_3 sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé. 1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée.

Préparation de la gamme de l'acide gallique

0,5 mg de l'acide gallique est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution S₁ (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs présenté par le tableau suivant:

Tableau 9 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

<i>Concentration</i>	<i>Dilution</i>
<i>Acid gallique (25)</i>	25 µl S ₁ + 175 µl MeOH
// (50)	50 µl S ₁ + 150µl MeOH
// (75)	75 µl S ₁ + 125µ MeOH
// (100)	100 µl S ₁ + 100µl MeOH
// (125)	125 µl S ₁ + 75µl MeOH
// (150)	150 µl S ₁ + 50µl MeOH
// (175)	175µl S ₁ + 25µl MeOH
<i>Acid gallique (200)</i>	200µl S ₁

3. Préparation des solutions pour le teste ABTS

Préparation de l'ABTS +

19.2 mg (7 mM) d'ABTS dans 5 ml H₂O et mélanger à 3.3 mg (2.45 mM) dans 5 ml H₂O persulfate de potassium K₂S₂O₈, puis sont mis à l'abri de la lumière pendant 12-16 h. L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

- ✓ M (ABTS) = 548.68 g/mol
- ✓ M (K₂S₂O₈) = 270.32 g/mol

4. Préparation des solutions pour le teste DPPH

Préparation de la DPPH

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

5. Préparation des solutions pour le teste CUPRAC

Préparation d'une solution S₁ qui contient 1,927 g d'acétate d'ammonium (AcNH₄) qui est dissout dans 25 ml (H₂O) (PH=7.0) et une solution S₂ préparé par la dissolution de 0,042625 g de chlorure de cuivre (CuCl₂, 2H₂O) dissout dans 25 ml (H₂O) et enfin une solution S₃ a 0,039 g (Neocupronin) dissout dans 25 ml (EtOH).

✓ $M(\text{CuCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}) = 170,50 \text{ g/mol}$

✓ $M(\text{AcNH}_4) = 77 \text{ g/mol}$

✓ $M(\text{Neocupronin}) = 208,27 \text{ g/mol}$

6. Préparation de solution de galvinoxyl a 0.1 mM

4 mg de GOR sont dissoute dans 100 ml de méthanol

7. Préparation des solutions de phénantroline et le ferric chloride

Pour préparer une solution de phenontroline 0.5 % il faut dissoudre 0.05g dans 10ml de MeOH. 0.02g de (FeCl₃) dans 10ml de H₂O pour préparer la solution de chlorure ferrique.

8. Préparation des différentes dilutions

On a préparé sept dilutions dans des eppendorff dont les extraits ont été dissout dans du méthanol, qui sont :

Tableau 10 Différentes dilutions de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

<i>(1/1)</i>	<i>x mg (extrait) + 1000 µl de méthanol</i>
<i>(1/2)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/1)
<i>(1/4)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/2)
<i>(1/8)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/4)
<i>(1/16)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/8)
<i>(1/32)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/16)
<i>(1/64)</i>	500 µl solvant+ 500 µl de (1/32)

9. Procédure pour la préparation des solutions tampon

✚ Solution tampon:

1- 8,890 g de (Na₂HPO₄, 2H₂O) + 500 ml de H₂O → V1

2- 1,56 g de (NaH₂PO₄, 2H₂O) + 100 ml de H₂O → V2

V1 +V2 → Solution Tampon comme le montre le tableau .On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH

Tableau 11 Différent volume utilisé pour chaque degré de pH.

<i>pH</i>	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
<i>NaH₂PO₄</i> (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
<i>Na₂HPO₄</i> (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

10. Préparation des réactifs d' Préparation des solutions pour le teste d'inhibition de l'α-amylase

L'enzyme α-amylase est dissout dans 9ml de tampon. Pour préparer la solution d'ami-don, il faut mettre la solution dans un microonde à plusieurs cycles de 15 secs. L'HCl de 1M est préparé par l'ajouter de manière délicate de 45.83 ml d'eau à 4.17 ml d'HCL pure. La solution IKI est obtenue par dissolution de 3 g de KI dans 100 ml d'eau puis 127 mg d'iodeine (5mM) sont ajouter, agitation jusqu'à dissolution. Le tampon phosphate (pH 6.9) avec 6 mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon)

Tableau 12 Schéma de la plaque de l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>
<i>A</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
<i>B</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
<i>C</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
<i>D</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
<i>E</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
<i>F</i>	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab

Annexe

G	AS ₁	AS ₁	AS ₁	Ab ₁	AS ₂	AS ₂	AS ₂	Ab ₂	AS	AS	AS	Ab
H	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac

11. Préparation des solutions pour le teste d'inhibition de l' α -glucosidase

Préparation d'une solution tampon sodium phosphate 100 mM, pH 6,9 (voire la partie préparation des solutions tampon). La solution d'enzyme (0.1U/ml) est préparé comme suit : dissoudre 1 mg d'enzyme alpha-glucosidase dans 10 ml de tampon phosphate 100 mM, pH 6,9 (Solution a stocké) et aliquoter chaque 1 ml dans un eppendorf. La solution de substrat (5 mM) : dissoudre 15.06 mg dans 10 ml de tampon phosphate, 100 mM, pH 6,9. Le standard (Acarbose 1mg/ml) : dissoudre 1mg d'acarbose dans 1 ml d'eau distillée ou tampon phosphate, 100 mM, pH 6,9. Solution d'enzyme : diluer un Eppendorf dans 9.8 ml de tampon phosphate, 100 mM, pH 6,9.

12. Préparation des solutions pour le teste anti-choline estérase

✚ DTNB (5,5'-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution

16 mg DTNB + 7,5 mg de bicarbonate de sodium (NaHCO₃). Additionné au mélange 4 ml de tampon pH=7 et 4 ml (pH=8)

✚ ACÍ (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution:

16 mg ACÍ dissout dans 4 ml H₂O et 4 ml de tampon phosphate a pH =8

✚ BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide) substrate Solution:

4 mg BuCI + 4 ml H₂O+4 ml Tampon (pH =8)

✚ Preparations des enzymes:

❖ Solution AChE:

- ✓ 0,2 mg AChE + 4 ml (pH=8) pour donner la solution A
- ✓ Mettre 20 μ l de la solution A dans 20 eppendorff
- ✓ On prend un seul eppendorff qui contient 20 μ l de la solution A et on ajoute 3 ml de pH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5

❖ BChE Solution

- ✓ 0,2 mg AChE + 1 ml (pH=8) pour donner la solution A
- ✓ Mettre 20 μ l de la solution A dans 20 eppendorff

Annexe

- ✓ On prend un seul eppendorff qui contient 20 μ l de la solution A et on ajoute 2 ml de pH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5

Annexe II : Pourcentage d'inhibition et absorbance

NA: pas d'absorbance.

Tableau 13 Activité antioxydante du test Phenanthroline

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	BHT
50	0,31±0,01	0,31±0,02	0,65±0,01	0,39±0,03	4,84±0,01
25	0,28±0,01	0,30±0,00	0,45±0,05	0,30±0,01	3,48±0,03
12,5	0,27±0,00	0,27±0,01	0,37±0,01	0,28±0,01	1,84±0,01
6,25	0,27±0,00	0,26±0,01	0,31±0,00	0,26±0,02	1,23±0,02
3,125	0,25±0,00	0,26±0,01	0,27±0,00	0,25±0,00	0,53±0,03
1,5625	0,24±0,01	0,25±0,01	0,25±0,00	0,24±0,01	0,47±0,01
0,7812	0,23±0,01	0,25±0,01	0,23±0,02	0,23±0,01	0,47±0,01
A_{0.5}	< 0.5	<0.5	30,36±02,42	<0.5	2,24±0,17

Tableau 14 Activité antioxydante du test galvinoxyl

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	BHT	BHA
100	79,05±0,26	74,44±0,51	74,81±0,15	71,12±0,28	71,13±0,74	70.60±0,10
50	70,77±0,97	72,97±0,16	73,53±0,11	69,35±1,51	70,49±0,55	70.32±0.65
25	45,89±0,97	61,44±0,67	70,75±0,59	57,00±0,44	70,02±0.50	70,19±0.51
12,5	26,79±1,42	30,28±1,17	62,46±1,23	25,31±0,72	68,89±0,26	65.02±1,26
6,25	7,61±0,20	11,10±0,54	26,92±1,38	7,96±3,47	61,29±0.69	54.16±0.27
3,125	2,45±0,41	4,82±3,76	9,47±1,17	1,64±0,99	49,23±0.77	39.15±0.88
1,5625	1,59±1,34	1,16±0,76	4,10±1,83	0,69±0,42	34,66±2.62	25.99±2,56
CI₅₀	31,07±0,56	20,50±0,12	10,31±0,11	22,22±0,18	3.32±0,18	5.38 ±0,06

Annexe

Tableau 15 Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	Standard [µg/ml]	Galantamine
800	30,93± 8,91	12,28± 2,89	NA	3,80± 23,91	200	94.77
400	16,91± 1,04	NA	NA	NA	100	91,80 ± 0,20
200	0,70± 3,63	NA	NA	NA	50	85,78 ± 1,63
100	NA	NA	NA	NA	25	80,69 ± 0,41
50	NA	NA	NA	NA	12,5	68,50 ± 0,31
25	NA	NA	NA	NA	6,25	43,77 ± 0,00
12,5	NA	NA	NA	NA	3,125	35,93 ± 2,28
CI ₅₀	< 50	<50	< 50	< 50	CI ₅₀	6.27±1.15

Tableau 16 Activité antioxydante par le test DPPH.

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	BHT	BHA
100	75,02±0,35	83,40±0,26	85,13±0,13	84,38±0,60	83,60±0,23	87,73±0,15
50	56,98±0,82	69,21±1,57	84,75±0,13	76,75±1,16	56,02±0,53	87,53±0,82
25	39,09±0,39	41,28±2,48	82,72±1,12	45,36±0,73	52,63±2,70	84,09±0,35
12,5	27,85±0,73	21,66±0,78	52,68±2,16	22,19±2,23	37,12±1,80	76,76±1,65
6,25	19,92±1,71	11,25±2,72	27,09±0,60	16,38±1,44	22,21±1,30	54,33±1,59
3,125	15,32±0,39	10,42±2,61	20,38±4,84	5,66±1,31	11,69±1,88	28,95±1,16
1,5625	12,60±0,45	3,55±3,92	15,70±3,47	4,83±3,24	6,77±1,22	22,21±1,24
CI ₅₀	40,50±0,77	33,97±1,09	11,87±0,36	30,50±0,23	22.32±1.19	5.73±0.41

Annexe

Tableau 17 Activité antioxydante par le test ABTS

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	BHT	BHA
100	93,58±0,23	93,18±0,09	93,08±0,26	92,78±0,00	94.87±0.87	88.81±0.37
50	91,97±1,00	92,58±0,35	92,78±0,00	90,77±0,35	93.37±0.86	78.52±0.80
25	76,23±2,08	85,50±2,73	90,77±0,17	74,07±0,61	92.18±1.27	63.72±2.02
12,5	51,80±1,48	55,66±3,14	71,0±2,56	45,58±2,83	90.36±0.00	49,71±0.12
6,25	32,89±0,26	34,95±1,52	46,78±1,62	27,62±3,16	78.55±3.43	40.28±2.88
3,125	19,10±2,17	22,36±3,73	20,75±0,96	17,19±3,16	59.22±0.59	34.13±1.31
1,5625	12,23±0,91	11,37±0,60	12,48±0,48	12,13±0,15	49.22±0.75	31.47±1.60
CI₅₀	11,79±0,33	10,88±0,65	8,04±0,27	14,92±0,87	1.59±0.03	7.54±0.67

Tableau 18 Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase

Extraits [µg/ml]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	Standard [µg/ml]	Galantamine
800	74,40± 3,85	58,01± 1,05	NA	NA	200	78,95± 0,58
400	62,77± 4,26	41,18± 1,34	NA	NA	100	73,57± 0,77
200	37,91± 4,67	24,55± 5,04	NA	NA	50	63,87± 2,85
100	13,21± 3,65	1,67± 3,79	NA	NA	25	45,13± 2,60
50	4,10± 1,07	NA	NA	NA	12,5	24,03± 2,94
25	NA	NA	NA	NA	6.25	6,93± 0,62
12,5	NA	NA	NA	NA	3.125	3,26± 0,62
A_{0.50}	300,13±8,71	628,71±10,04	< 0.5	< 0.5	A_{0.5}	34.75±1.99

Annexe

Tableau 19 Teste inhibiteur de l' α - d'amylase

Extractions [$\mu\text{g/ml}$]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	Standard [$\mu\text{g/ml}$]	Acarbose
800	NA	NA	NA	NA	4000	53,05 \pm 1,59
400	NA	NA	NA	NA	2000	37,21 \pm 3,54
200	NA	NA	NA	NA	1000	31,81 \pm 2,89
100	NA	NA	NA	NA	500	10,70 \pm 0,96
50	NA	NA	NA	NA	250	9,46 \pm 0,11
25	NA	NA	NA	NA	125	8,08 \pm 0,30
12,5	NA	NA	NA	NA	62.5	7,76 \pm 0,17
CI ₅₀	< 50	< 50	< 50	< 50	CI ₅₀	365,93 \pm 10,70

Tableau 20 Activité antioxydante par l'essai CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity).

Extractions [$\mu\text{g/ml}$]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	BHT	BHA
100	1,48 \pm 0,02	2,24 \pm 0,03	3,32 \pm 0,02	3,15 \pm 0,05	2.04 \pm 0.14	3.76 \pm 0.03
50	0,91 \pm 0,03	1,34 \pm 0,01	2,68 \pm 0,03	2,14 \pm 0,08	1.48 \pm 0.09	3.45 \pm 0.02
25	0,55 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	1,77 \pm 0,04	1,20 \pm 0,07	1.03 \pm 0.07	2.36 \pm 0.17
12,5	0,32 \pm 0,00	0,43 \pm 0,01	1,02 \pm 0,00	0,69 \pm 0,01	0.66 \pm 0.07	1.34 \pm 0.08
6,25	0,22 \pm 0,00	0,27 \pm 0,00	0,67 \pm 0,08	0,40 \pm 0,01	0.33 \pm 0.04	0.78 \pm 0.01
3,125	0,15 \pm 0,00	0,18 \pm 0,00	0,40 \pm 0,08	0,24 \pm 0,01	0.19 \pm 0.01	0.46 \pm 0.00
1,5625	0,12 \pm 0,00	0,14 \pm 0,00	0,24 \pm 0,01	0,16 \pm 0,00	0.11 \pm 0.04	0.23 \pm 0.07
A0.50	22,40\pm0,24	15,07\pm0,20	4,15\pm0,75	8,53\pm0,18	9.62\pm0.87	3.64\pm0.19

Annexe

Tableau 21 Teste inhibiteure de l' α -glucosidase

Extraits [$\mu\text{g/ml}$]	EDAJ	EMAJ	EAAJ	EBAJ	Standard [$\mu\text{g/ml}$]	Acarbose
800	67,48 \pm 1,48	53,12 \pm 0,72	87,39 \pm 2,30	52,72 \pm 1,73	5000	91,05 \pm 0,72
400	50,00 \pm 4,08	47,31 \pm 3,27	75,45 \pm 1,90	51,60 \pm 2,53	2500	85,54 \pm 0,45
200	40,22 \pm 5,70	41,55 \pm 8,48	60,09 \pm 2,14	50,72 \pm 3,74	1250	80,19 \pm 1,66
100	34,00 \pm 6,30	37,78 \pm 3,59	54,72 \pm 2,38	45,52 \pm 6,59	625	67,29 \pm 2,63
50	31,10 \pm 6,44	38,03 \pm 4,76	41,15 \pm 3,20	44,20 \pm 5,17	312,5	54,86 \pm 1,79
25	27,20 \pm 7,34	30,76 \pm 3,08	40,15 \pm 3,20	41,22 \pm 7,21	156, 25	38,91 \pm 3,20
12,5	11,59 \pm 2,22	10,50 \pm 8,13	22,43 \pm 5,50	16,17 \pm 8,10	78,125	27,43 \pm 2,18
CI₅₀	422.64\pm0.36	555.22\pm0.59	66.46\pm0.71	156.46\pm0.69	CI₅₀	275,43\pm1,59

Tableau 22 Teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes

Extraits [$\mu\text{g/ml}$]	Teneur en polyphénols total ($\mu\text{g GAE/ml}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g QE/ml}$)
EDAJ	209,49 \pm 5,34	72.45 \pm 3.90
EMAJ	189,49 \pm 2,21	73.37 \pm 2.47
EAAJ	460,86 \pm 7,83	229.18 \pm 5.91
EBAJ	403,31 \pm 5,15	91.10 \pm 1.57

Résumé



Résumé

Artemisia judaica est une plante faisant partie de la famille des astéracées, elle est très utilisée en médecine traditionnelle. Dans le but de mettre en évidence de nouveaux métabolites actifs, leurs activités antioxydantes et enzymatiques ont été évaluées. L'extrait méthanolique ainsi que ses trois phases (dichlorométhane, acétate d'éthyle, et n-butanol) ont présenté une teneur élevée en polyphénols et flavonoïdes mais celle de l'acétate d'éthyle était très élevée avec des teneurs de $460,86 \pm 7,83 \mu\text{g GAE/mg}$ et $229,18 \pm 5,91 \mu\text{g QE/mg}$ respectivement, le criblage phytochimique a révélé la présence d'autres métabolites tels que les flavonoïdes glycosylés, tanin, sucre réducteur, quinone libre, stéroïde et alcaloïdes. Seul l'extrait acétate d'éthyle a présenté un effet antiradicalaire plus puissant et élevée par rapport aux des standards mais seulement pour les tests DPPH, CUPRAC, avec une CI_{50} de $11,87 \pm 0,36$, et un $A_{0,5}$ de $4,15 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ respectivement. L'extrait acétate d'éthyle a présenté un effet antidiabétique en inhibant l'enzyme l' α -glucosidase, avec une valeur d' CI_{50} égale à $66,46 \pm 0,71 \mu\text{g / ml}$.

Mots clés : *Artemisia judaica*, Activité antioxydante, activité enzymatique, criblage phytochimique, antidiabétique

Summary

Artemisia judaica is a plant belonging to the family Asteraceae, it is very popular in traditional medicine. In order to highlight new active metabolites, its antioxidant and enzymatic activities were evaluated. The methanolic extract and these three phases (dichloromethane, ethyl acetate, and n-butanol) had a high content of polyphenols and flavonoids but that of ethyl acetate was very high with contents of $460.86 \pm 7.83 \mu\text{g GAE /mg}$ and $229.18 \pm 5.91 \mu\text{g EQ /mg}$ respectively, the phytochemical screening revealed the presence of other metabolites such as glycosylated flavonoids, tannin, reducing sugar, free quinone and steroid, alkaloids. Only the ethyl acetate extract had a stronger and higher anti-radical effect compared to the standards but only for the DPPH and CUPRAC tests, with an IC_{50} of 11.87 ± 0.36 , and an $\text{A}_{0.5}$ of $4.15 \pm 0.75 \mu\text{g / ml}$ respectively. The ethyl acetate extract had also an antidiabetic effect by inhibiting the α -glucosidase enzyme, with an IC_{50} value of $66.46 \pm 0.71 \mu\text{g / ml}$,

Key words: *Artemisia judaica*, Antioxidant activity, anti-enzymatic, phytochemical screening, anti-diabetic

ملخص

Artemisia judaica نبات ينتمي إلى عائلة Asteraceae ، وهي مشهور جدًا في الطب التقليدي. من أجل تسليط الضوء على الأيضات النشطة الجديدة ، تم تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة والإنزيمية. يحتوي المستخلص الميثانولي و مراحلها الثلاث (ديكلوروميثان ، أسيتات إيثيل ، ونانوتانول) على نسبة عالية من مادة ليفينول بو وفلافونويد ، لكن الكمية في مستخلص أسيتات إيثيل مرتفعة للغاية بمحتويات 460 و 7.83 ± 86 ميكروغرام GAE / ميليغرام و 5.91 ± 229.18 ميكروغرام مكافئ / ميليغرام على التوالي ، كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مستقبلات أخرى مثل الفلافونويدات الغليكوزيلينية والتانين وتقليل السكر والكينون الحر والستيرويد والقلويدات. كان لمستخلص أسيتات الإيثيل فقط تأثير أقوى وأعلى مضاد للراديكالية مقارنة بالمعايير ولكن فقط لاختبارات DPPH ، CUPRAC ، مع CI_{50} من 0.36 ± 11.87 ، و $A_{0.5}$ من 0.75 ± 4.15 ميكروغرام / مل على التوالي. ان مستخلص الأستات اللإيثيل له أيضًا تأثير مضاد لمرض السكر عن طريق تثبيط إنزيم α -glucosidase ، بقيمة CI_{50} تبلغ 0.71 ± 66.46 ميكروغرام / مل .

الكلمات المفتاحية: *Artemisia judaica*، نشاط مضاد للأكسدة ، مضاد للإنزيمات ، فحص كيميائي نباتي ، مضاد للسكري

،

Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale *Artemisia judaica*

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

Résumé

Artemisia judaica est une plante faisant partie de la famille des astéracées, elle est très utilisée en médecine traditionnelle. Dans le but de mettre en évidence de nouveaux métabolites actifs, leurs activités antioxydantes et enzymatiques ont été évaluées. L'extrait méthanolique ainsi que ses trois phases (dichlorométhane, acétate d'éthyle, et n-butanol) ont présenté une teneur élevée en polyphénols et flavonoïdes mais celle de l'acétate d'éthyle était très élevée avec des teneurs de $460,86 \pm 7,83 \mu\text{g GAE/mg}$ et $229.18 \pm 5.91 \mu\text{g QE/mg}$ respectivement, le criblage phytochimique a révélé la présence d'autres métabolites tels que les flavonoïdes glycosylés, tanin, sucre réducteur, quinone libre, stéroïde et alcaloïdes. Seul l'extrait acétate d'éthyle a présenté un effet antiradicalaire plus puissant et élevée par rapport aux des standards mais seulement pour les tests DPPH, CUPRAC, avec une CI_{50} de $11,87 \pm 0,36$, et un $A_{0.5}$ de $4,15 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ respectivement. L'extraits acetate d'ethyle a présenté un effet antidiabétique en inhibant l'enzyme l' α -glucosidase, avec une valeur d' CI_{50} égale à $66.46 \pm 0.71 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Mots clés : *Artemisia judaica*, Activité antioxydante, anti-enzymatique, criblage phytochimique, anti-diabetique

❖ **Jury d'évaluation :**

- **Président du jury :** Mr. MOKRANI. E . H (M.C.A - UFM Constantine 1)
 - **Encadreur :** Mr. RAHMANI. A (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine)
 - **Co-encadreur:** Mr. KASHI. I (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine)
 - **Examineur :** Dr. BENSOUICI. C (M.R.B – C.R.Bt. Constantine)
-
-