



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Étude phytochimique et propriétés biologiques *in vitro* de deux
plantes médicinales Algériennes de genres *Artemisia* et *Aristolochia***

Présenté et soutenu par : BAHRI Safia

Le : 04/07/2018

LAKHAL Meryem

Jury d'évaluation :

Présidente : M^{me} KLIBET. F (MCB - UFM Constantine)

Rapporteur : M^r MEBREK. S (Attaché de recherche - CRBt Constantine)

Examineur : M^r MEROUANE. F (MCB - ENSB Constantine)

Année universitaire

2017/2018

Remerciements

Ce travail de mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie de centre de recherche en biotechnologie (CRBt, Constantine).

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'études.*

*En second lieu, nous tenon à remercier **nos chers parents** pour leurs soutient et leurs encouragements durant toute les années d'études.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Mr. **Mebrek Saad** pour son aide durant toute la période du travail.*

*Je tiens aussi à remercier vivement Mme. **KLIBET Fahima**, maître de conférences B à l'Université de Constantine 01, Mr. **MEROUANE Fateh**, maître de conférences B à l'Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie, qui nous ont fait un grand honneur en acceptant d'examiner ce mémoire et de nous avoir accordé de leur temps si précieux pour apprécier et juger ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à Mlle. **Djeghim Hanène** pour la gentillesse, l'aide, les conseils, le temps qu'elle nous 'a consacré durant tout le travail.*

*Un grand remerciement pour Dr. **Azioune Ammar**, le Directeur du CRBt, qui m'a offert l'occasion de réaliser ce travail au niveau de son établissement.*

*Nos vifs remerciements vont au Dr. **Bensouici Chawki**, responsable du laboratoire de Biochimie qui nous ouvert les portes de son laboratoire durant notre stage.*

*Nos remerciements vont également à Mlle. **Ilhem Selatnia**, pour son aide durant la période du stage.*

Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce mémoire.

Résumé

L'*Artemisia L.* et l'*Aristolochia* sont deux genres de plantes médicinales appartenant aux familles des Asteraceae et Aristolochiaceae respectivement, ces deux espèces connues sous le nom de « *T'gouft* » et « *Belrostom* » sont très répandue dans le sud algérien. Dans cette étude, le potentiel antioxydant et la capacité d'inhiber des enzymes impliquées dans plusieurs pathologies de ces deux plantes ont été étudié *in vitro*. Les teneurs des polyphénols des extraits bruts sont de 232,16 et 86.33 µg EAG/mg de poids sec et des flavonoïdes sont de 49,99 et 94.11 µg EQ/mg PS pour l'*Artemisia L.* et l'*Aristolochia* respectivement. Les différentes phases de l'*Artemisia L.* ont montré de bonnes propriétés antioxydantes où la phase d'acétate d'éthyle avait les meilleurs IC₅₀ dans l'activité DPPH, pouvoir réducteur, CUPRAC, DMSO-alcalin et anti-uréase alors que la phase Dichlorométhane a montré une bonne activité dans le test de piégeage du radical hydroxyle, ABTS, anti-tyrosinase et anti-Butyrylcholinestérase. La meilleure phase de l'*Aristolochia* qui a montré de bonnes activités antioxydantes et enzymatiques est la phase butanolique qui avait les plus faibles IC₅₀ dans le test DPPH, CUPRAC, chélation du Fer et l'activité anti- Butyrylcholinestérase tandis que la phase dichlorométhane a montré de bonne activité dans le test du piégeage du radical hydroxyle, DMSO-alcalin, et le bêta-carotène. Ces résultats montrent que l'*Artemisia*. Présente une bonne source de molécules bioactives qui ont des propriétés biologiques meilleures par rapport à l'*Aristolochia*.

Mots clés : *Artemisia.*, *Aristolochia*, activité antioxydante, activité inhibitrice des enzymes.

Abstract

Artemisia and *Aristolochia* are two medicinal plants belonging to the families Asteraceae and Aristolochiaceae respectively, these two species known as "T'gouft" and "Belrostrom" are widespread in southern Algeria. In this study, the antioxidant potential and the ability to inhibit enzymes involved in several pathologies of these two plants were investigated in vitro. The polyphenol contents of the crude extracts are 232.16 and 86.33 μg EAG / mg dry weight and flavonoids are 49.99 and 94.11 μg EQ / mg DW for *Artemisia*. and *Aristolochia* respectively. The different phases of *Artemisia L.* showed good antioxidant properties where the ethyl acetate phase had the best IC_{50} in the DPPH activity, reducing power, CUPRAC, DMSO-alkaline and anti-urease while the Dichloromethane phase showed good activity in the hydroxyl radical scavenging test, ABTS, anti-tyrosinase and anti-Butyrylcholinesterase. The best phase of the *Aristolochia* that showed good antioxidant and enzymatic activities is the butanolic phase that had the lowest IC_{50} in the DPPH test, CUPRAC, iron chelation and anti-Butyrylcholinesterase activity while the dichloromethane phase showed good activity in the test trapping of the hydroxyl radical, DMSO-alkaline, and beta-carotene. These results show that *Artemisia* has a good source of bioactive molecules that have better biological properties compared to *Aristolochia*.

Key words: *Artemisia*, *Aristolochia*, antioxidant activity, enzyme inhibitory activity.

الملخص

تُعرف نبتتا *Artemisia* و *Aristolochia* بأنهما نوعان من النباتات الطبية من عائلتي: Asteraceae و Aristolochiaceae على التوالي، هذان النوعان معروفان باسم "كوفت" و "بلرستم" ينتشران على نطاق واسع في جنوب الجزائر. في هذه الدراسة، تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة والقدرة على تثبيط الأنزيمات المتسببة في العديد من الأمراض لهاتين النبتتين في المختبر. إن محتوى مادة البوليفينول في المستخلص الخام هي 232.16 و 86.33 ميكروغرام / EAG ملغ الوزن الجاف، أما بالنسبة للفلافونيدات فهي 49.99 و 94.11 ميكروغرام مكافئ / ملغ لا *Artemisia* و *Aristolochia* على التوالي. مراحل مختلفة *Artemisia* أظهرت خصائص جيدة مضادة للأكسدة، حيث كان للمرحلة *éthyle Acetate* أفضل تركيز موافق للتثبيط النصفى IC50 في اختبار DPPH، CUPRAC و DMSO–alcalin ومثبط اليوريز، بينما أظهرت مرحلة ثنائي كلورو ميثان نشاطاً جيداً في اختبار محاصرة الهيدروكسيل الجذري و ABTS، ومثبط التيروزينيز، ومثبط البيبيرييل كولين استراز *butyrylcholinestérase*. والمرحلة من *Aristolochia* التي أظهرت أنشطة جيدة مضادة للأكسدة و مثبطة للأنزيمات هي مرحلة البيتانول، حيث كان لها أدنى تركيز موافق للتثبيط النصفى IC50 في اختبار CUPRAC، DPPH، خلب الحديد و تثبيط البيبيرييل كولين استراز *butyrylcholinestérase*، في حين أظهرت مرحلة ثنائي كلورو ميثان نشاطاً جيداً في اختبار محاصرة الهيدروكسيل، DMSO–alcalin، وبيتا كاروتين. هذه النتائج تُظهر أن *Artemisia* تمثل مصدراً جيداً لجزيئات نشطة بيولوجياً تمتلك خصائص بيولوجية أفضل بالمقارنة مع *Aristolochia*

الكلمات المفتاحية: *Artemisa, Aristolochia*، النشاط المضاد للأكسدة، النشاطية المثبطة للأنزيمات.

Liste des tableaux

Tableau 1. Série de dilutions et concentration respectives de chaque extrait.

Listes des figures

Figure 01 :	<i>Artemisia L.</i>	4
Figure 02 :	Distribution de la famille des Aristolochiaceae dans le monde.	8
Figure 03 :	<i>Aristolochia.</i>	9
Figure 04 :	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	13
Figure 05 :	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.	14
Figure 06 :	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	14
Figure 07 :	Réactions de Fenton et de Haber-Weiss.	15
Figure 08 :	Les antioxydants enzymatiques.	16
Figure 09 :	Squelette de base des flavonoïdes.	17
Figure 10 :	Le lieu de récolte des plantes	23
Figure 11 :	Les différentes étapes de préparation des phases	26
Figure 12 :	Mécanisme de la réaction de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un antioxydant.	29
Figure 13 :	Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS+•.	30
Figure 14 :	Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II).	32
Figure 15 :	Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux des extraits d' <i>Artemisia.</i>	38
Figure 16 :	Evaluation des polyphénols totaux des extraits d' <i>Artemisia.</i>	39
Figure 17 :	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia.</i>	40
Figure 18 :	Evaluation des flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia.</i>	40
Figure 19 :	Teneur en polyphénols des extraits de <i>l'Aristolochia.</i>	42
Figure 20 :	Teneurs des flavonoïdes des extraits de <i>l'Aristolochia.</i>	42
Figure 21 :	IC ₅₀ pour l'activité antiradicalaire DPPH de l' <i>Artemisia</i> exprimé en µg/ml (* p>0.05).	44
Figure 22 :	La plaque de dosage de l'activité antiradicalaire DPPH	44
Figure 23 :	IC ₅₀ pour l'activité antiradicalaire ABTS de l' <i>Artemisia</i> exprimé en µg/ml (* p>0.05).	45
Figure 24 :	Le pouvoir réducteur de différents extraits d' <i>Artemisia.</i>	46
Figure 25 :	IC ₅₀ pour l'activité CUPRAC de <i>l'Artemisia</i> exprimé en µg/ml.	47
Figure 26 :	IC ₅₀ pour la capacité de piégeage de superoxyde DMSO alcaline d' <i>Artemisia</i>	48
Figure 27 :	IC ₅₀ pour l'activité chélatante des extraits d' <i>Artemisia.</i>	49
Figure 28 :	IC ₅₀ des extraits d' <i>Artemisia</i> mesuré par la méthode de blanchissement du β-carotène.	50
Figure 29 :	La capacité de piégeage de radical hydroxyle par l' <i>Artemisia.</i>	51
Figure 30 :	IC ₅₀ pour l'activité antiradicalaire DPPH de l' <i>Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	52
Figure 31 :	IC ₅₀ pour l'activité antiradicalaire ABTS ^{••} de l' <i>Aristolochia</i> exprimé en µg/ml	53
Figure 32 :	IC ₅₀ pour l'activité CUPRAC de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	54
Figure 33:	IC ₅₀ pour l'activité superoxyde DMSO alcalin de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	54

Figure 34 :	IC ₅₀ pour l'activité chélatante de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	55
Figure 35 :	IC ₅₀ pour le test de blanchissement de bêta-carotène de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	56
Figure 36 :	IC ₅₀ pour l'activité inhibitrice de tyrosinase de <i>l'Artemisia</i> exprimé en µg /ml	57
Figure 37:	La valeur IC ₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'uréase de <i>l'Artemisia</i> exprimé en µg /ml	58
Figure 38 :	IC ₅₀ pour l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase de <i>l'Artemisia</i> exprimé en µg /ml	59
Figure 39 :	IC ₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase de <i>l'Artemisia</i> exprimé en µg /ml	60
Figure 40 :	IC ₅₀ pour l'activité anti-butyrylcholinestérase de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg/ml.	61
Figure 41 :	IC ₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'alpha amylase de <i>l'Aristolochia</i> exprimé en µg /ml.	62

Liste des abréviations

µg EAG/mg PS : microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme du poids sec de la plante.

µg EQ/mg PS : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme du poids sec de la plante.

µg : microgramme.

µl : microlitre.

A : Artemisia.

AA : Activités Antiradicalaire.

Abs : Absorbance.

ABTS : 2,2-Azinobis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulphonique acid.

ADN : Acide Désoxyribo Nucleique.

BHA : Butylated hydroxyanisole.

BHT : Butylated hydroxytoluène.

BuCHE : butyrylcholine esterase

BuOH : butanol

CUPRAC : Cupric reducing antioxidant capacity.

DIC : Dichlorométhane.

DMSO : Dimethyl Sulfoxyde.

DO : Densité optique.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EA : acétate d'éthyle.

EDTA : Ethylene diamine tetra acétique acide.

EOA : espèces oxygénées activeés.

FCR : Réactif Folin Ciocalteu.

Fe⁺² : Fer ferreux.

Fe⁺³ : Fer ferrique.

GPx : Glutathion peroxydase.

H₂O : Eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HCl : Hydrochloric acid.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

IKI : Potassium iodide.

LDL : Low density lipoprotein.

L-DOPA : 3,4-dihydroxy-L-phenyl alanine.

M : Molar.

MeOH : méthanol.

mg EC/g DR : milligram catechin equivalent/ gram of dry extract.

NBT : Nitrobleu tetrazolium.

NC : Neocuproine.

nm : nanomètre.

NO[•] : monoxide d'azote.

O₂^{•+} : Radical superoxide.

OH[•] : Hydroxyl radical.

PPM : Parts per million.

SOD : Superoxyde dismutase.

T : Temps.

TCA : acide trichloroacétique.

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. L'ordre des Asterales.....	3
I.1.1. Les Asteraceae.....	3
I.1.2. Utilisations et intérêts économiques des Asteraceae.....	3
I.1.3. Le genre <i>Artemisia</i>	4
I.1.4. <i>Artemisia</i>	4
I.1.5. Description botanique.....	5
I.1.6. Distribution et place dans la systématique.....	5
I.1.7. Métabolite secondaire de l'espèce	6
I.1.8. Utilisation de l' <i>Artemisia</i> dans la médecine traditionnelle.....	6
I.1.9. Quelques activités biologiques reconnus.....	6
I.1.9.1. Activité antioxydante.....	6
I.1.9.2. Activité hypoglycémiante.....	7
I.1.9.3. Autre activités.....	7
I.2. L'ordre des Aristolochiales.....	8
I.2.1. Les Aristolochiaceae.....	8
I.2.2. Utilisation et intérêt des Aristolochiaceae.....	9
I.2.3. Le genre <i>Aristolochia</i>	9
I.2.4. <i>Aristolochia</i>	9
I.2.5. Description botanique.....	9
I.2.6. Distribution et place dans la systématique.....	10
I.2.7. Métabolite secondaire de l'espèce.....	11
I.2.8. Utilisation de l' <i>Aristolochia</i> dans la médecine traditionnelle.....	11
I.2.9. Quelques activités biologiques reconnus.....	11
I.3. Stress oxydatif et les antioxydants.....	12
I.3.1. Généralité	12
I.3.2. Le stress oxydatif.....	12
I.3.2.1. Les radicaux libres.....	12
I.3.2.2. Les espèces réactives oxygénées.....	13
I.3.2.3. Les cibles biologiques des EOA.....	13
I.3.4. Les antioxydants.....	15
I.3.4.1. Les différents systèmes d'antioxydant.....	16
a. Les systèmes d'antioxydants enzymatiques endogènes.....	16
b. Les systèmes antioxydants non enzymatiques.....	17
I.4. Activités biologiques.....	18
I.4.1. Activité anti-Alzheimer.....	18
I.4.1.1. la maladie d'Alzheimer.....	18
I.4.1.2. L'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase.....	19
I.4.2. Activité anti-Tyrosinase.....	19

I.4.2.1. La maladie d'hyperpigmentation.....	19
I.4.2.2. La mélanine.....	19
I.4.2.3. La biosynthèse de mélanine.....	20
I.4.2.4. La tyrosinase.....	20
I.4.3. Activité anti-hyperglycémiant	20
I.4.3.1. La maladie de diabète sucre.....	20
I.4.3.2. L'alpha- amylase et l'alpha-glucosidase.....	21
I.4.4. Activité anti-uréase.....	21
I.4.4.1. La maladie d'ulcère.....	21
I.4.4.2. <i>Helicobacter pylori</i>	21
I.4.4.3. L'uréase.....	21

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel.....	23
II.1.1. Matériel végétal.....	23
II.1.1.1. Description de la zone de la récolte	23
II.1.1.2. <i>Artemisia</i>	23
II.1.1.3. <i>Aristolochia</i>	23
II.1.2. Matériel du laboratoire.....	24
II.1.2.1. Lecture de microplaque.....	24
II.2. Méthodes.....	24
II.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique.....	24
II.2.2. Préparation des phases	24
II.2.2.1. Phase aqueuse.....	24
II.2.2.2. Phases organiques	25
II.3. Préparations des échantillons.....	25
II.4. Dosage des phénols et flavonoïdes totaux	26
II.4.2. Total phénolique.....	26
II.4.1. Total flavonoïde.....	27
II.5. Analyse des extraits du l' <i>Artemisia</i>	29
II.5.1. Evaluation des activités antioxydantes.....	29
II.5.1.1. Mesure du pouvoir du piégeage du radical DPPH.....	29
II.5.1.2. Mesure du pouvoir du piégeage du radical ABTS ⁺	30
II.5.1.3. Test de blanchissement du β-carotène.....	31
II.5.1.4. Test du pouvoir réducteur.....	32
II.5.1.5. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)..	32
II.5.1.6. Test de chélation de fer	33
II.5.1.7. Superoxyde DMSO-alkalin.....	33
II.5.1.8. Test de piégeage de radical Hydroxyle	34
II.6. Les activités inhibitrices des enzymes	34
II.6.1. Evaluation de l'activité anti-hyperglycémiant	34
II.6.1.1. Test d'inhibition de l'alpha-amylase.....	34
II.6.2. Test d'inhibition de l'alpha-glucosidase.....	35
II.6.3. Evaluation de l'activité anti-uréase.....	35
II.6.4. Evaluation de l'activité anti-tyrosinase.....	36
II.6.5. Evaluation de l'activité anti-butrylcholinestérase.....	36
III. Analyse statistique.....	37

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. L'étude quantitative des deux plantes.....	38
III.1.1 <i>Artemisia</i>	38
III.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	38
III.1.1.2. Dosages des flavonoïdes.....	40
III.1.2. <i>Aristolochia</i>	41
III.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	41
III.1.2.2. Dosages des flavonoïdes.....	42
III.2. Les propriétés biologiques des plantes	43
III.2.1. Les activités antioxydantes.....	43
III.2.1.1. Les activités antioxydantes d' <i>Artemisia</i>	43
A. Activités antiradicalaire DPPH.....	43
B. Activité antiradicalaire ABTS ⁺	45
C. Le pouvoir réducteur.....	46
D. Le test CUPRAC.....	47
E. Piégeage du radical superoxyde par la méthode DMSO-alcalin	48
F. Capacité de chélation du fer	49
G. Test de blanchissement du β -carotène.....	50
H. Piégeage du radical hydroxyle.....	51
III.2.1.2. Les activités antioxydantes d' <i>Aristolochia</i>	52
A. Activité antiradicalaire DPPH.....	52
B. Activité antiradicalaire ABTS ⁺	52
C. Le pouvoir réducteur	53
D. Le Test CUPRAC.....	53
E. Piégeage du radical superoxyde par la méthode DMSO-alcalin	54
F. Capacité de chélation du fer	55
G. Test de blanchissement de bêta-carotène.....	56
III.3. Les activités inhibitrices des enzymes	57
III.3.1. Les activités enzymatique d' <i>Artemisia</i>	57
III.3.1.1. L'activité inhibitrice de tyrosinase.....	57
III.3.1.2. L'activité inhibitrice d'uréase	58
III.3.1.3. L'activité inhibitrice de la butyrylcholinésterase.....	59
III.3.1.4. L'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et l'alpha amylase.....	60
III.3.2. Les Activités enzymatiques d' <i>Aristolochia</i>	61
III.3.2.1. activité anti-butrylcholinestérase.....	61
III.3.2.2. L'activité inhibitrice de l'alpha amylase.....	62
Conclusion.....	63
Références Bibliographiques	

Introduction

Depuis des milliers d'années l'homme a utilisé les plantes trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Sanago, 2006**). Les plantes médicinales restent toujours les bio-ressources les plus riches de médicaments, dans la médecine traditionnelle et dans la médecine moderne et jusqu'à nos jours les populations recourent à l'utilisation des plantes médicinales pour traiter différents troubles, voir même des maladies grave comme le cancer (**Tiwari et al., 2011 Azzi et al., 2012**).

Actuellement et grâce aux progrès scientifiques, la thérapeutique a beaucoup évolué et a utilisé les plantes comme matière première pour la production des médicaments dont les principes actifs des médicaments et produits de soins sont les composés essentiels des plantes (**Chevallier, 2001 ; Hans, 2007**).

Malgré l'utilisation croissante des plantes médicinales à travers le monde, nous ne connaissons que peu de chose concernant les mécanismes moléculaires de leurs vertus thérapeutique et il y'a peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes (**Gao et al., 2011**). C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier deux plantes médicinales, l'*Artemisia* et l'*Aristolochia*, appartenant à la famille des *Asteraceae* et *Aristolochiaceae* respectivement.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est la valorisation de la richesse de l'Algérie en plante médicinale, pour cela notre étude englobe deux aspects dont le premier est d'ordre phytochimique basé sur une analyse quantitative du contenu en composé flavonoïdes et phénoliques, le second aspect est consacré à une évaluation des activités antioxydantes et inhibitrice de quelques enzymes.

Notre travail sera présenté comme suit :

- Le premier chapitre concerne l'étude bibliographique, cette étude commence par une description botanique de l'*Artemisia* et l'*Aristolochia*, suivi par l'utilisation en médecine traditionnelle, la composition chimique et l'activité biologiques.
- Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des méthodes d'extractions des deux plantes et à l'évaluation des activités antioxydantes et inhibitrice des enzymes.
- Enfin le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. L'ordre des Asterales

L'ordre des Asterales renferme 11 familles selon la classification phylogénétique de l'Angiosperm Phylogeny Group classification (**APG III, 2009**). Les familles principales sont : les Alseuosmiaceae, les Argophyllaceae, les Asteraceae, les Calyceraceae, les Campanulaceae, les Goodeniaceae, les Menyanthaceae, les Pentaphragmataceae, les Phellinaceae, les Rouseaceae, et les Stylidiaceae. Nous traiterons ici la famille des Asteraceae qui renferme l'espèce végétale *Artemisia* sur laquelle que nous avons travaillé.

I.1.1. Les Asteraceae

La famille des Asteraceae est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres (**Bremer, 1994**). Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

Les Asteraceae connaissent une distribution géographique mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont, en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes (**Bremer, 1994**).

I.1.2. Utilisations et intérêts économiques des Asteraceae

Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires : La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. De nombreuses autres espèces ont une utilisation ornementale, telle que la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster.

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : l'Arnica (*Arnica montana L.*), la camomille (*Matricaria chamomilla L.* et *Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antenaria Djioca Gartn*), le tussilage (*Tussilago farfara L.*). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide, d'autres (genre *Artemisia*) sont utilisés comme plantes médicinales et dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi (**Gaussen et Leroy, 1982**).

I.1.3. Le genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli et Maffei, 2002**).

D'après **Kundan et Anupam (2010)** les espèces appartenant au genre *Artemisia* sont riches en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes. Ces espèces possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al., 2007**).

I.1.4. *Artemisia*

Artemisia est une herbacée vivace communément appelée « champ armoise » est connue aussi sous l'appellation « T'gouft » (**Figure 01**), elle est répertoriée en Asie, Amérique, Europe et en Afrique du Nord. Elle est parmi les 11 espèces d'*Artemisia* spontanées enregistrées en Algérie (**Taouil et benrebha., 2010**).



Figure 01 : *Artemisia* (Sagebud, 2018).

C'est une plante steppique, très répandue sur les hauts plateaux, surtout dans les montagnes du Sahara central au sud d'Algérie. Les populations du sud l'utilisent pour calmer les troubles digestifs, les maux abdominaux ainsi que les nausées. En usages externes ; elle cicatrise les plaies et les brûlures (**Temani, 2005**).

I.1.5. Description botanique

Artemisia est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contenant que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (**Quezel et Santa., 1962 ; Ozenda, 1983 ; David et Hervé., 1994**).

I.1.6. Distribution et place dans la systématique

Selon **Caratini (1971)**, *Artemisia* est classé dans :

Règne :Plantae

Embranchement :Spermatophyta

Classe :Magnoliopsida

Sous classe :Asteridae

Ordre :Asterales

Famille :Asteraceae

Sous famille :Asteroideae

Genre : *Artemisia*

Nom français : Armoise des champs

Armoise rouge.

Nom anglais: Field sagenort

Field southernwood

Nom vernaculaire: T'gouft, Alala

Nom en Arabe: تكوفت

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya (**Vernin et al., 1995**), dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud, d'après **Kyeong (2007)**, *Artemisia* est originaire de l'Asie.

I.1.7. Métabolites secondaires de l'espèce

L'utilisation des solvants à polarité différentes suivi par des différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présentes dans les extraits des plantes.

Le profil phytochimique d'*Artemisia* a montré une abondance dans les flavonoïdes, les acides phénolique, les coumarines, les isocoumarines, les acides gras ainsi qu'une teneur élevée en monoterpènes et sesquiterpènes contenus dans l'huile essentielles (**Akrout et al., 2011 ; Dib et al., 2016**).

I.1.8. Utilisation de l'*Artemisia* dans la médecine traditionnelle

Artemisia est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. En usage local *Artemisia* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (Dob et al., 2005). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (Sefi et al., 2010). La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi et al., 2007). Selon Saoudi et al. (2010) la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia* permet de réduire les symptômes digestifs.

I.1.9. Quelques activités biologiques reconnus

En plus de son utilisation traditionnelle, *Artemisia* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes.

I.1.9.1. Activités antioxydantes

La partie aérienne d'*Artemisia* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent leurs actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999). Dans une étude faite par Aniya et al. (2000) l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia* a été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée.

De leurs coté Akrouf et al. (2011) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6- sulphonic acid), ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison à celle de l'huile essentielle.

I.1.9.2. Activité hypoglycémiant

Sefi *et al.*, (2010) ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia*, diminue le taux de glucose dans le plasma des rats chez lesquels le diabète est induit par l'alloxane monohydrate, ils ont trouvé également que la diminution de la concentration de glucose s'accompagne d'une part d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faibles densité (LDL), et d'autre part d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète.

I.1.9.3. Autre activités

A. Activité anti microbienne

Artemisia est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaires. Naili *et al.*, (2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia*, ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*).

B. Activité insecticide

L'étude réalisée par Pavela (2009), a montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia* a été testé pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique *Culex quinquefasciatus*, cet extrait a montré un degré de répulsion très intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs maladies comme la malaria.

C. Effet antipoison

Les extraits d'acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et de dichlorométhane, des feuilles d'*Artemisia* ont été testés pour ses capacités de neutralisation de venin de scorpion et de vipère, les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique, inhibe l'activité de dégradation des globules rouges contre le venin du scorpion *Androctonus australis garzonii*, des résultats similaires ont été obtenus pour l'extrait de dichlorométhane pour la neutralisation de venin de la vipère *Macrovipera lebetina* (Memmi *et al.*, 2007).

I.2. L'ordre des Aristolochiales

L'ordre des Aristolochiales est un ordre de plantes angiospermes primitives. En classification classique de Cronquist (1981) il comprend une famille : Aristolochiacées. Cet ordre n'existe pas dans la classification phylogénétique APG II (2003) et la famille des Aristolochiacées est placée dans l'ordre de divergence ancienne des Piperales (Enacademic.com., 2010).

I.2.1. Les Aristolochiaceae

Les Aristolochiaceae sont des plantes vivaces glabrescentes (haut : 20-50 cm), avec des tiges grêles, étalées, souvent rameuses et des feuilles ovales triangulaires (large : 3-5 cm), à la base cordée, aux marges entières. Les fleurs sont solitaires, vert brunâtre, au périanthe glabrescent, à la languette lancéolée, et les capsules sont ovales ou pyriformes, pendantes (Majdouline, 2017). Cette famille est rencontrée dans les forêts des régions tropicales et tempérées de l'Amérique, l'Asie, l'Afrique et l'Europe (Magnoliides, 2006). Autours des zones de la méditerranée, on en dénombre plus de 50 espèces, dont la plupart y sont endémiques (Figure 02) (Wanke, 2006 ; Rulika et al., 2008).

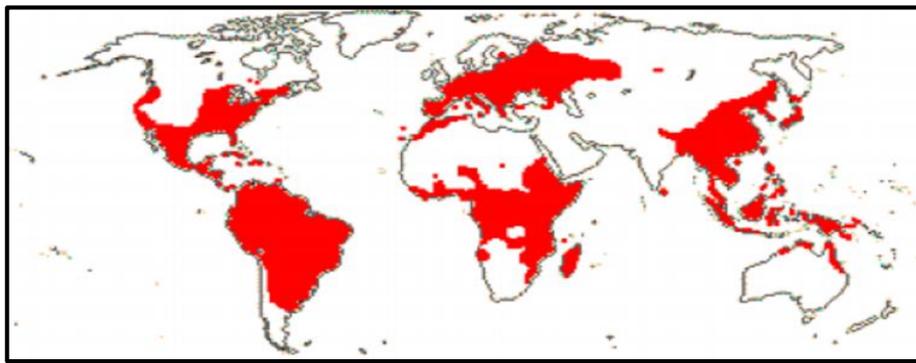


Figure 02 : Distribution de la famille des Aristolochiaceae dans le monde (Magnoliides, 2006).

La famille des Aristolochiaceae comprend six genres et environ 625 espèces, le genre *Aristolochia* est le plus large avec plus de 300 espèces suivi par le genre *Asarum* (Mulder, 2003).

I.2.2. Utilisation et intérêt des Aristolochiaceae

Les racines de plusieurs genres des Aristolochiaceae tel que l'*Aristolochi Serpentaria* et *Bragantia wallichii* sont servent utilisés comme des remèdes contre les morsures de serpent. Les racines d'*Aristolochia indica* sont utilisées par les charmeurs de serpents pour attraper les serpents (biology-discussion, 2018).

Les plantes du genre *Aristolochia* sont utilisées pour traiter les troubles menstruels, les morsures de serpents, les problèmes respiratoires ainsi que dans certaines formules anticancéreuses. Plusieurs revues de littérature rapportent des utilisations ethno-médicinal diverses des plantes de ce genre. La plus récente et la plus complète est dans doute celle de Heinrich et al., (2009).

1.2.3. Le genre *Aristolochia*

Ce sont des plantes vivaces, herbacées ou le plus souvent grimpantes, à racine tubéreuse chez de nombreuses espèces. Leur taille varie de quelques centimètres à plusieurs mètres de hauteur. Leurs tiges, souvent striées, portent des feuilles persistantes ou caduques.

Le genre *Aristolochia* (Aristolochie) compte, d'après "The Plant List", 485 espèces végétales dicotylédones primitives appartenant à la famille des Aristolochiacées (sous-famille des Aristolochioïdées) originaires majoritairement des zones tropicales et des zones méditerranéennes du globe, même si quelques-unes poussent dans les régions tempérées de l'hémisphère nord, généralement dans les régions boisées (**quelle est cette plante, 2018**).

1.2.4. *Aristolochia*

Aristolochia est une plante qui appartient à la famille des Aristolochiaceae, utilisée en médecine traditionnelle algérienne sous le nom de Belrostom.

1.2.5. Description botanique

Est une plante vivace à tige anguleuse, plus ou moins flexueuse, pouvant atteindre 80 cm, feuilles ovales à la base, à nervures apparentes, longuement pétiolées, disposées alternativement sur presque toute la longueur de la tige ; fleurs verdâtres ou jaunâtre, rayées de brun, tubuleuse, en forme de corne au sommet recourbé en tête de cobra, renflées à la base ; fruit capsulaire, souche longue cassante (**Figure 03**) (**Baba aissa, 1999**).



Figure 03 : *Aristolochia* (science.mnhn, 2005 ; algeria native plants, 2012).

1.2.6. Distribution et place dans la systématique

Selon **Nardi (2009)** La plante est classée comme suivant :

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida

Famille : Aristolochiaceae

Genre : *Aristolochia*

Nom Français : Sarrasine, aristoloche de vigne (**Valnet, 2001**) en Algérie la plante est appelée belrostom, (**Halimi, 2004**)

Nom Arabe : (الزراوند الطويل) (**Kong et chen., 1996 ;Ardekani et al., 2011**).

En Algérie la plante est surtout rencontrée dans la région centre. Rappelle sa présence entre autre à l'ouest au niveau des monts de Telmcen (**Meslibestaoul et al., 2007**). Au centre dans la région du Réghaia (**Taleb A, 2003**) Médea (**Chérif et al., 2009**) et aux monts de Cherea de la wilaya de Blida (**Saidi et al., 2009**) en Kabil, au niveau de la forêt de Mizrana dépendant de la Wilaya de Tizi-ouzou(**Bekdouche et al., 2008**) et dans la région de Laghouat (**Djeridan et al., 2006**).

I.2.7. Métabolite secondaire de l'espèce

Peu d'études ont exploré la composition chimique d'*Aristolochia*, contrairement aux autres plantes du genre. La plante, comme les autres membres du genre est riche en terpènes. On rapporte également l'identification d'acide aristolochiques et d'aristolactams (**Wu et al., 2004 ; Kumar et al., 2003**).

I.2.8. Utilisation de l'*Aristolochia* dans la médecine traditionnelle

Aristolochia est largement utilisée dans la médecine populaire algérienne surtout dans le traitement du cancer (**Cherif et al., 2009**) sont utilisation croissante en phytothérapie des cancers au Maroc est également rapportée (**Benzakkour et al., 2011**). Les rhizomes en décoction, son utilisées contre les affections intestinales, les intoxications aiguës et pour provoquer l'avortement chez la femme (**Lahsissene et al., 2009**). Le rhizome en poudre mélangé avec du miel est utilisé en cas du cancer. Elle est aussi indiquée en cas de diabète et l'asthme, une décoction est utilisée comme stimulante de l'appétit (**Salhi et al., 2010**).

El hilaly et al., (2003) rapporte son utilisation comme calmant pour les enfants elle est également utilisée dans le traitement des maladies cutanées (**Gonz'alez T et al., 2008**). Pour

traiter la leishmaniose cutanée les racines broyées sont appliquées sur l'endroit infecté chaque jour jusqu'à guérison (El Raffari *et al.*, 2002).

I.2.9. Quelques activités biologiques reconnus

D'après les recherches bibliographiques ; cette espèce a fait l'objet d'un nombre restreint d'évaluation des activités biologiques ; ce peu de travail mené sur cette espèce et la diversité du genre *Aristolochia* et de la famille des Aristolochiaceae ; nous a encouragé à étudier cette plante.

Parmi les études établies pour cette espèce celle menée par **Jun *et al.*, (2009)** et qui a confirmé l'activité cytotoxique et antiprolifératifs de β -CaryophyllèneOxide et l'acide aristolochique Contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses.

D'autres études qui ont été menées sur différentes espèces du genre *Aristolochia* ont démontré une activité antioxydante, antiallergique, antivenimeuse, et anti inflammatoire (**Chitma *et al.*, 2010 ; Samy *et al.*, 2011 ; Sosa *et al.*, 2002 ; Thirugnansampandan *et al.*, 2008**).

I.3. Stress oxydatif et les antioxydants

I.3.1. Généralité

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque, vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la «free radical theory» pour expliquer le processus de vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant, la superoxyde dismutase (SOD), capable d'éliminer l'anion superoxyde, démontrant ainsi pour la première fois, que notre organisme produit des EOA. Cette découverte a été le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydatif et les antioxydants (**Haleng *et al.*, 2007**).

I.3.2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans

notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les EOA au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides (**Haleng et al., 2007**).

I.3.2.1. Les radicaux libres

Le processus d'oxydation est l'un des plus important moyens pour produire des radicaux libres qui se former à chaque fois que nos cellules utilisées l'oxygène. Un radical libre se définit donc comme étant une espèce chimique, atome ou molécule contenant un électron non apparié dans leur orbite externe, extrêmement instable. Ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron.

Ces radicaux libres sont l'origine de la production accrue des espèces chimique très réactives appelés « espèces réactives de l'oxygène (ERO) : anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle (OH^{\bullet}), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaire dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). A côté des ERO, il existe des REN « espèces réactives nitrogènes » dont le représentant majeur est le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) (**Uttara et al., 2009 ; Mohamadi, 2013 ; Khataf et al., 2016**).

I.3.2.2. Les espèces réactives oxygénées

Les espèces réactives de l'oxygènes est une expression utilisé pour décrire un certain nombre des molécules réactives et des radicaux libres dérivés de l'oxygène moléculaire. Une fois formées de façon excessive, les ERO peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques (enzymes, protéines, ADN, lipides et glucose) qui peuvent considérablement perturber la machinerie cellulaire (**Pincemail et Defraigne., 2004**). Toutefois, ces mêmes molécules jouent aussi un rôle physiologiques important (défence antibactérienne, régulation de gène, la transduction du signal, mécanisme de l'apoptose ...) (**Dellatre et al., 2005a**).

I.3.2.3. Les cibles biologiques des EOA

A. Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme l'acide linoléique ou arachidonique sont les cibles privilégiées des EOA et plus particulièrement des radicaux libres (**Pincemail, 1999**). Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées (**Figure 04**) qui sont captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).

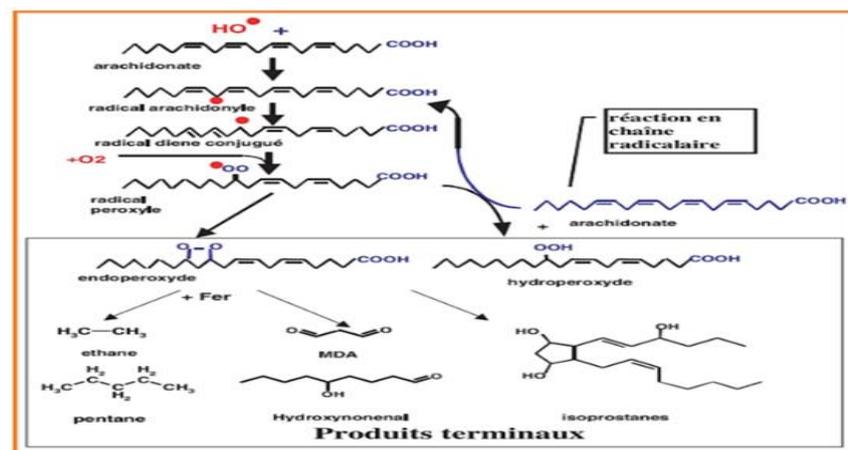


Figure 04 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (**Favier, 2003**).

B. Oxydation des protéines

Les modifications des structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par les EOA. Sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Pincemail, 1999**). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (**Favier, 2003**) (**Figure 05**).

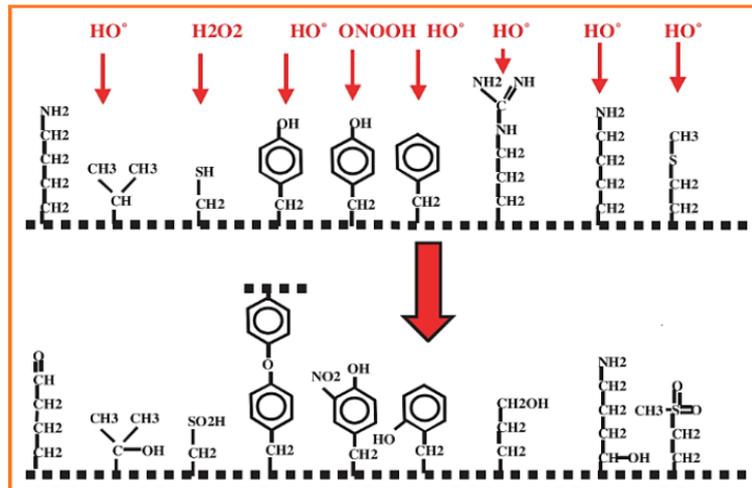


Figure 05 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

C. Oxydation de l'ADN

Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées tel que les 8 oxo guanines, la formamidopyrimidine (Favier, 2003), et le 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH2DG) (Figure 06) qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer (Pincemail, 1999).

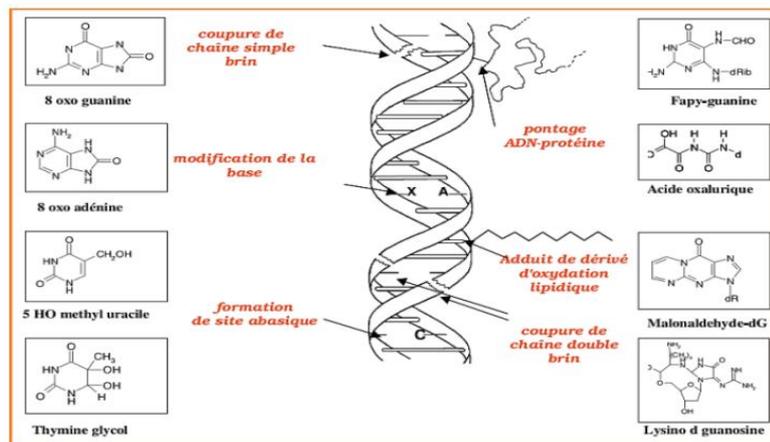


Figure 06 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

I.3.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont classés soit en composés exogènes (naturel ou synthétique) ou endogènes, responsable de limiter les dommages dus aux radicaux libres, des ERO ou de leur précurseur.

Un bon antioxydant doit répondre à certain nombre de critères :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Chélater des ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^+) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton (**Figure 07**).
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire (**Valko et al., 2006**).

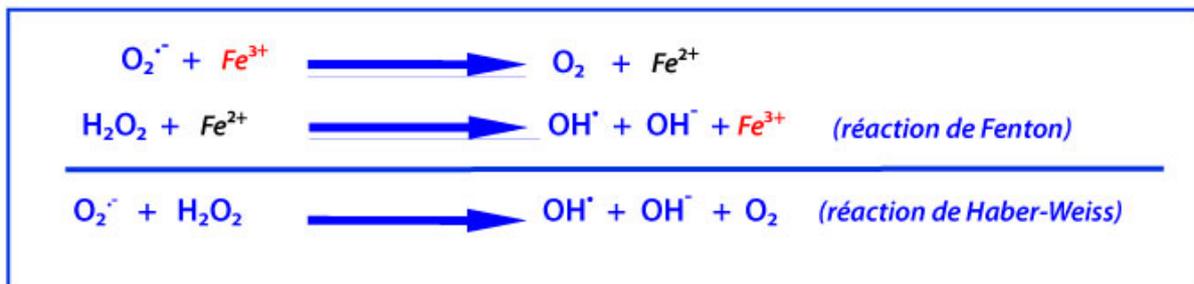


Figure 07 : Réactions de Fenton et de Haber-Weiss (**Michel Démarchez, 2012**).

I.3.4.1. Les différents systèmes d'antioxydant

Le système antioxydant naturel est réparti en deux groupes principaux : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques.

- **Les antioxydants enzymatiques** : Ils sont composés d'un nombre limité de protéines telle que (la catalase, la glutathion peroxydase, la peroxyde dismutase ainsi que certain enzyme de support).
- **Les antioxydants non enzymatiques** : Ce groupe comprennent des antioxydants à action direct, qui sont extrêmement important dans la défense contre le stress oxydant (acide ascorbique, les polyphénol, caroténoïde, dérivés de source alimentaire), et des

antioxydants à action indirecte comprenant principalement des agents chélateurs qui se lient aux métaux redox pour empêcher la production des radicaux libres (Uttara *et al.*, 2009).

A. Les systèmes d'antioxydants enzymatiques endogènes

A.1. Superoxyde dismutase (SOD) : Permet de catalyser la dismutation des ions superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.

A.2. Catalase : Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

A.3. Glutathion peroxydase (GPx) : Elle permet de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Figure 08) (Delattre *et al.*, 2005b).

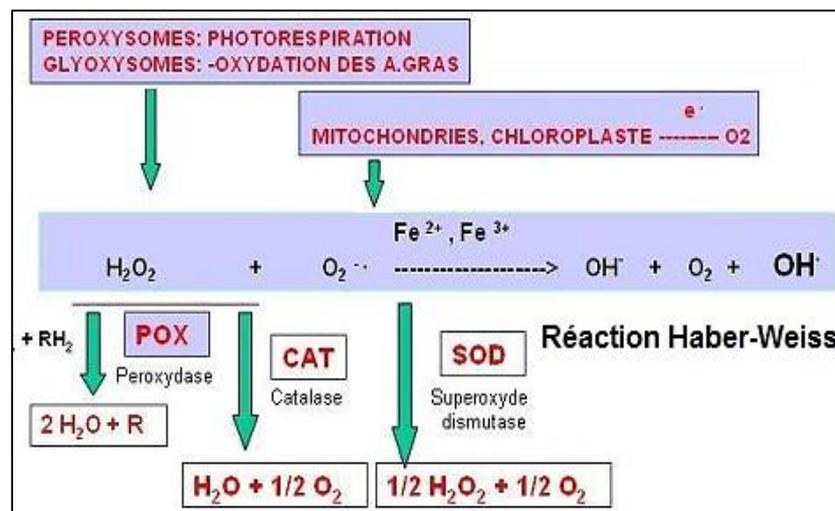


Figure 08 : les antioxydants enzymatiques (Biotech-ecolo, 2018).

B. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

B.1. Systèmes antioxydant endogènes

- **Le glutathion :** il est capable de participer à l'activité enzymatique qui elle détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autre hydroperoxydes (Massella *et al.*, 2005).
- **Acide lipoïque :** En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de les désactiver d'un point de vue catalytique il également la capacité de régénère certain antioxydant endogène et exogènes (Packer *et al.*, 2001).
- **Les protéines :** Tel que la ferritine, la transferrine, la céruléoplasmine et l'albumine (Pincemail *et Defraigne.*, 2004).

B.2. Systèmes antioxydants exogènes

- **La vitamine C (acide ascorbique)** : est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (**Retsky et al.,1999**).
- **La vitamine E (α tocophérol)** : est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires qui agissent comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant (**Kaiser et al., 1990; Yoshida et al., 1993**).
- **Les caroténoïdes** : sont des pigments issus des plantes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles (**Valko et al.,2006**).
- **Les composés phénoliques** : en particulier les flavonoïdes (**Figure 08**), sont des métabolites secondaires. Leur capacité antioxydant réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (**Schroter et al., 2002 ;Leopoldini et al.,2011**).

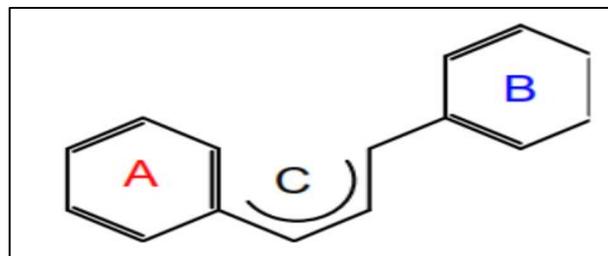


Figure 09 : Squelette de base des flavonoïdes.

I.4. Activités biologiques

I.4.1. Activité anti-Alzheimer

I.4.1.1. La maladie d'Alzheimer

L'Alzheimer est une maladie chronique et neurodégénérative progressive, entraînant une perte des fonctions cognitives, notamment de la mémoire et des troubles comportementaux, elle se caractérise par l'extra cellulaire dépôt d'agrégat de β -amyloïde et d'enchevêtrement neurofibrillaire intraneuronaux (**Messoud et Gauthier, 2010**).

La maladie d'Alzheimer se caractérise sur le plan neuropathologique par la présence de deux types de lésions en quantité importante, à savoir la dégénérescence neurofibrillaire et la présence des plaques séniles, la dégénérescence neurofibrillaire est due aux paires de filaments en hélices constitués d'amas de protéines Tau anormalement phosphorylées, tandis que les plaques séniles représentent les dépôts de substance β -amyloïde (**Delacourte et al., 1990 ; Patry-Morel, 2006**).

Ces deux types de lésions ont pour conséquence la destruction neuronale, la maladie d'Alzheimer se caractérise par un déficit en acétylcholine dû à la destruction de noyau Meynert et à la perte synaptique et neuronale (**Duyckaerts et al., 2002**).

I.4.1.2. L'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase

L'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase sont des enzymes clés pour la neurotransmission qui permet aux neurones cholinergique de retrouver leurs états de repos en hydrolysant l'acétylcholine, ces deux enzymes présentent la même forme moléculaire ; les mécanismes de l'hydrolyse de l'ester de choline sont fondamentalement les mêmes chez les deux enzymes (**Sussman et al., 1991**).

Le rôle crucial des cholinestérases dans la transmission neurale les rend cible primaire d'un grand nombre des médicaments et de toxines, les inhibiteurs des cholinestérases ont été développés pour augmenter les niveaux d'acétylcholine (**Pohanka, 2011**).

I.4.2. Activité anti-Tyrosinase

I.4.2.1. La maladie d'hyperpigmentation

Les hyperpigmentations sont des taches brunes cutanées résultent d'une activation mélanocytaire caractérisé par une prolifération anarchique des mélanocytes, ou par une

augmentation de la synthèse de mélanine, ou enfin par l'augmentation des capacités de transfère des mélanosomes des mélanocytes aux kératinocytes (**Martini, 2013**).

I.4.2.2. La mélanine

Chez l'homme la couleur de la peau résulte de l'association de divers pigments tel que l'hémoglobine du sang, la caroténoïde, la bilirubine, et les pigments mélanique qui sont de loin les plus importants sur un plan biochimique, les mélanines sont un groupe hétérogènes de pigments jouent un rôle protecteur primordial contre les effets néfastes des rayonnements UV, ces pigments sont produits par les mélanocytes, grosses cellules dendritiques ; la synthèse des mélanines n'a lieu qu'à l'intérieur d'un organite spécialisé, la mélanosomes (**Tortora et Grabowsky., 1994 ; Riley, 2003 ; Neyra et al., 2003 ; Vijayasaradhi, 2003**).

I.4.2.3. La biosynthèse de mélanine

La synthèse des pigments mélaniques est une succession de processus enzymatiques complexe, l'ensemble de ces réactions permet l'oxydation de la tyrosine, un acide aminé issu du sang en pigment mélaniques en passant par une série de plusieurs intermédiaires (**Aroca et al., 1993**). La synthèse des mélanines débute par l'oxydation de la L-tyrosine en L-DOPA (L-3,4-Dihydroxyphénylalanine), qui a son tour sera oxydé en Dopaquinone, ces deux transformations peuvent être catalysées par une seule et même métalloenzyme, la tyrosinase (**Prota, 1993 ; Nylander et al., 2000**).

I.4.2.4. La tyrosinase

La tyrosinase est une métalloprotéine qui catalyse les deux premières étapes communes de la mélanogenèse et s'avère être ainsi l'enzyme limitant (**Seo et al., 1999**).

Cependant sa production anormale est liée à une augmentation dans le nombre des mélanocytes, cela peut entraîner des problèmes esthétiques dû à l'hyperpigmentation, à savoir taches de rousseurs, melasma, taches de foie, taches de vieillissements et autre (**Adhikari et al., 2008**).

Afin de traiter les problèmes liés à l'hyperpigmentation il y'a eu une tendance mondiale qui agisse par l'inhibition de la biosynthèse de la mélanine, ceci peut être atteint en inhibant l'activité de tyrosinase (**Ha et al., 2005 ; Lin et al., 2011 ; Wang et al., 2006**).

I.4.3. Activité anti-hyperglycémiant

I.4.3.1. La maladie de diabète sucré

Le diabète sucré est un trouble endocrinien chronique qui affecte le métabolisme des glucides, des protéines, des graisses, électrolytes, et eau, caractérisé par une polyurie, polydipsie et parfois une polyphagie, il comprend un groupe des maladies métaboliques caractérisé par des troubles de la glycorégulation(hyperglycémie)conséquence d'une sécrétion insuffisante d'insuline ou mauvaise utilisation de l'insuline produite par les cellules (**Jacques et al., 2007**).

I.4.3.2. L'alpha- amylase et l'alpha-glucosidase

L'alpha- amylase et l'alpha-glucosidase sont les enzymes importantes impliqués dans la dégradation des glucides, l'alpha-amylase est impliqué dans la dégradation des hydrates de carbone à longue chaîne et l'alpha-glucosidase décompose l'amidon et les disaccharides en glucides simples (**Subramamian, 2008**).

Une approche thérapeutique pour traiter le diabète consiste à réduire l'hyperglycémie Post prandiale, cela peut être réalisé par l'inhibition de l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase (**Chakrabarti et Rajagopalam, 2002 ; Bhosale et Hallale,2011**).

Les inhibiteurs de l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase sont les cibles potentielles dans le développement des composés pour le traitement du diabète (**Subramamian, 2008**).

I.4.4. Activité anti-uréase

I.4.4.1. L'ulcère gastrique

L'ulcère est une altération de la muqueuse caractérisée par des lésions qui endommagent la couche externe de l'estomac et le duodénum, ses lésions ont au moins 0.5 cm de diamètre (**Mediste, 2018 ; Kusters et al., 2006**).

Il est maintenant largement reconnu que les ulcères gastriques et duodénaux sont généralement causés par l'*Helicobacter pylori* qui survit et se développe dans un milieu acide (**Dun et al., 1997 ; Megraudet al., 1999**).

I.4.4.2. *Helicobacter pylori*

L'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est l'espèce dominante dans le microbiote gastrique et la responsable de multiples pathologies gastroduodénales tel que l'ulcère, la gastrite, la dyspepsie, cet organisme libère l'uréase qui convertit l'urée en ammoniac et l'ammoniac libéré le protège de l'environnement acide de l'estomac (**Arnion, 2011**).

I.4.1.2. L'uréase

L'uréase est une metalloenzyme multimérique à ion nickel libéré par *l'Helicobacter pylori*, cette enzyme catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac ce qui alcalinise modérément son environnement en favorisant de cette manière l'implantation et le survit de la bactérie et donc la résistance à l'acidité gastrique (**Kamiri, 2007 ; Suerbaum, 1999**).

Les inhibiteurs de l'uréase peuvent être efficaces contre plusieurs infections gastriques causé par *l'H. pylori* (**Amtul et al., 2002**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

II.1.1.1. Description de la zone de la récolte

Ksar el boukhari est une commune de la wilaya de Médéa en Algérie situé à 135 km au sud d'Alger (**Figure 10**).

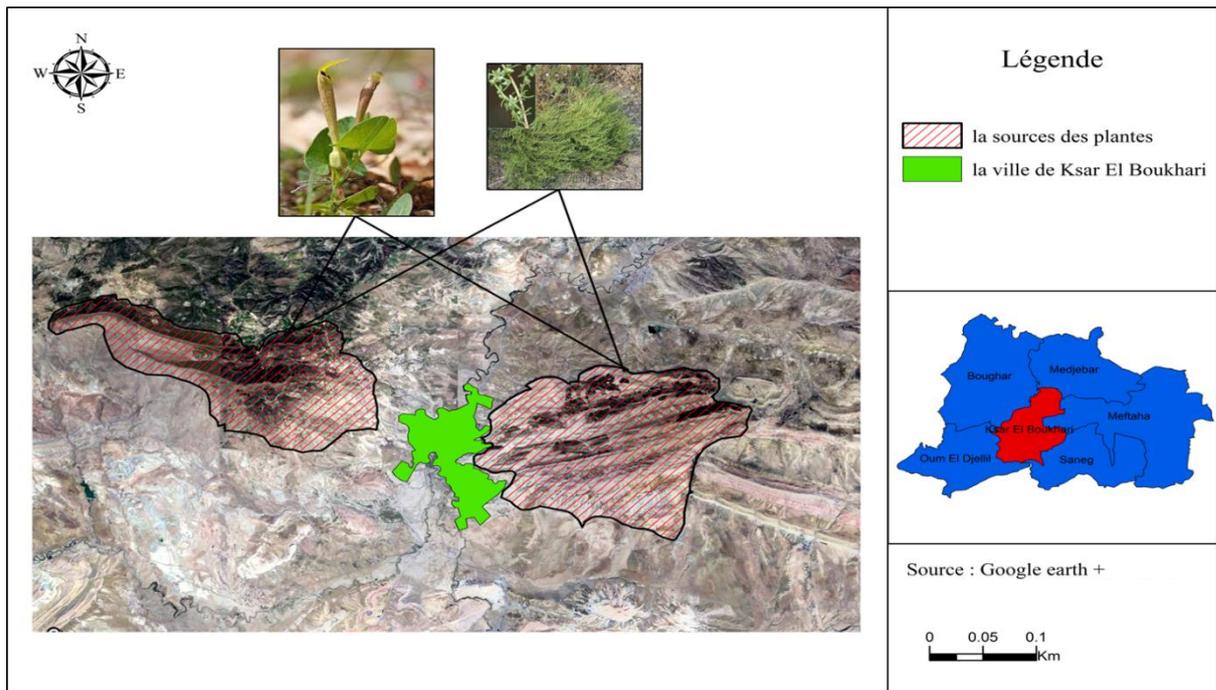


Figure 10 : Le lieu de récolte des plantes

II.1.1.2. *Artemisia*

Le matériel Végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne de l'*Artemisia*, la plante a été récolté au mois de Juillet 2017 dans les montagnes de la région de Ksar el boukhari, la wilaya de Médéa, Le séchage a été effectué naturellement à l'air libre au laboratoire à température ambiante durant deux jours.

II.1.1.3. *Aristolochia*

La plante *Aristolochia* a été récolté en Mars 2018 dans les montagnes de la région de Kasr el Bokhari, la wilaya de Médéa, le matériel végétal utilisé est constitué de la partie souterraine ; les racines sont séchées naturellement à température ambiante, et broyé dans un broyeur électrique (IKA) en poudre fine.

II.1.2. Matériel du laboratoire

II.1.2.1. Lecteur de microplaque

Un lecteur de microplaque est un spectrophotomètre spécialisé contrairement au spectrophotomètre classique, il permet la lecture sur un large éventail de longueur d'onde, les échantillons à tester sont déposés dans des plaques spécialement conçues qui possède un certain nombre de puits ou la réaction à lieu. Les plaques couramment utilisés ont 8 colonnes et 12 rangées, soit un totale de 96 puits.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

- *Artemisia*

Une prise d'essais de 170 g de la matière végétale (la partie aérienne de l'*Artemisia*.) ont été macérés dans un mélange hydroalcoolique (méthanol / eau ; 80/20 v/v) sous agitation pendant 24 heures. Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant chaque 24 heure jusqu'à l'épuisement total de matière végétale.

Le macérât est filtré trois fois successivement sur un papier filtre, l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite et à 42°C par un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait sec.

- *Aristolochia*

Cents (100) g des racines de l'*Aristolochia* ont été macérés dans un system solvant (méthanol/eau ; 80/20 v/v). Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique durant 24 heures à température ambiante. Après macération le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre, le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduite et à 42°C grâce à un évaporateur rotatif.

II.2.2. Préparation des phases

II.2.2.1. Phase aqueuse

La phase aqueuse est préparée en ajoutant 150 ml d'eau distillée à l'extrait sec.

II.2.2.2. Phases organiques

La phase aqueuse a subi par la suite successivement des affrontements liquide-liquide en utilisant des solvants de polarités croissantes en commençant par le Dichlorométhane puis l'éthyle acétate puis le butanol dans une ampoule à décanter.

A. Affrontement par le dichlorométhane

Cette phase a été préparée avec le dichlorométhane, 50 ml de dichlorométhane est ajouté à 150 ml de la phase aqueuse, le mélange est agité vigoureusement dans l'ampoule à décanter, puis laissé reposer pendant 20 min, jusqu'à l'obtention de deux phases bien séparées, une phase supérieure aqueuse (aqueuse) et une phase inférieure organique (dichlorométhane).

B. Affrontement par l'éthyle acétate et butanol

Ces phases ont été préparés avec l'éthyle acétate et le butanol, elles ont été effectués selon le même protocole précédent ; la phase organique éthyle acétate ou butanol (coté supérieur) ont été récupérés dans des béchers. Les trois phases ainsi obtenue sont concentrés à sec sous pression réduite grâce à l'évaporateur rotatif.

II.3. Préparations des échantillons

Une quantité de 4 milligrammes de chaque extrait, a été dissoute dans 1 ml du méthanol, c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de 1/2 a été préparée. Le tableau 01 présente la série des dilutions préparées pour chaque extrait.

Tableau 1. Série de dilutions et concentration respectives de chaque extrait

Dilution	1/1 Solution mère	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration de solution (mg/ml)	4 mg/ml	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625

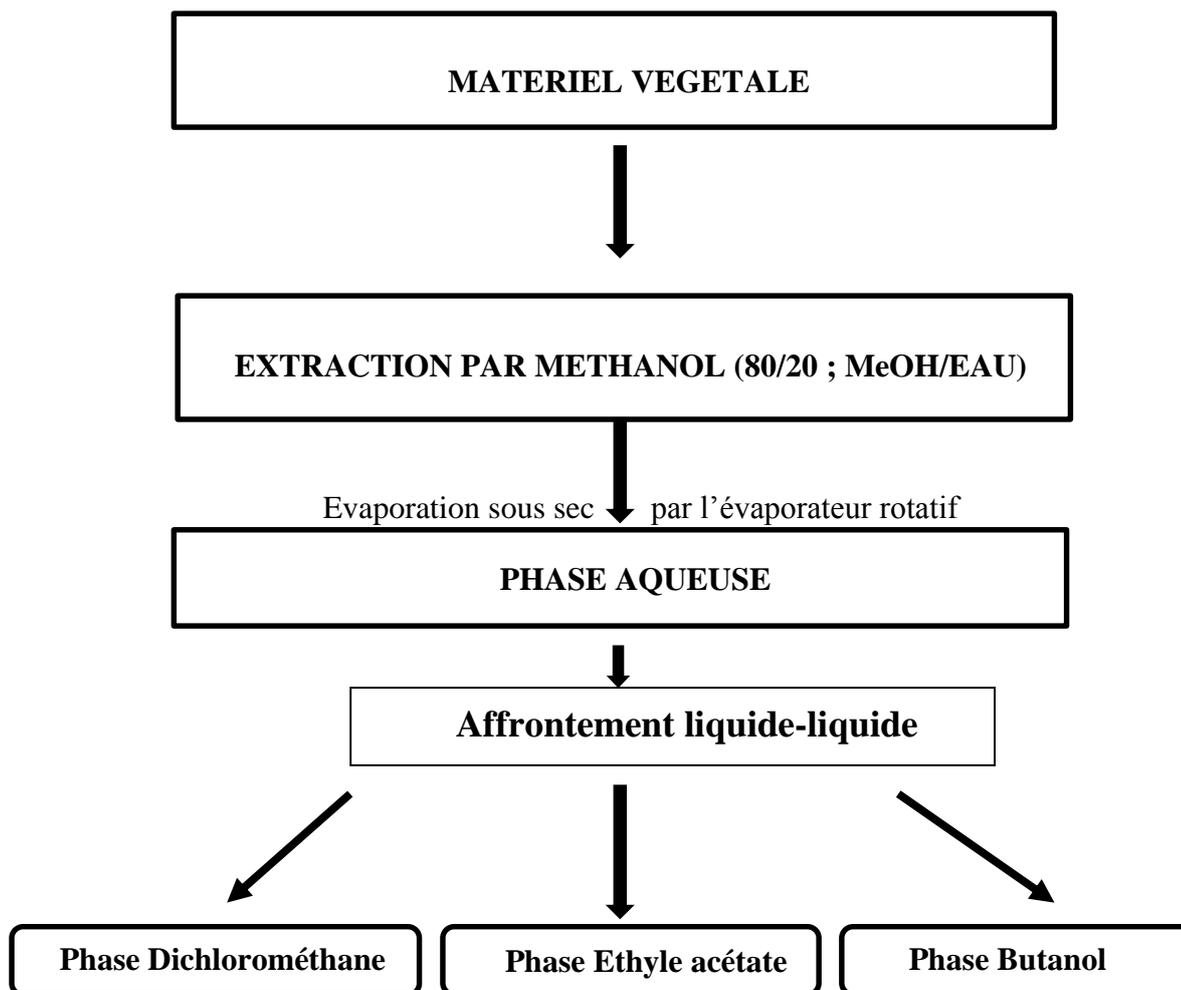


Figure 11 : Les différentes étapes de préparation des phases

II.4. Dosage des phénols et flavonoïdes totaux

II.4.1. Total phénolique

- **Principe**

La teneur en polyphénol totaux est déterminée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi., 1965). Selon la méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al.,(2010), le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde de tungstène et molybdène, la coloration bleu produite est proportionnelle à la teneur en polyphénols totaux et possède une absorbance maximum aux environ de 750-765 nm.

- **Mode opératoire**

Préparation du Folin-Ciocalteu

Un (1) ml de solution FCR concentré est diluée dans 9 ml d'eau distillée.

Préparation de carbonate de sodium

Une quantité de 7.5 g de Na₂CO₃ est dissouts dans 100 ml d'eau distillée.

Procédure

Un volume de 20 µl d'extrait de plante est ajouté à 100 µl de FCR dilué et 75 µl de carbonate de sodium. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 2 heures, l'absorbance est mesurée à 765 nm.

Gamme d'étalonnage de l'acide gallique :

Une quantité de 1 mg d'acide gallique est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère (SM), les dilutions sont préparées dans des eppendorf comme suit :

25 µg/ml → 25 µl de SM +175 µl de méthanol.

50 µg/ml → 50 µl de SM +150 µl de méthanol.

75 µg/ml → 75µl de SM +125 µl de méthanol.

100 µg/ml → 100µl de SM + 100 µl de méthanol.

125 µg/ml → 125µl de SM + 75 µl methanol.

150 µg/ml → 150µl de SM + 50 µl de méthanol.

175µg/ml → 175 µl de SM + 25 µl de méthanol.

200 µg/ml → 200 µl de la SM.

Procédure

Un volume de 20 µl de chaque dilution est transférés dans la microplaque, 100 µl de Folin-Ciocalteu et 75 µl de Na₂CO₃ sont rajoutés respectivement, l'absorbance est évaluée par la suite à 765 nm après 2 heures.

II.4.2. Total flavonoïdes**• Principe**

La méthode repose sur le principe de dosage directe par le chlorure d'aluminium, en effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al³⁺ ; la coloration jaunâtre produit est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribereau,1968).

- **Mode opératoire**

Préparation des solutions

La solution 1 : 9.8 g de potassium acétate (CH_3COOK) sont dissouts dans 100 ml l'eau distillée.

La solution 2 : 10 g de nitrate d'aluminium sont dissous dans 100 ml d'eau distillée.

Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol.

Procédure

Le dosage des flavonoïdes totaux est déterminé selon la méthode de **Topçu et al., (2007)** avec quelque modification. 50 μl d'extrait sont ajoutés à un mélange de 130 μl méthanol, 10 μl de la solution 1 et 10 μl de solution 2, ce mélange est incubé durant 40 min, l'absorbance est mesurée à 415 nm.

La préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine :

Une quantité de 1 mg de la Quercétine est dissous dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère (1). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme suit :

25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 25 μl de sm + 175 μl de méthanol.

50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 50 μl de sm + 150 μl de méthanol.

75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 75 μl de sm + 125 μl de méthanol.

100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 100 μl de sm+ 100 μl de méthanol.

125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 125 μl de sm + 75 μl de méthanol.

150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 150 μl de sm + 50 μl de méthanol.

175 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 175 μl de sm + 25 μl de méthanol.

200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \longrightarrow 200 μl de sm.

Procédure

Un volume de 50 μl de chaque dilution est additionné à 130 μl de méthanol, 10 μl de CH_3COOK et 10 μl nitrate d'aluminium, l'absorbance est mesurée après 40 min d'incubation à 415 nm.

II.5. Analyse des extraits du l'Artemisia

II.5.1. Evaluation des activités antioxydantes

II.5.1.1. Mesure du pouvoir du piégeage du radical DPPH[•]

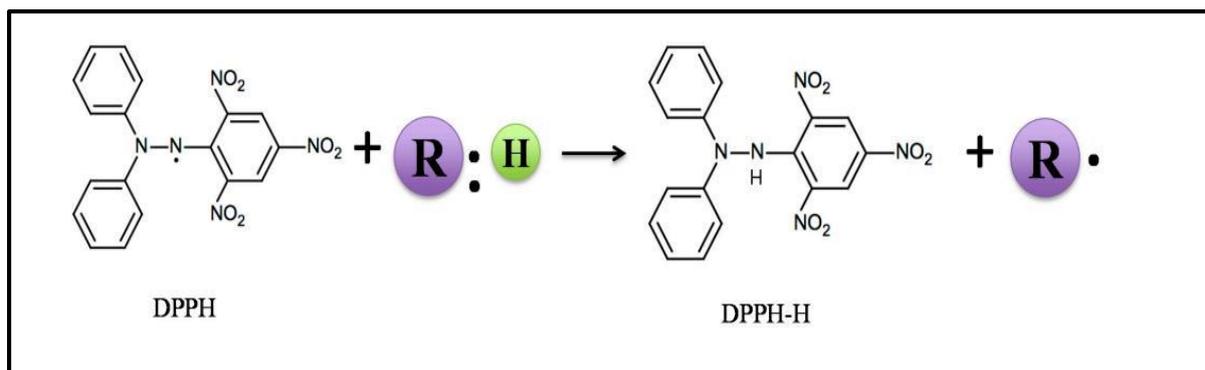
• Principe

Le DPPH[•] (1-1-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, sa couleur disparaît rapidement lorsqu'il est réduit en diphényl picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire (**Sanchez Moreno., 2002**).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH[•] (violet) pour le transformer en diphényl picryl hydrazine (jaune) (**Brand William et al., 1995**).



Antioxydant



Radical de l'antioxydant

Figure12 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un antioxydant.

• Mode opératoire

Préparation du DPPH

Une quantité de 6 mg de DPPH[•] a été dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol. L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm et doit être comprise entre à 0,5 et 1 ceci est dans le but d'assurer une quantité du radical (DPPH[•]) suffisante dans le milieu réactionnel pour le bon déroulement de la réaction.

Procédure

L'activité antiradicalaire du DPPH est déterminée selon la méthode de **Blois (1958)**. 160 µl de solution méthanolique du DPPH est ajouté à 40µl de solution d'extrait de chaque dilution, la microplaque est incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. Le témoin négatif est composé de 160 µl de solution méthanolique de DPPH et 40 µl du solvant utilisé pour les dilutions. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculé comme suit :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

II.5.1.2. Mesure du pouvoir du piégeage du radical ABTS^{•+}

- **Principe**

Le radical ABTS^{•+} est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (**Re et al., 1999**). La solution d'ABTS présente une coloration bleu turquoise lorsque le radical (ABTS^{•+}) reste dans un état libre. Cependant, la forme réduite du radical confère à la solution une coloration jaune lorsque le radical est piégé par les substances antioxydants présentes dans l'extrait ; l'intensité de la coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (**Miguel, 2010**).

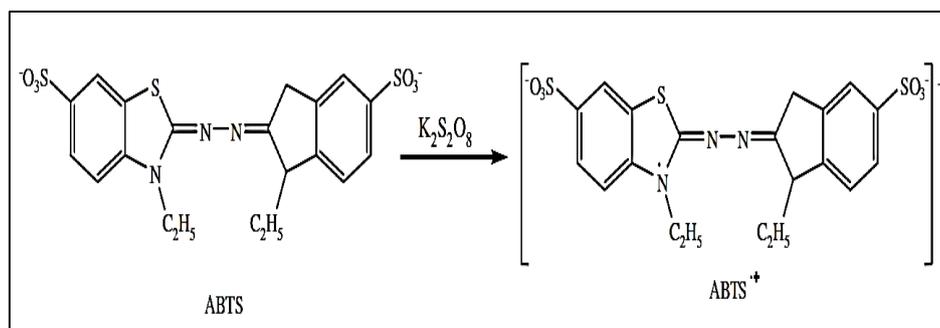


Figure13 : oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS^{•+} (**Gülçin, 2012**).

- **Mode opératoire**

Préparation de l'ABTS^{•+}

L'ABTS est mélangé avec le persulfate de potassium dans de l'eau distillée, ce mélange est mis à l'abri de la lumière pendant 12-16 heures. Après ajustement de la DO à 0.70-0.72, la solution est ensuite utilisée pour le test.

Procédure

Un volume de 40 µl extrait est ajouté à un volume de 160 µl de la solution d'ABTS⁺⁺ le mélange est incubé pendant 10 min. L'absorbance est mesurée à 734 nm, Le témoin négatif est composé de 160 µl de solution méthanolique de ABTS⁺⁺ et 40 µl du solvant utilisé pour les dilutions. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

II.5.1.3. Test de blanchissement du β-carotène

- **Principe**

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes ; ces radicaux libres vont par la suite oxyder la β-carotène, entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge suivie par spectrophotométrie à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de β-carotène, dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène (Tepe et al., 2005).

- **Mode opératoire**

Préparation du β-carotène

Un volume de 1 ml de chloroforme est ajouté à un mélange de 0.5mg β-carotène, 200 µl Tween 40 et 25 µl acide linoléique, le mélange réactionnel préparé est placé dans un rotavapeur pour sécher le chloroforme. 50 ml d'H₂O₂ sont par la suite rajouté.

L'absorbance du β-carotène doit être comprise entre 0,8 et 0,9.

Procédure

L'activité β-carotène est déterminée selon la méthode de Marco (1968). 40µl d'extrait est ajouté à 160 µl de solution de β-carotène, ce mélange est incubé pendant 120 min à l'obscurité à 45°C. Le témoin négatif contenant 160 µl de solution β-carotène avec 40 µl du solvant utilisé pour les dilutions. Les pourcentages d'inhibition de blanchiment de la β-carotène ont été calculés par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{D.O E}_{120} - \text{D.O T}_{120}) / (\text{D.O T}_0 - \text{D.O T}_{120})] \times 100$$

II.5.1.4. Test du pouvoir réducteur

- **Principe**

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode d'**Oyaizu (1986)** avec une légère modification. Les substances qui ont un potentiel de réduction réagissent avec le ferricyanide de potassium pour former le ferrocyanide de potassium qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux qui a un maximum d'absorbance à 700 nm.

- **Mode opératoire**

Un volume de 10 µl d'extrait est additionné à 40 µl de tampon phosphate à pH 6,6 (Le tampon Phosphate est préparé en mélangeant deux solution aqueuses : 0,078 g NaH_2PO_4 dissoute dans 50 ml H_2O et 0,1780 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dissoute dans 100 ml H_2O). Et à 50 µl de potassium ferricyanide (1%) : (1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 ml H_2O). Après l'incubation à 50°C pendant 20 min, 50 µl de l'acide trichloroacétique (TCA) à 10% (1g de TCA dans 10 ml H_2O) sont ajoutés avec 40 µl H_2O et 10 µl de chlorure de fer FeCl_3 (0.1%) : (0.1g de FeCl_3 dans 100 ml H_2O). La lecture par spectrophotométrie est faite à 700 nm.

II.5.1.5. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

- **Principe**

Le test consiste au suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe néocuproïne, cuivre ($\text{NC}_2\text{-Cu}^{2+}$). En effet en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit (**Apak et al., 2004**).

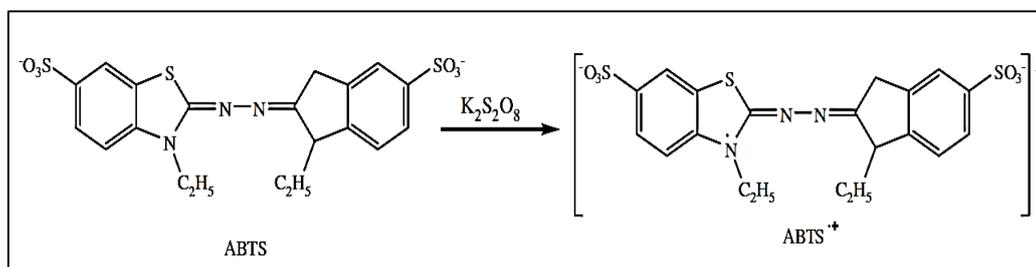


Figure 13 : Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II) (**Özyürek et al., 2011**).

- **Mode opératoire**

Préparation des solutions

Trois solutions sont préparées pour effectuer cette activité

-**Solution 1** : 1.927g d'acétate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) sont dissoutes dans 25 ml (H_2O).

- **Solution 2** : 0.042625g ($\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) sont dissoutes dans 25 ml (H_2O).

- **Solution 3** : 0.039g (Néocuproïne) sont dissoutes dans 25 ml (Ethanol).

Procédure

La méthode utilisée est celle de **Apak et al., (2004)** ; 40 μl extrait sont mélangé avec 60 μl S1, 50 μl S3 et 50 μl S2 le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur de microplaque et incubé pendant une heure. L'absorbance est mesurée à 450 nm.

II.5.1.6. Test de chélation de fer

- **Principe**

Le test de la chélation des ions Fe^{2+} quant à lui met en avant la capacité d'une molécule à fixer les ions Fe^{2+} , qui jouent un rôle important lors de la production des radicaux libre (**Huang et al., 2005**); la ferrozine forme un complexe avec le fer libre présent dans le milieu réactionnel, un complexe ferrozine Fe^{2+} de couleur violet intense, plus la coloration de la solution est claire plus le pouvoir chélateur est important (**Zhao et al., 2006**).

- **Mode opératoire**

La méthode de chélation de fer est déterminée selon la méthode de **Decker et Welch (1990)**. Un volume de 40 μl du méthanol est additionné à 40 μl extrait, 40 μl Fe^{2+} (0.2 mM) et 80 μl ferrozine l'absorbance est mesurée à 593 nm après incubation pendant 10 min Le témoin négatif est composé de 160 μl de solution méthanolique du mélange réactionnel et 40 μl du solvant utilisé pour les dilutions.

II.5.1.7. Test de Superoxyde DMSO-alcalin

- **Principe**

La méthode est basée sur la réduction de nitrobleutetrazolium (NBT) en monoformazon en présence de radical superoxyde, la concentration en superoxyde dans le système DMSO alcalin correspond à la concentration en oxygène dissous dans le DMSO. La diminution de la couleur verte obtenue est mesurée à 560 nm (**Auclair et voisin., 1985 ; Harput et al., 2011**).

Procédure

L'activité DMSO alcalin est déterminée selon la méthode de **Rao et Kunchandy., (1990)** avec une légère modification. 40 μl extrait est mélangé avec 130 μl DMSO alcalin (2 mg de

NaOH est dissous dans 1 ml H₂O le volume est complété à 10 ml par le DMSO) et 30 µl NBT (10 mg NBT dans 10 ml d'eau distillée), l'absorbance est mesurée à 560 nm.

II.5.1.8. Test de piégeage de radical Hydroxyle

- **Principe**

Le radical hydroxyle (OH[•]) est un radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre (**Castro et Freeman, 2001**).

- **Mode opératoire**

L'activité est décrite par **Smirnoff et Cumbes (1989)** ; un mélange de 40µl de l'extrait et 12 µl de la solution de sulfate de cuivre : (8mM sulfate de Fer dans 10 ml H₂O) est ajouté à 10 µl d'un deuxième mélange composé de 30µl d'H₂O₂ et 19.94 ml H₂O et 40 µl de la solution d'acide salicylique 3 mM la plaque est incubé par la suite à 37 °C pendant 30 min puis 18 µl H₂O sont ajoutés. Le témoin négatif est composé de 160 µl de mélange réactionnel et 40 µl du solvant utilisé pour les dilutions, l'absorbance est mesurée à 510 nm.

II.6. Les activités inhibitrices des enzymes

II.6.1. Evaluation de l'activité anti-hyperglycémiant

II.6.1.1. Test d'inhibition de l'alpha-amylase

- **Principe**

L'alpha-amylase des mammifères sécrétée par le pancréas à travers le suc pancréatique, est une enzyme dont le rôle essentiel est d'hydrolyser l'amidon alimentaire, cette enzyme pourrait être sécrétée aussi par les glandes salivaires. Les inhibiteurs de l'hydrolyse des hydrates de carbone par l'alpha-amylase dans le tractus digestif retardent leurs digestions et prolongent leurs temps causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (**Megh raj et al., 2008**) et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie (**Hong et al., 2008**).

Procédure

L'activité inhibitrice de l'α-amylase a été réalisée en utilisant la méthode (**Zengin G et al., 2014**) avec quelques modifications. 25 µl d'extrait est mélangé avec 50 µl (solution α-amylase 1U/ml) et incubé pendant 10 min à 37 °C puis 50 µl d'amidon 0.1% sont ajoutés, le mélange

est incubé pendant 10 min à 37 °C. Après incubation, 25µl HCl (1M) et 100µl IKI sont additionnés et l'absorbance est mesurée à 630 nm. L'acarbose est utilisée comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = 1 - [\text{DO (KII+ Amidon)} - \text{DO (extrait)}] / \text{DO (KII+Amidon)} - \text{DO (Control)}$$

II.6.2. Test d'inhibition de l'alpha-glucosidase

- **Procédure**

L'activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase est déterminée selon la méthode de **Sinéad (2013)**. Le mélange de 50 µl de l'extrait et 50µl de substrat 4-nitrophényl alpha D-glucopyranoside (*p*-NPG) est incubé à 37°C pendant 10 min, puis 100µl de solution d'enzyme (0,1U/ml) sont ajoutés au mélange, l'absorbance est mesurée à 405nm. L'acarbose est utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition de l'alpha-glucosidase a été calculé comme suit :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

II.6.3. Evaluation de l'activité anti-uréase

- **Principe**

L'uréase est une enzyme responsable de la rapide hydrolyse de l'urée en ammoniac ce qui provoque des troubles gastro-intestinaux, en particulier l'ulcère et le cancer gastrique (**Devesa et al., 1998**).

- **Mode opératoire**

Préparation des solutions

Tampon Phosphate pH 8,2 préparé comme précédemment cité.

Le réactif de Phénol a été préparé comme suite : la solution aqueuse : 2 g de phénol dissous dans 25 ml H₂O est ajouté à 25 mg (Na₂ [Fe(CN) 5NO] ,2H₂O) dissous dans 25 ml H₂O.

Réactif Basique : 0, 7125 g NaOH sont dissoutes dans 25 ml H₂O puis, 1,175 ml NaOCl dissoute dans 25 ml H₂O est ajouté.

Procédure

10 µl extrait est mélangé avec 25 µl uréase (1 mg enzyme dissoute dans 1 ml tampon phosphate à pH 8.2) et 50 µl urée (0,2553g urée est dissoute dans 25 ml tampon) et incubé 15 mn à température 30 °C, puis 45 µl réactif de phénol et 70 µl réactif basique sont additionnés. Le mélange est ensuite incubé pendant 50 mn. L'absorbance est mesurée à 630 nm.

II.6.4. Evaluation de l'activité anti-tyrosinase**• Principe**

La tyrosinase est le catalyseur responsable de la synthèse de mélanine chez les mammifère, l'augmentation de l'enzymes peut augmenter le degré de pigmentation de façon remarquable (Hearing et al., 1987).

• Mode opératoire**Procédure**

150 µl tampon (pH=6,8) sont mélangés avec 10 µl extrait et 20 µl enzyme (1 mg dans 250 µl du tampon phosphate à pH 6,8), ce mélange est incubé 10 min à température 37 °C puis 20 µl L-DOPA (5 mg sont dissoutes dans 5 ml eau distillée) sont ajoutés.

II.6.5. Evaluation de l'activité anti-butyrylcholinestérase**• Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de butyrylcholinestérase à hydrolyser le substrat et à produire de la thiocholines. Cette dernière réagit avec l'acide 2-nitrobenzoïque (DTNB) et générer un chromophore jaune qui peut être quantifié à 412 nm.

• Mode opératoire**Préparation des solutions**

Le substrat a été préparé en mélangeant.

• Procédure

L'activité anti-butyrylcholinestérase est déterminé selon la méthode de **Ellman et al., (1961)**. 150 µl du tampon phosphate à pH 8 est ajouté à 10 µl de l'extrait et à 20 µl d'enzyme, ce mélange est incubé pendant 15 minutes à 25°C, puis 10 µl de DTNB et 10 µl de substrat Butyrylcholine iodide (16 mg de substrat est dissout dans 4 ml d'H₂O et 4 ml du tampon

phosphate à pH 8 sont ajoutés. L'absorbance est mesurée chaque 5 minutes durant les 15 min d'incubation à 25 °C.

III. Analyse statistique

Le test ANOVA a été utilisé pour les comparaisons statistiques. Les résultats exprimés en moyenne \pm une erreur standard avec un seuil de significativité $p \leq 0.05$. Tous les calculs ont été effectués au moyen du logiciel EXCELSTAT 2014 sur Windows 7.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. L'étude quantitative des deux plantes

III.1.1. *Artemisia*

III.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux.

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de folin-ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard, l'absorbance a été mesurée dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $(Y=0,002X+0,255)$ avec $R^2=0,982$

La quantité des polyphénols a été rapportée en μg d'équivalent de l'acide gallique par mg de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EAG/mg PS}$).

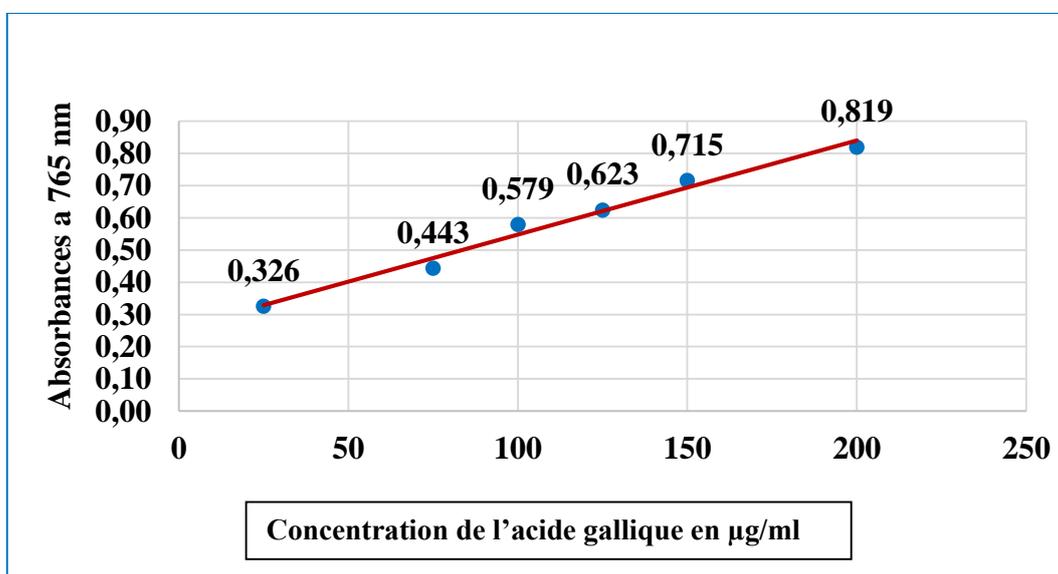


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et charpentier.,2006**).

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés à la (**figure 16**).

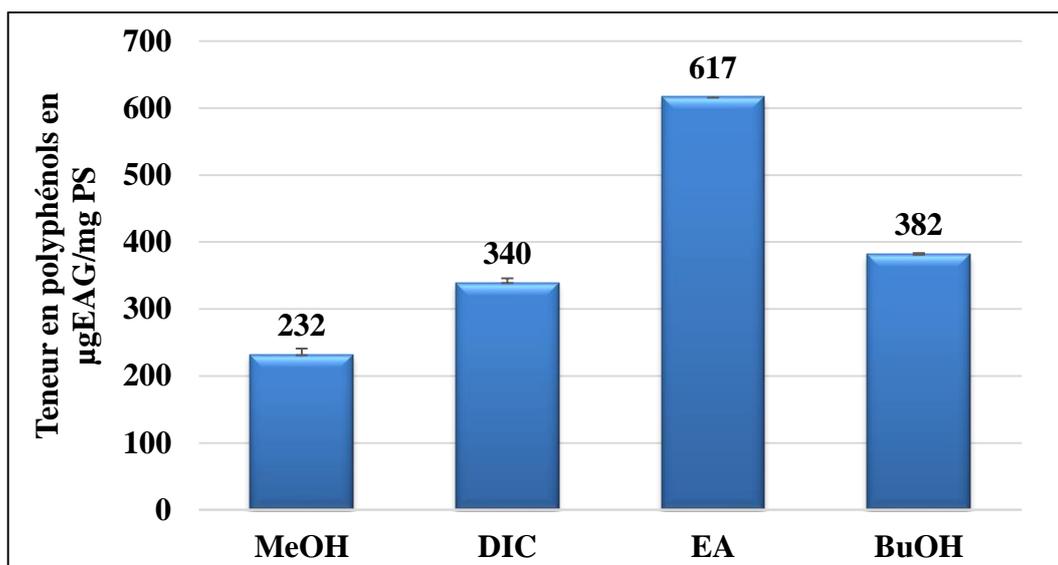


Figure 16 : Evaluation des polyphénols totaux des extraits d'*Artemisia*

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été déterminées par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage d'acide gallique. Les résultats montrent que l'extrait EA représente l'extrait le plus riche avec en polyphénols avec une teneur de $617,1 \pm 1,37$ µg EAG/mg d'extrait, suivi par les extraits BuOH et DIC ($382,1 \pm 3,62$ et $339,52 \pm 6,55$ µg EAG/mg d'extrait, respectivement) et l'extrait MeOH représente l'extrait qui contient la plus faible teneur en polyphénols avec $232,16 \pm 9,06$ EAG/mg d'extrait.

Dans une étude réalisée par **Magdiche-ksouri et ses collaborateurs (2015)** la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne dans des extraits méthanolique et acétate d'éthyle d'*Artemisia* est égale à $158,75 \pm 12,5$ et $94,17 \pm 12,10$ mg EAG/g PS, respectivement, cette teneur est relativement élevée mais plus faible à celui trouvé dans notre étude.

Dans une autre étude **Djeridane et al., (2007)** ont dosé les polyphénols totaux dans un extrait éthanolique (80%), la teneur trouvée était $103,4$ mg EAG/ g PS. Ce résultat est relativement élevé, cette teneur peut atteindre plus de 450 mg EAG/g d'extrait quand l'extraction est réalisée avec une solution alcoolique à 50% (**Akrout et al., 2011**).

En outre, **Djidel et Khannouf., (2014)** ont déterminé la teneur en polyphénols. Les résultats ont montré que l'extrait EA est riche en composés phénolique avec ($481,25 \pm 0,026$ mg EAG/g PS), suivi par l'extrait chloroformique et méthanolique avec teneur ($169,2 \pm 0,08$ et $143,4 \pm 0,03$ mg EAG/g PS, respectivement), ces résultats sont relativement similaires à celui trouvé dans notre étude.

III.1.1.2. Dosages des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium, ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La quercétine a été utilisée comme étalon, les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $(Y=0,006X+0,035)$ avec $R^2=0,995$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en μg d'équivalent de la quercétine par mg de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EQ/mg PS}$).

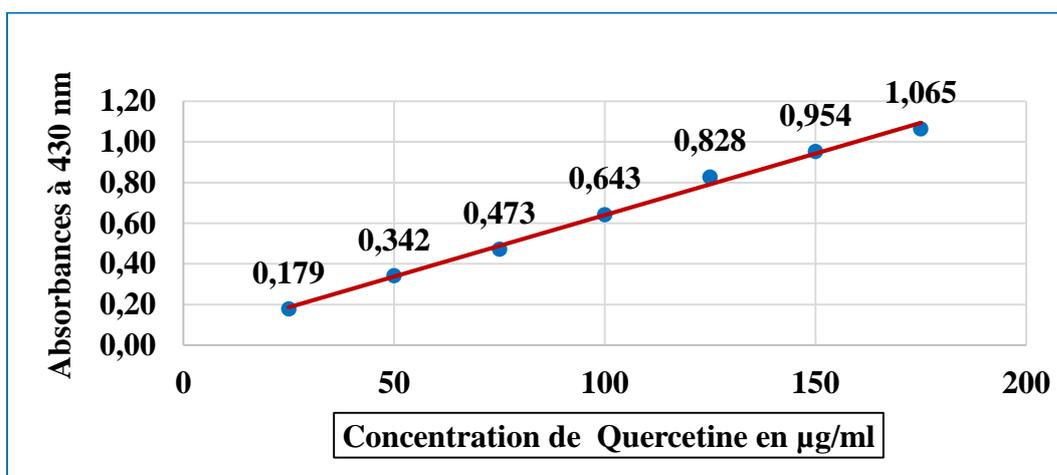


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont illustrés dans la figure au-dessous.

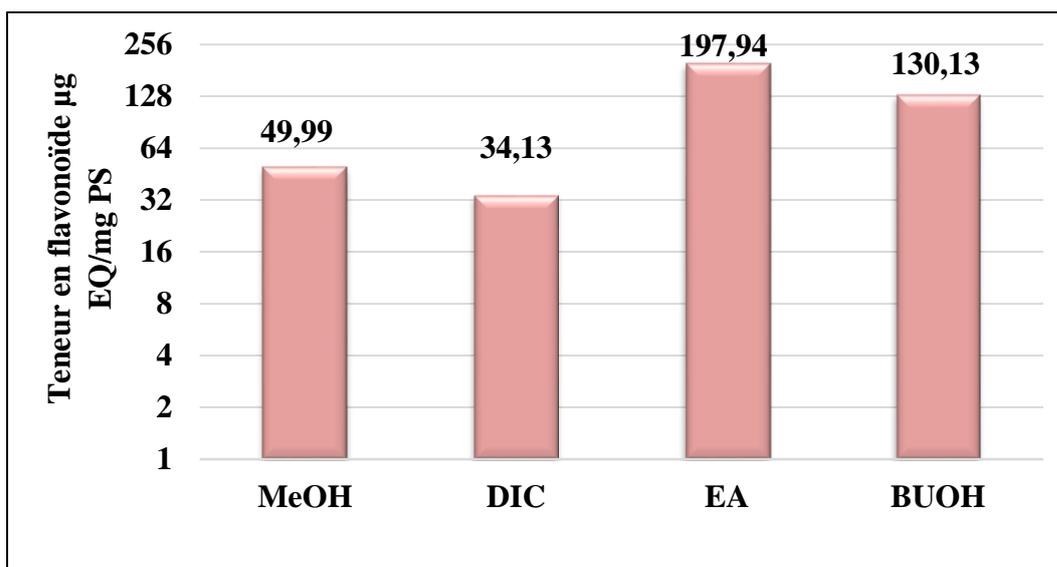


Figure 18 : Evaluation des flavonoïdes des extraits d'*Artemisia*

D'après la (**figure 18**), les extraits EA et BuOH représentent les extraits les plus riches en flavonoïdes avec $179,94 \pm 4,66$ et $130,13 \pm 1,75$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement. Suivi par les extraits MeOH et DIC qui ont montré les teneurs les plus faibles avec $49,99 \pm 3,70$ et $34,13 \pm 6,75$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement.

Tandis que, l'étude réalisée par **Mediche-ksouri et al., (2015)** a montré que la quantité en flavonoïdes totaux la plus élevée a été trouvée dans l'extrait méthanolique suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec ($175,232 \pm 7,26$ et $67,455 \pm 2,28$ mg EC/g DR, respectivement), ces résultats sont relativement très élevés en ce qui concerne l'extrait méthanolique lorsqu'on les compare avec les nôtres, et deux fois inférieurs à celui trouvé pour l'extrait EA.

Alors que, **Djidel et Khannouf (2014)** ont trouvé que l'extrait de chloroforme avait la plus forte teneur en flavonoïdes avec ($34,37 \pm 0,056$ mg EQ/g PS), suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec ($22,11 \pm 0,013$ mg EQ/g PS). Ce dernier est plus faible, il est 5 fois inférieur à celui trouvé dans notre étude.

III.1.2. *Aristolochia*

III.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux.

Les composés phénoliques végétaux constituent une classe majeure de constituants bioactifs. Ils possèdent la chimie idéale pour l'activité de piégeage des radicaux libres en raison de la présence d'une forte réactivité en tant que donneurs d'hydrogène ou d'électrons et d'une activité de chélation des métaux. Ainsi, la consommation régulière de fruits et légumes riches en composés phénoliques ainsi que d'aliments inhibera la cancérogenèse et la mutagenèse chez l'homme. **La figure 19** montre les résultats de dosage des polyphénols dans les différents extraits de l'*Aristolochia*, l'extrait brut montre la plus forte teneur en polyphénols ($86,33$ $\mu\text{g EAG/mg PS}$) suivi par la phase EA ($54,53$ $\mu\text{g EAG/mg PS}$), et enfin les phases dichlorométhane et butanolique qui ont des teneurs très proches.

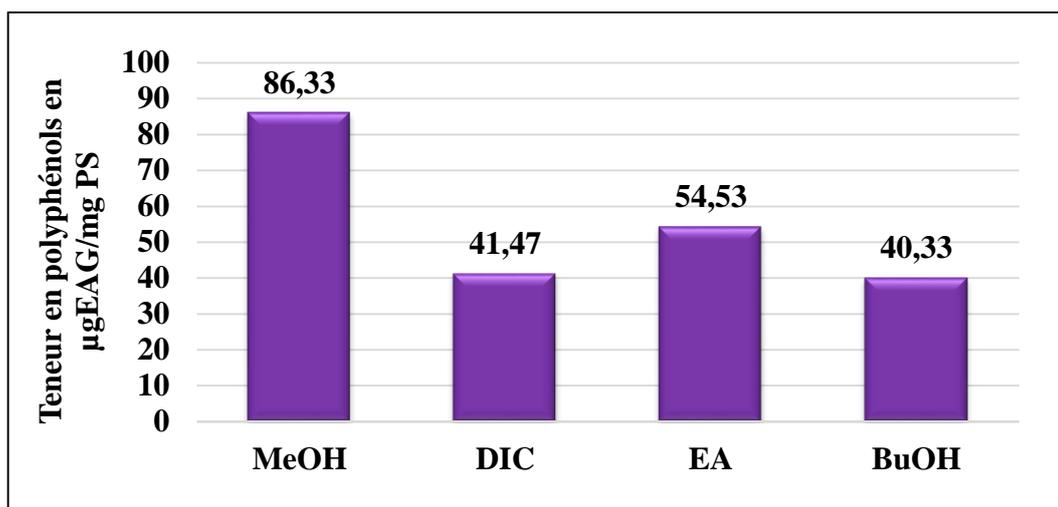


Figure 19 : Teneur en polyphénols des extraits de l'*Aristolochia*.

III.1.2.2. Dosages des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe important de métabolites secondaires qui peuvent posséder une activité biologique et avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine comme l'activité antimicrobiens, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anti-cholestérol, antioxydants. Les résultats de dosage des flavonoïdes des extraits de l'*Aristolochia* montrent que l'extrait méthanolique présente la plus forte teneur en flavonoïdes avec une concentration de 94.11 µg EQ/mg PS suivie par la phase butanolique avec un teneur de 83.3 µg EQ/mg PS, et les phases dichlorométhane et éthyl-acétate avec des teneurs de 77.38 et 77.55 µg EQ/mg PS, respectivement.

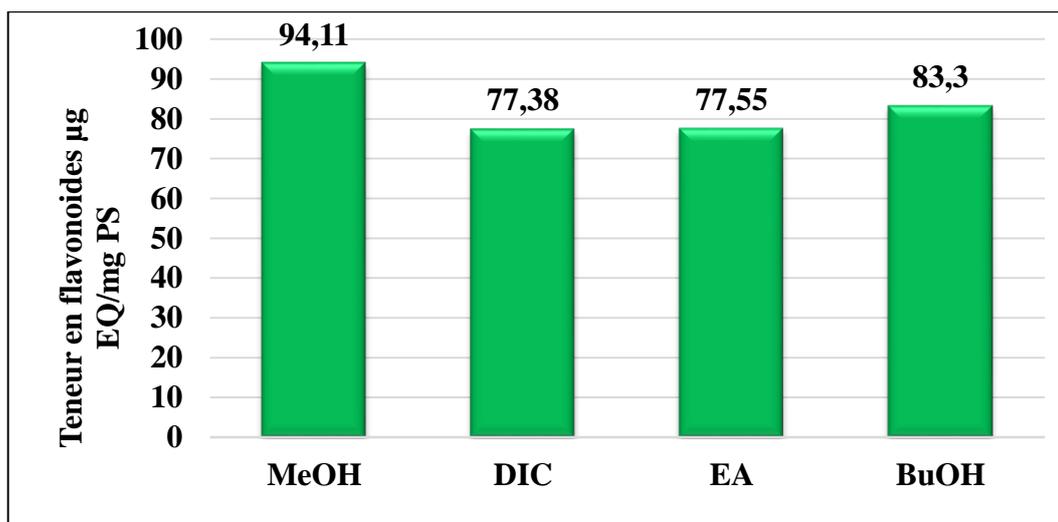


Figure 20 : Teneurs des flavonoïdes des extraits de l'*Aristolochia*.

III.2. Les propriétés biologiques des plantes

III.2.1. Les activités antioxydantes

Différents extraits des plantes sont des sources potentielles des composants chimiques naturels responsables d'activité antioxydante. A cet effet, plusieurs essais ont été menés par certains auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant de ces différents extraits.

C'est dans ce contexte que nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne et des racines de deux espèces différentes à savoir l'*Artemisia* L et l'*Aristolochia* par huit méthodes différentes en l'occurrence la capacité des composés à piéger des radicaux libres (DPPH , ABTS , le radical Hydroxyle et le superoxide DMSO alcalin), la peroxydation des lipides (blanchissement de β -carotène), à chélater des métaux de transition (Fer) , CUPRAC et à tester le pouvoir réducteur de différents extraits .

Les mesures spectrophotométriques sont majoritairement utilisées en ce qui concerne l'analyse des antioxydants.

Les extraits testés par ces méthodes sont :

- L'extrait brut de la partie aérienne et des racines de l'*Artemisia* et l'*Aristolochia* respectivement.
- L'extrait d'acétate d'éthyle.
- L'extrait dichlorométhane.
- L'extrait butanolique.

L'Acide ascorbique, BHA, BHT et α -tocophérol sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et sont utilisés comme control positif.

III.2.1.1. Les activités antioxydantes d'*Artemisia*

A. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH⁺ a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés aux étalons de référence (α -tocophérol).

L'activité de piégeage des radicaux libres déterminé par DPPH d'*A.competris* L est exprimée en valeur IC₅₀ (la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH⁺).

Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans la **Figure 21**.

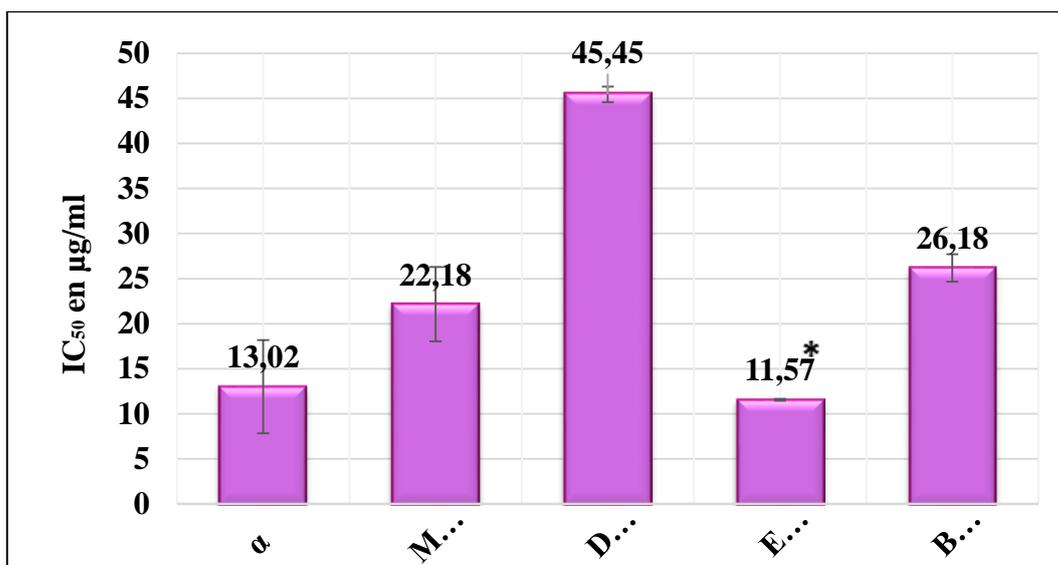


Figure 21 : IC₅₀ pour l'activité antiradicalaire DPPH de *l'Artemisia* exprimé en µg/ml (* $p > 0.05$).

(MeOH : extrait brut, DIC : extrait dichlorométhane, EA : extrait d'acétate d'éthyle, BuOH : extrait butanolique).

Une valeur IC₅₀ inférieure indique une activité antioxydante plus élevée (Pokorny et al.,2001).

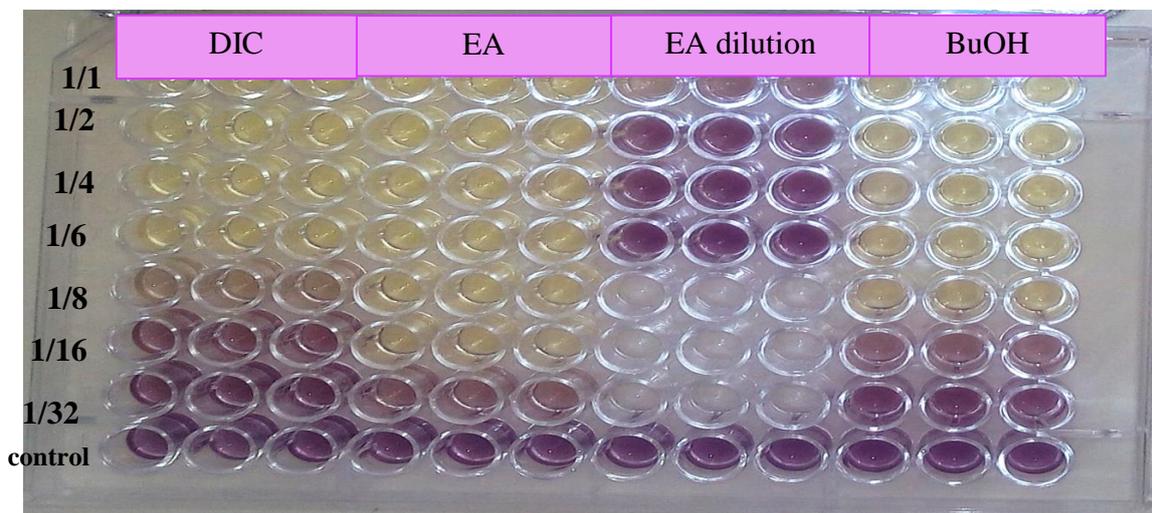


Figure 22 : La plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH).

Les valeurs des IC₅₀ qui sont inversement proportionnelles à l'activité antioxydante sont en accord avec ces observations (**Figure 20**)

L'activité de piégeage des radicaux libres déterminé par DPPH varie de (11,57-45,45 μ g/ml). Les résultats ont montré que l'extrait EA présente la plus forte activité de piégeage avec la valeur IC₅₀ 11,57 \pm 0,10 μ g/ml ce résultat est comparable à celui de l' α -tocophérol où la valeur d'IC₅₀ est de 13,02 \pm 5,17 μ g/ml, suivi par l'extrait MeOH et BuOH avec des valeurs d'IC₅₀ égale à 22,18 \pm 4.13 et 26,18 \pm 1,52 μ g/ml respectivement qui ont montré un faible effet antioxydant comparé à celui de standard et EA. Alors que l'extrait DIC à enregistrer l'activité la plus faible avec IC₅₀ (45,45 \pm 0,87 μ g/ml).

Le résultat obtenu est comparable à celle du (Magdiche-ksouri et al., 2015) qui ont trouvés que la fraction EA présente une forte capacité de piégeage avec une valeur IC₅₀ (10 \pm 0.02 μ g/ml).

Tandis que la fraction méthanolique de la partie aérienne exprime une activité antioxydante correspondant à IC₅₀ (6 \pm 0,01 μ g/ml) cette valeur était presque deux fois plus élevée que celle du notre résultat.

B. Activité antiradicalaire ABTS^{•+}

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits préparés à partir de l'*A.cpmestris* L, en utilisant la méthode basée sur la capacité d'une substance à piéger le radical ABTS^{•+} par rapport à un antioxydant standard (BHA). Les résultats sont présentés au **Figure 22**.

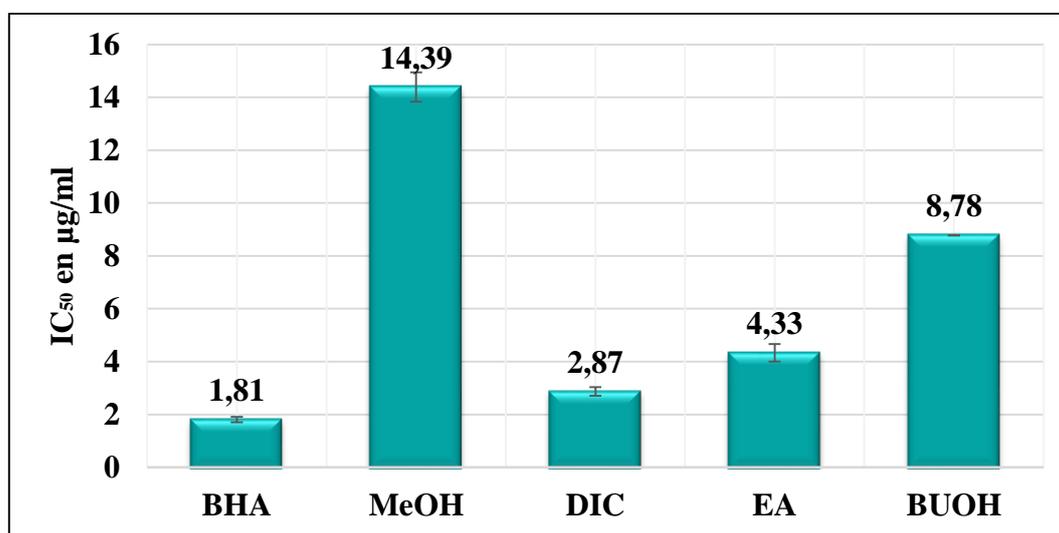


Figure 23 : IC₅₀ pour l'activité antiradicalaire ABTS^{•+} de l'*Artemisia* exprimé en μ g/ml.

D'après les résultats représentés dans l'histogramme illustrée au-dessus, l'extrait DIC possède un potentiel de piégeage du radical ABTS^{•+} plus important qui estimé par une IC₅₀ (2,87 \pm 0,16 μ g/ml) qui est presque comparable de l'antioxydant de synthèse BHA qui a montré

une IC_{50} ($1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$). Alors que, les extraits EA et BuOH IC_{50} ($4,33 \pm 0,33$ et $8,78 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ respectivement) ont enregistré une activité faible par rapport au BHA et l'extrait DIC.

Tandis que, l'extrait MeOH présente la plus faible capacité par rapport au standard et les 3 autres extraits avec IC_{50} ($14,39 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$).

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont la capacité de piéger le radical $ABTS^{+}$

Ceci est confirmé par l'étude réalisée par (Bakchiche et Gharib.,2014) qui a montré que le potentiel de piégeage de radical $ABTS^{+}$ par l'extrait phénolique des feuilles d'*Artemisia*, a un effet antioxydant celle correspond à IC_{50} ($15 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$).

C. Le pouvoir réducteur

Le pouvoir antioxydant réducteur est la capacité qu'a un extrait à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}). Les valeurs de $A_{0,5}$ ont été déterminés à partir du graphique de l'absorbance à 700 nm et l' α -tocophérol a été utilisé comme témoin positif. Les résultats sont exprimés dans la **Figure 24**.

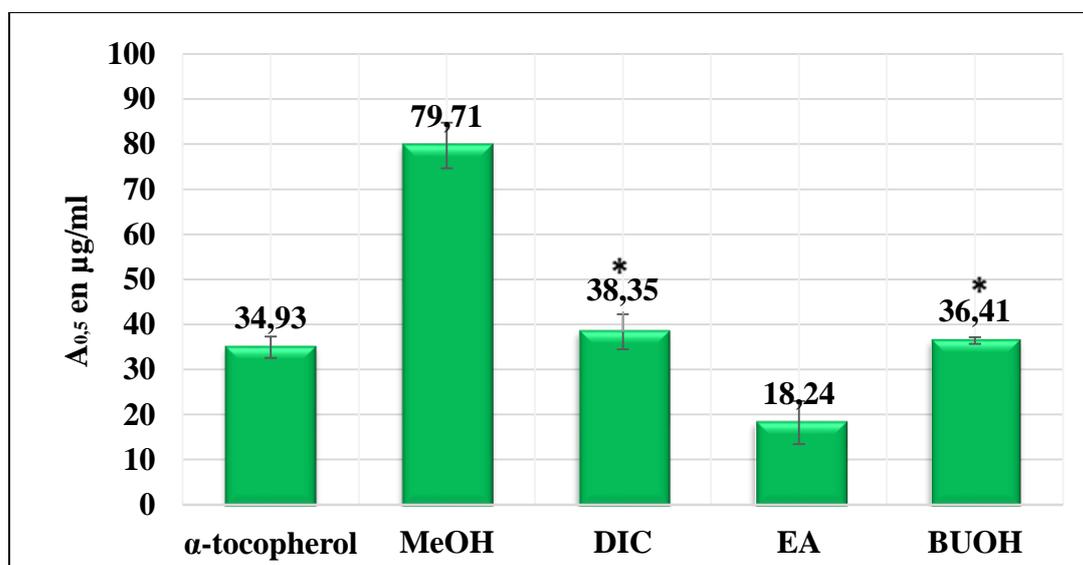


Figure 24 : Le pouvoir réducteur de différents extraits d'*Artemisia* (* $p > 0,05$)

D'après les résultats, on constate que tous les extraits ont la capacité de réduire le fer.

Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'extrait EA qui présente le pouvoir le plus important et le plus fort avec une $A_{0,5}$ de $18,24 \pm 4,79 \mu\text{g/ml}$, cette valeur est inférieure à celle de l'antioxydant standard (α -tocophérol). Suivi par l'extrait BuOH et DIC $36,41 \pm 0,73$ et

38,35±3,89 µg/ml respectivement, ces dernières valeurs sont proche à la molécule de référence α -tocophérol (34,93±2,38 µg/ml).

Alors que l'extrait MeOH a enregistré le pouvoir le plus faible par rapport aux autres extraits.

On peut dire donc que l'extrait EA possède une meilleure activité réductrice, ceci est confirmé par l'étude menée par (Djidel et khenouf,2014) qui ont trouvé que les extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme de la partie aérienne d'*Artemisia* ont augmenté le pouvoir réducteur avec des doses respectives efficaces 45 et 170 µg/ml.

D. Le test CUPRAC

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante de différents extraits d'*Artemisia*, en utilisant la méthode CUPRAC qui est basée sur l'absorbance du chélate du Cu (I)-neocuproïne (NC), elle permet de mesurer la réduction des ions cuivrique (Cu II) en ions cuivreux (Cu I) (Özyurek et al.,2010).

Ce test est colorimétrique et le réactif passant du bleu vert au jaune dans la présence d'antioxydante, ce qu'il est évident dans notre résultat qui est illustré sous forme d'histogramme dans (la figure 25) dessous. En présence de standard (BHT).

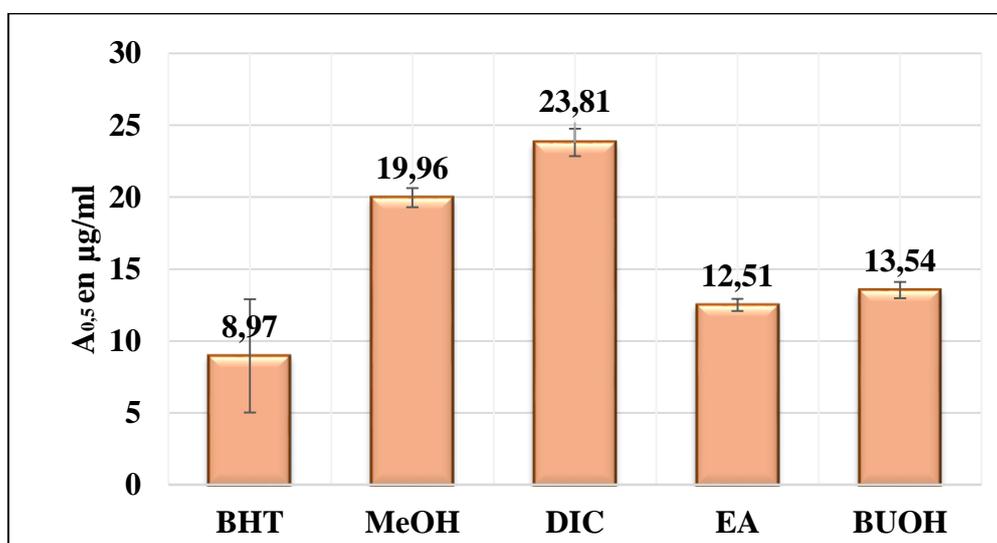


Figure 25 : A_{0,5} pour l'activité CUPRAC de l'*Artemisia* exprimé en µg/ml.

D'après l'histogramme, on constate que l'extrait EA présente la plus forte activité que celle des autres extraits avec A_{0,5} de 12,51±0,42µg/ml, suivi par l'extrait BuOH et MeOH avec une A_{0,5} égale à 13,54±0,56 et 19,96±0,67 respectivement. Tandis que, l'extrait DIC présente une faible activité A_{0,5} égale 23,81±0,96 µg/ml par rapport aux autres extraits. Les résultats obtenus restent loin d'être comparé au standard BHT (A_{0,5} égale 8,97±3,94 µg/ml).

E. Piégeage du radical superoxide par la méthode DMSO-alcalin

L'activité piégeant des radicaux superoxydes a été déterminé par la méthode DMSO alcalin (Rao et Kunchandy., 1990). La diminution de l'absorbance à 560 nm avec des antioxydants indiqué la consommation de superoxide généré (Harput et al., 2011). Les résultats de l'activité de piégeage des radicaux anioniques superoxydes sont présents à la (Figure26).

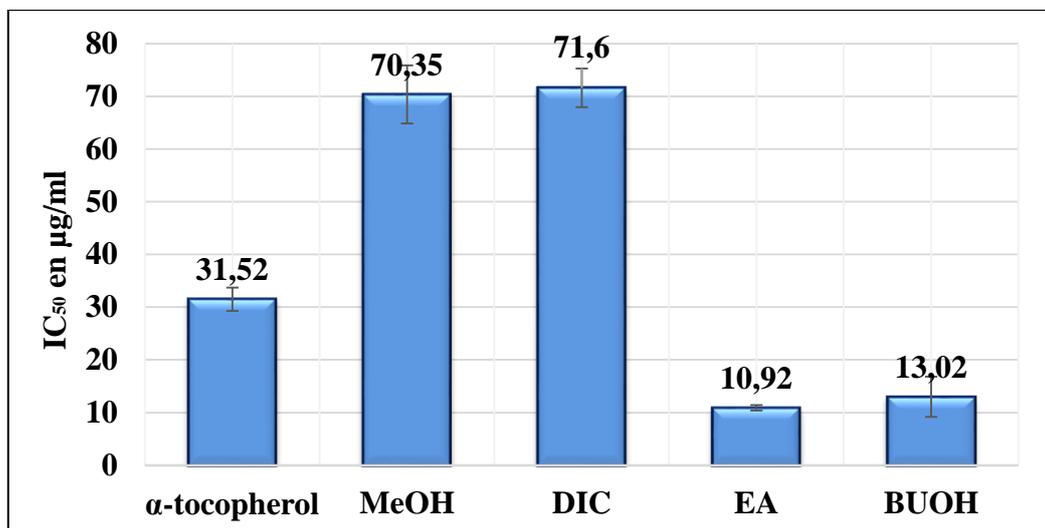


Figure 26 : IC₅₀ pour la capacité de piégeage de superoxide DMSO alcalin d'*Artemisia*

Les extraits EA et BuOH ont montrés une activité piégeant les superoxydes significativement plus élevée avec IC₅₀ égale à 10,92±0,53 et 13,02±3,82 µg/ml respectivement, bien que cette activité soit inférieure à celle de standard α-tocophérol (31,51±2,22 µg/ml). Suivi par les extraits MeOH et DIC ont montré une activité de piégeage la plus faible avec IC₅₀ de 70,35±5,49 et 71,6±3,67 µg/ml respectivement, qui sont supérieur à celle de l'α-tocophérol et les autres extraits.

F. Capacité de chélation du fer

Le degré de chélation des ions ferreux par des échantillons a été évalué selon la méthode décrite par certains auteurs (Decker et al.,1990).

La ferrozine peut former quantitativement des complexes avec Fe⁺². cependant en présence d'agent chélateur, la formation du complexe est perturbée ce qui entraine une diminution de la couleur violette du complexe. La mesure de la réduction de la couleur permet donc d'estimer l'activité chélatante de chélateur (Djidjel et Khannouf,2014).

La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC₅₀), elle a illustré dans la (Figure 27). Ethylène diamine tétra acétique acide (EDTA) a été utilisé comme témoin positif.

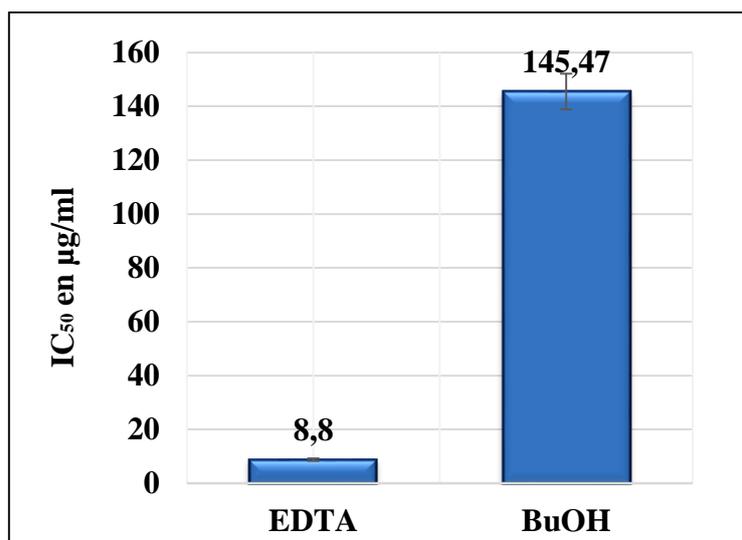


Figure 27 : IC₅₀ pour l'activité chélatante des extraits d'*Artemisia*

Dans cette étude nous avons testé les quatre extraits d'*A.compestis* L mais seulement l'extrait BuOH qu'il nous a donné les résultats représentés dans la figure dessus.

La présente étude a montré que cet extrait BuOH possède une activité avec une IC₅₀ de 145,47±6,63 µg/ml, mais cette activité était plus faible et loin que celle du contrôle positif EDTA (8,8±0,47 µg/ml). C'est le contraire de l'étude menée par **Djidel et Khannouf (2014)**, qui ont trouvé que l'extrait brute et l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia* ont donné 100% de l'activité de chélation des ions ferreux mais avec une concentration de 0,25 ml d'extrait. Ils ont également constaté que l'extrait EA présente la plus faible activité de chélation.

G. Test de blanchissement du β-carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'activité linoléique produit des radicaux peroxyde (**Kaur et Kapoor,2002**). Ces radicaux vont par la suite oxyder la β-carotène hautement insaturé entraîne ainsi la disparition de sa couleur rouge qui est suivi par spectrophotométrie à 490 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés d'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation ainsi que le blanchissement de la β-carotène (**Kouame,2009**).

Les valeurs IC₅₀ (**Figure 28**), nous a permis d'évaluer et comparer l'efficacité des extraits plus la valeur est petite plus l'activité de piégeage est élevée.

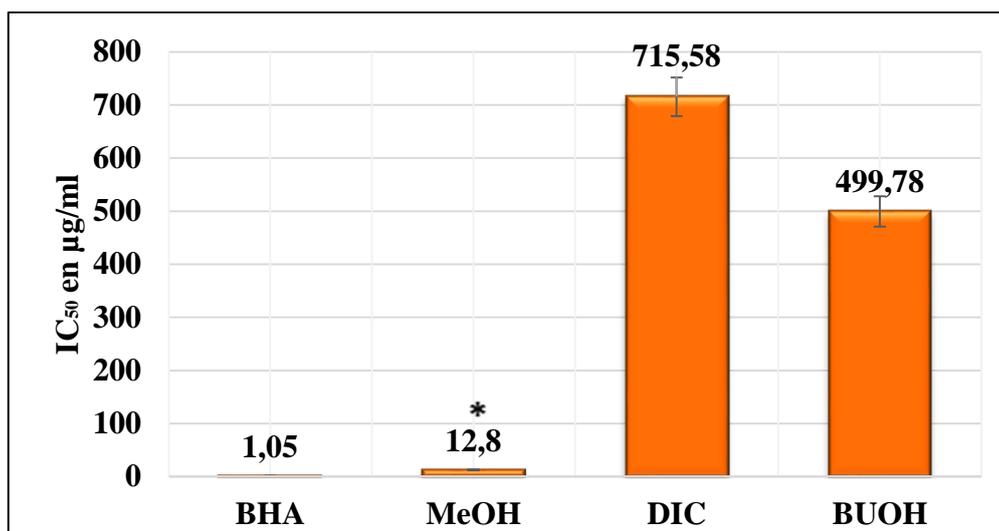


Figure 28 : IC₅₀ des extraits d'*Artemisia* mesuré par la méthode de blanchissement du β-carotène (* $p > 0.05$).

L'inhibition de l'oxydation couplée acide linoléique-β carotène a montré une activité antioxydante relative plus élevée et remarquable pour l'extrait MeOH avec une IC₅₀ de 12,8±0,39µg/ml, mais cette activité est faible par rapport à celle du standard (BHA) 1,05 µg/ml. Les autres extraits DIC et BuOH présentaient la plus faible activité avec une IC₅₀ égale à 715,58±36,45 et 499,78±28,53 µg/ml respectivement. Ce qui était loin et incomparable à celle affichée par le BHA et l'extrait MeOH.

Ces résultats sont peu similaires aux résultats d'étude réalisée par **DJidel et Khannouf (2014)**, qui ont trouvé que l'activité antioxydante relative est plus élevée pour l'extrait brute (méthanolique) avec un pourcentage d'inhibition (82,72%), et qu'il a constaté également que l'extrait EA possède une activité considérable (82% d'inhibition de blanchissement) par contre dans notre résultat cet extrait nous n'a pas donné une activité. De même l'extrait de chloroforme à également inhiber 79% du blanchiment au β carotène.

H. Piégeage du radical hydroxyle

Parmi tous les radicaux d'oxygène réactif, le radical hydroxyle était connu comme le radical le plus puissant. Cela pourrait induire de graves dommages aux biomolécules adjacentes dans le corps (**Yang et al., 2014**).

L'élimination de ce radicale était probablement l'un des moyens les plus efficaces de défense des dommages oxydatifs du corps humain. Par conséquent, l'activité de piégeage des radicaux

hydroxyles a été considérée comme l'un des mécanismes antioxydant les plus importants. L'activité des extraits d'*Artemisia* sur le radical hydroxyle a été montrée sur la **figure 29**.

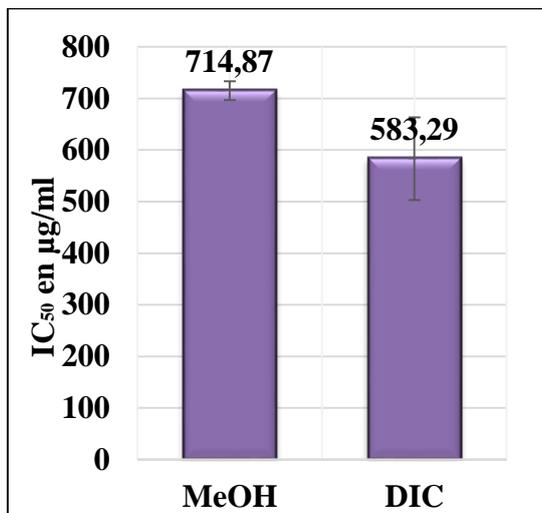


Figure 29 : La capacité de piégeage de radical hydroxyle par l'*Artemisia*

Dans cette étude nous avons testé les quatre extraits d'*Artemisia*, mais seulement l'extrait MeOH et DIC qui ont donnés d'activité avec une IC₅₀ égale à 714,87±18,15 et 583,29±80,23 µg/ml, respectivement.

D'après la figure au-dessus, on peut conclure que l'extrait DIC possède une activité supérieure à celle de l'extrait MeOH.

De même, selon l'étude réalisée par **Djidel et khennouf (2014)**, de nombreux extraits de l'*Artemisia* ont été testés sur de nombreuses espèces réactives de l'oxygène. Ainsi, les extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme ont montré une forte activité de piégeage des radicaux hydroxyles avec une IC₅₀ respective de 0,17 et 0,22 mg/ml.

En outre, (**Aniya et al., 2014**) ont rapporté que l'extrait aqueux de la partie aérienne a inhibé 75% du radical hydroxyle.

III.2.1.2. Les activités antioxydants d'*Aristolochia*

A. Activité antiradicalaire DPPH

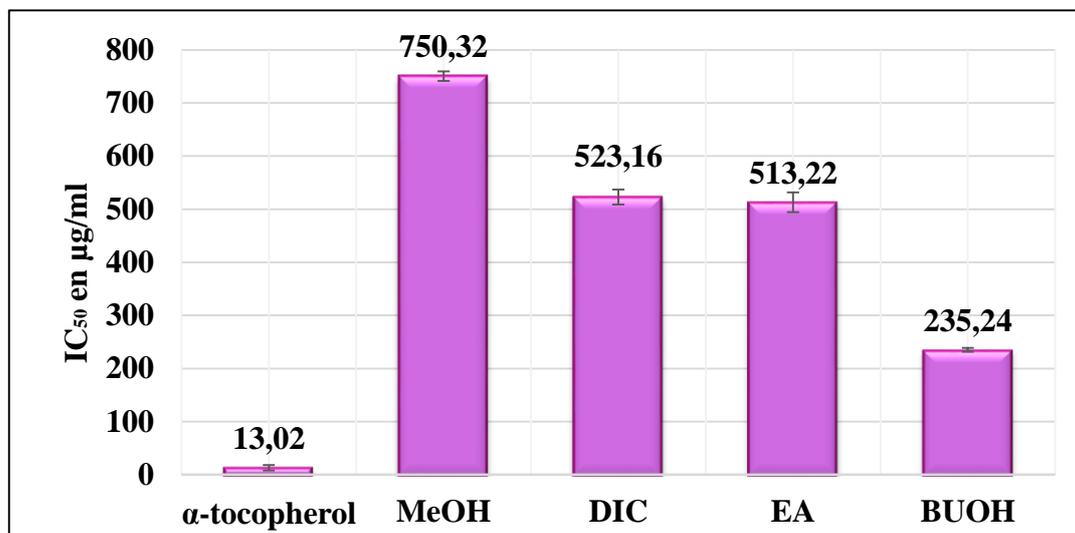


Figure 30 : IC₅₀ pour l'activité antiradicalaire DPPH de l'*Aristolochia* exprimé en µg/ml.

Parmi les extraits testés, l'extrait butanolique représente l'extrait le plus actif avec une IC₅₀ de l'ordre de 235,24±3,51 µg/ml. Cependant, les autres extraits : méthanolique, éthyle acétate, dichlorométhane ont présenté des IC₅₀ plus faible de l'ordre de 513,22±18,64 et 577,87±61,75 et 523,16±14,14 µg/ml respectivement.

En comparaison avec le standard tous les extraits testés s'avèrent moins important à celle de l'alpha tocophérol, qui présente une IC₅₀ égale à 13,02 µg/ml.

Marrouani et ces collaborateurs (Marrouani et al., 2017) ont évalué l'activité antioxydante de DPPH scavenging de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de l'*Aristolochia* et ils ont trouvé une IC₅₀ égale à 55,04µg/ml.

B. Activité antiradicalaire ABTS^{•+}

La figure montre que le BHA utilisé comme standards présente l'IC₅₀ la plus faible de l'ordre de 1,81±0,10 µg/ml respectivement, suivi par l'extrait éthyle acétate qui possède une IC₅₀ égale à 52,47±7,80 µg/ml. Cependant, les autres extraits : Méthanolique, butanolique, dichlorométhane possèdent une faible activité antioxydante avec des IC₅₀ égale à 182,82±2,43 et 160,58±5,96 et enfin 268,95±7,80 µg/ml respectivement.

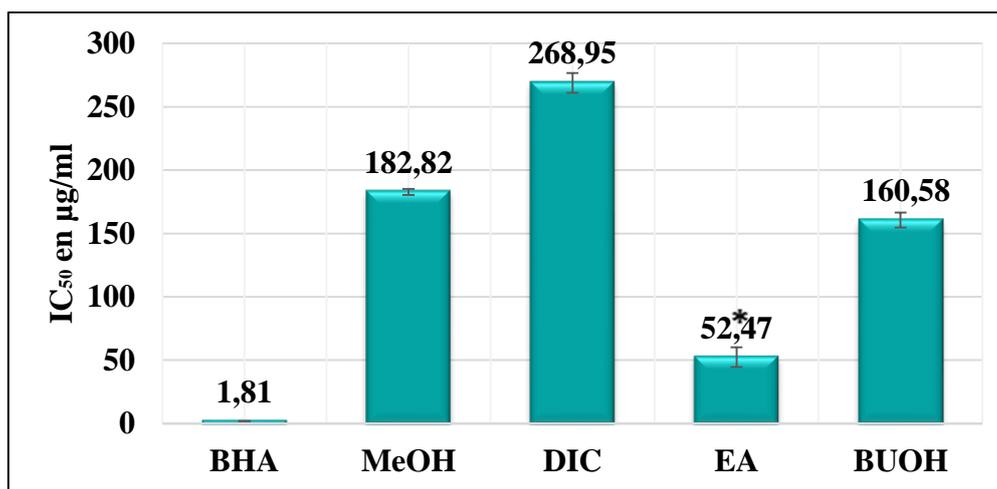


Figure 31 : IC₅₀ pour l'activité antiradicalaire ABTS⁺ de l'*Aristolochia* exprimé en µg/ml (* $p > 0.05$).

L'activité de l'extrait éthyle acétate pourrait être expliquée par sa richesse en composé phénolique par rapport aux autres extraits.

L'activité antioxydante de l'extrait EA est trois fois supérieure à celle obtenue par Shrishailappa et ses collaborateurs (**Shrishailappa et al., 2005**) dont l'IC₅₀ égale à 17,08 µg/ml pour leur étude de la plante *Aristolochia bracteolata* (Aristolochiaceae), également l'extrait méthanolique avait présenté une activité antiradicalaire avec une IC₅₀ égale à 122 µg/ml.

C. Le pouvoir antioxydant réducteur

Les résultats de test de pouvoir réducteur ont montré que tous les extraits présentent une IC₅₀ supérieurs à 800 µg/ml.

D. Le Test CUPRAC

A partir de la figure qui présente les valeurs des A_{0,5} on peut noter que tous les extraits montrent un faible pouvoir réducteur du cuivre, et que les résultats obtenus sont loin d'être comparés au standard (BHT).

Toutefois, l'extrait butanolique présente la plus forte activité réductrice de cuivre avec une A_{0,5} égale à 89,41±4,26µg/ml, l'extrait éthyle acétate et dichlorométhane ont des activités comparables 124,54±6,90 et 112,14±2,03 µg/ml respectivement ; tandis que l'extrait méthanolique avec une A_{0,5} de 537,85±18,59 présente une faible activité par rapport aux autres extraits.

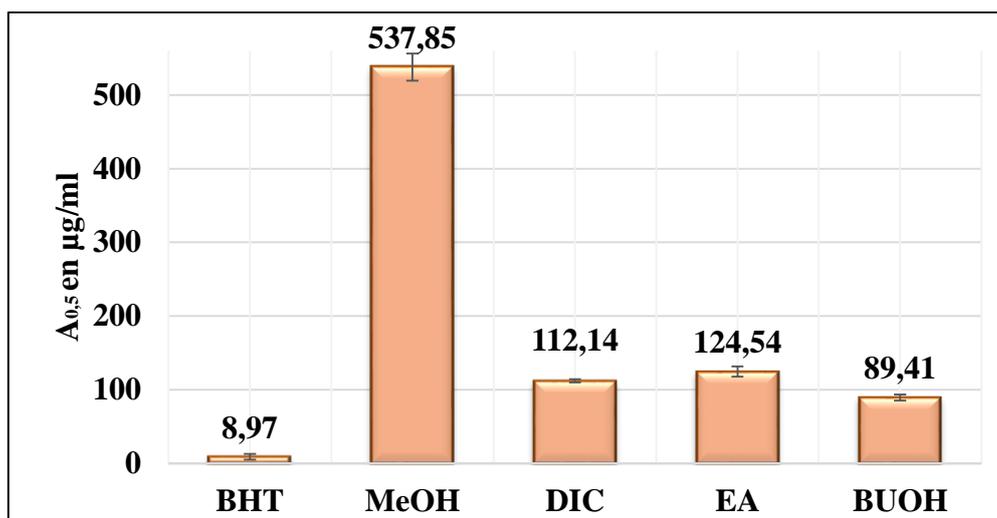


Figure 32 : A_{0,5} pour l'activité CUPRAC de *Aristolochia* exprimé en µg/ml.

E. Piégeage du radical superoxyde par la méthode DMSO-alkalin

D'après les résultats indiqués dans la figure, on constate que les extraits dichlorométhane et butanolique présentent les activités de piégeage de radicales superoxyde les plus élevées avec des IC₅₀ égales à 62,85±7,29 et 63,62±7,89 µg/ml respectivement suivies par l'extrait éthyle acétate qui présente une IC₅₀ de l'ordre de 70,77±3,00 µg/ml, tandis que l'extrait méthanolique montre l'activité de piégeage la plus faible avec une IC₅₀ égale à 276,39±12,99 µg/ml. L'activité de piégeage de radical superoxyde de l'extrait éthyle acétate de notre espèce est supérieure à celle de *Aristolochia krysagathra* qui égale à 21,07 µg/ml (Jagadeeswari et al., 2014).

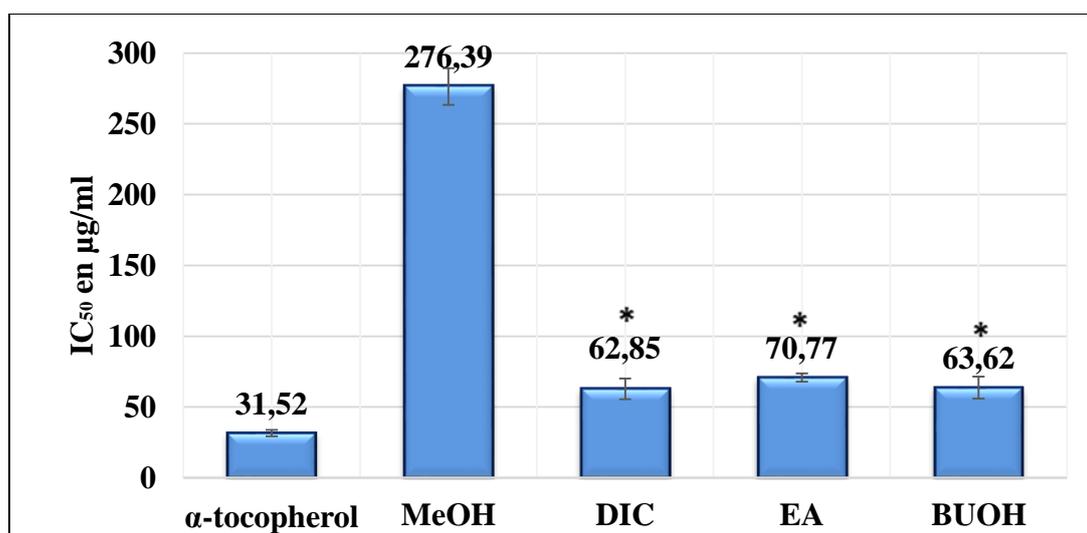


Figure 33 : IC₅₀ pour l'activité superoxyde DMSO alcalin de *Aristolochia* exprimé en µg/ml (* p>0.05).

F. Capacité de chélation du fer

A partir de la figure, on peut noter que l'extrait butanolique, éthyle acétate ainsi que dichlorométhane interfèrent avec la formation du complexe (fer-ferrozine) suggérant une activité chélatrice du fer.

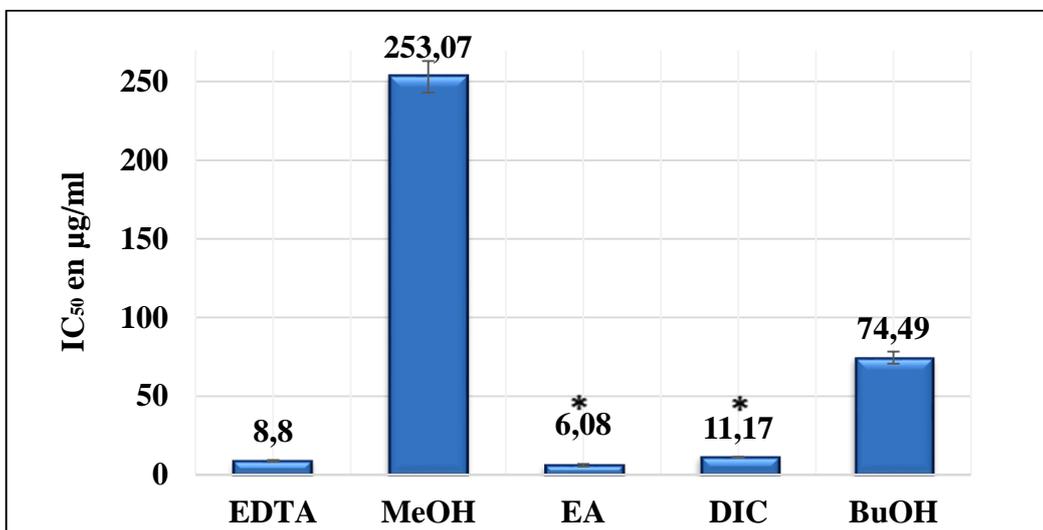


Figure 34 : IC₅₀ pour l'activité chélatante de *Aristolochia* exprimé en µg/ml (* $p > 0.05$).

La valeur d'IC₅₀ obtenue avec l'extrait éthyle acétate est très faible (6.08 ± 0.85 µg/ml), cette valeur est inférieure à celle du standard (EDTA), suivi par l'extrait dichlorométhane avec une IC₅₀ égale à $11,17 \pm 0,25$ µg/ml, cependant l'extrait méthanolique possède un très faible effet chélateur de fer avec une IC₅₀ de l'ordre de $253,07 \pm 10,03$ µg/ml.

La différence entre les extraits reflète simplement la nature complexe des extraits contenant un ou plusieurs chélateurs ayant des affinités différentes pour le fer en concurrence avec la ferrozine.

G. Test de blanchissement de bêta-carotène

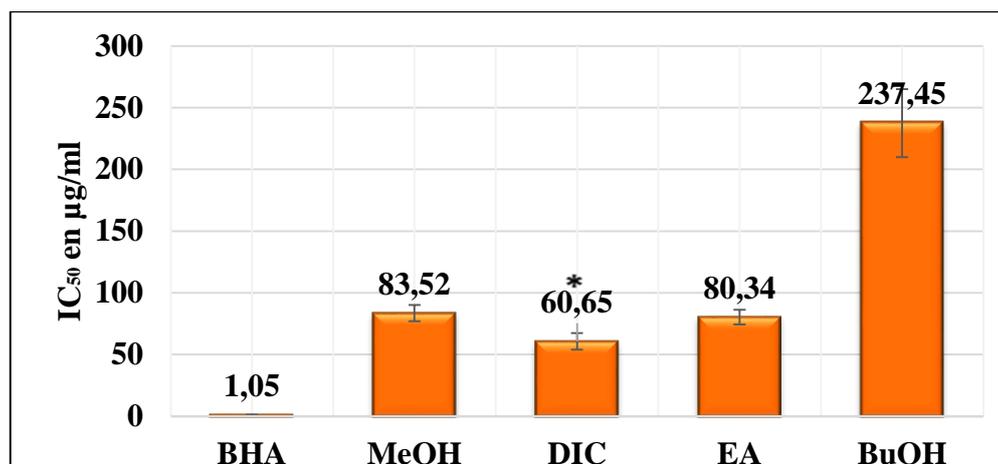


Figure 35 : IC₅₀ pour le test de blanchissement de bêta-carotène de *l'Aristolochia* exprimé en µg/ml (* $p > 0.05$).

L'extrait EA montre la plus forte activité. Malgré cela, il demeure moins actif que le standard (BHT).

Sur une échelle plus faible l'extrait dichlorométhane est plus actif que l'extrait méthanolique et butanolique avec des IC₅₀ égale à $60,65 \pm 6,8$ et $83,52 \pm 6,62$ et $237,45 \pm 27,55$ µg/ml respectivement. Les résultats restent loin d'être comparé au standard. Ce résultat est probablement expliqué par la grande spécialité de ce test pour les composés apolaires donc lipophiles (Gachkar et al., 2007). Ainsi l'extrait qui contient la quantité la plus élevée en polyphénols ou d'autre composé hydrophobe est le plus actif.

A la lumière de ces résultats, l'extrait éthyle acétate et dichlorométhane ont un effet inhibiteur contre la peroxydation lipidique (contre le blanchissement du bêta-carotène).

III.3. Les activités inhibitrices des enzymes

L'inhibition des enzymes a attiré l'attention des scientifiques biomédicaux les deux dernières décennies, une variété d'inhibiteur a été découverte et utilisé pour le contrôle de divers maladie (Raza shah et Soomro.,2012).

Dans ce contexte, nous avons étudié le potentiel inhibiteur de certains enzymes (tyrosinase, uréase, butyrylcholine ésterase, alpha-glucosidase et amylase) par des extraits des plantes (*Artemisia* et *Aristolochia*) dans le but de trouver ou d'identifier de nouveaux inhibiteurs, ce qui peut aider dans le traitement ou la prévention des certains maladies.

Les résultats de cette étude sont illustrés dans les histogrammes au-dessous et les valeurs d'IC₅₀ ont été calculées en utilisant le logiciel Origin 2018.

III.3.1. Les activités inhibitrices des enzymes d'*Artemisia*

III.3.1.1. L'activité inhibitrice de tyrosinase

La tyrosinase catalyse l'hydroxylation de la tyrosine en 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) puis l'oxydation de la DOPA en DOPA quinone, ce dernier conduit à la formation de la mélanine, c'est un pigment qui joue un rôle primordial dans la protection des organismes contre les propagations des radicaux libres et les effets néfastes des rayonnements. Mais la synthèse excessive de ces pigments (hyperpigmentation) constitue un risque important pour l'organisme. Parmi les stratégies de dépigmentation peuvent être envisagées l'inhibition de tyrosinase (Steck, 2003 ; Haudecoeur, 2006).

La présente étude portée sur l'application des extraits végétaux pour la détermination de l'activité inhibitrice de la tyrosinase, qui sert de cible utile dans le traitement de l'hyperpigmentation. Cette activité a été déterminée par une méthode spectrophotométrique telle que décrite par **chan et al., (2008)**, l'acide kojique a été utilisé comme contrôle positif.

Le potentiel inhibiteur de tyrosinase d'extrait d'*A. campestris L* a été évalué et les résultats sont représentés dans la (Figure 36).

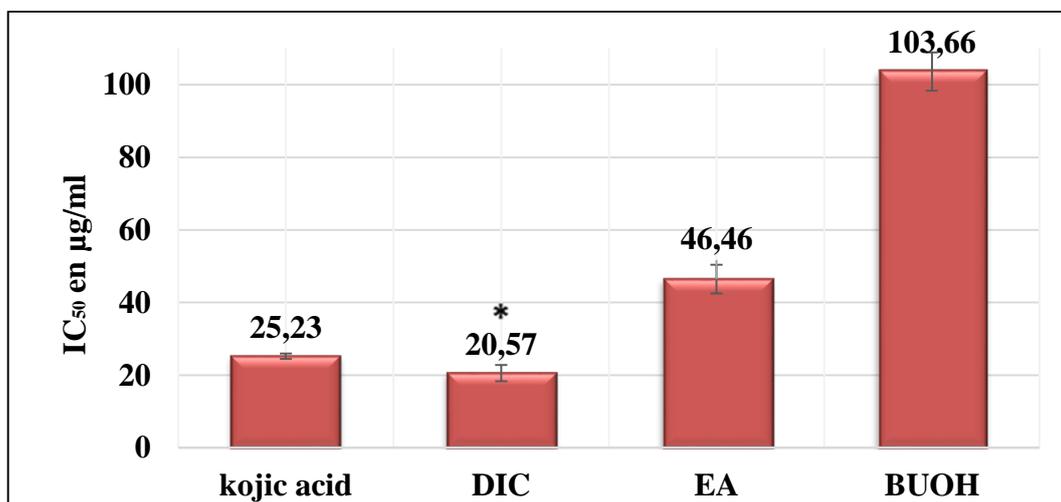


Figure 36 : IC₅₀ pour l'activité inhibitrice de tyrosinase de l'*Artemisia* exprimé en µg/ml (* $p > 0.05$).

Nous avons dosé l'activité inhibitrice de tyrosinase en utilisant quatre extraits (MeOH, DIC, EA, BuOH) sauf l'extrait MeOH qui nous n'a donné aucun résultat.

Tous les autres extraits étaient actifs en particulier l'extrait DIC qui est le plus puissant contre la tyrosinase qui révèle une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 20,57±2,22 µg/ml, ceci est similaires à celle du standard (IC₅₀ égale 25,23±0,78 µg/ml). Suivi par l'extrait EA avec une IC₅₀ de 46,46±3,95 µg/ml qui a un pouvoir inhibiteur puissant mais moins actif que l'extrait DIC et le control positif.

Tandis que, l'extrait BuOH présente une activité faible et incomparable à celle affiché par le control positif et les autres extraits.

III.3.1.2. L'activité inhibitrice d'uréase

L'uréase bactérienne a été rapporté comme un facteur de virulence. c'est une enzyme contiens de nickel qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et en carbamate, ce dernier se décompose rapidement et spontanément produisent une seconde molécule d'ammoniac, ces réaction peuvent provoqué une augmentation significative du pH qui est responsable des effets néfastes sur la santé humain, c'est la raison pour laquelle les inhibiteurs de l'uréase peuvent jouer un rôle vitale pour contrer son effet négatif dans l'organisme vivant contre plusieurs infection grave causé par la sécrétion de cette enzyme par *l'Helicobacter pylori* qui comprend des syndromes gastrique et urinaire et peut conduire à un cancer de l'estomac. (Murtaza et al.,2011 ; Raza shah et Soomro,2012 ; Khan et al.,2014).

Dans cette étude nous avons testé l'activité inhibitrice de l'uréase. La (figure 37) présente l'IC₅₀ des quatre extraits d'*Artemisia* comparé à celle de contrôle positif (Thiourea).

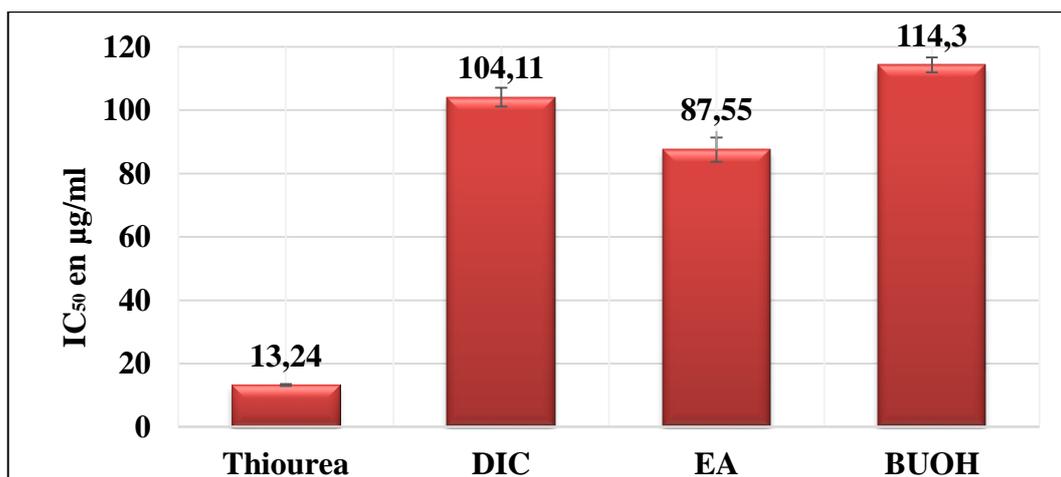


Figure 37 : IC₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'uréase de l'*Artemisia* exprimé en µg /ml

Dans cette étude nous avons testé les quatre extraits d'*Artemisia*, sauf l'extrait MeOH qui n'a pas donné un résultat.

D'après la figure au-dessus on peut noter que les extraits DIC, EA et BuOH montre une faible activité inhibitrice de l'uréase qui présente les valeurs des IC_{50} de l'ordre de $104,11 \pm 3,00$ et $87,55 \pm 3,83$ et $114,3 \pm 2,35$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement, ces derniers sont loin d'être comparé au standard.

III.3.1.3. L'activité inhibitrice de la butyrylcholinésterase

La Butyrylcholinésterase également connu sous le nom pseudo- cholinésterase ou plasma cholinésterase est une enzyme cholinésterase qui hydrolyse de différents esters de choline, elle peut être augmentée dans certaines pathologies neuropsychiatriques telles que la dépression, l'autisme et la schizophrénie. L'apparition des troubles associés à cette maladie est liée à la baisse des taux d'acétylcholine. Les inhibiteurs de la butyrylcholinésterase sont largement utilisés dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer. Les inhibiteurs de la butyrylcholinésterase sont largement utilisés dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer Ils sont prometteurs comme nouvelle stratégie ou dans le cerveau la butyrylcholinésterase est élevée et l'inhibent fortement.

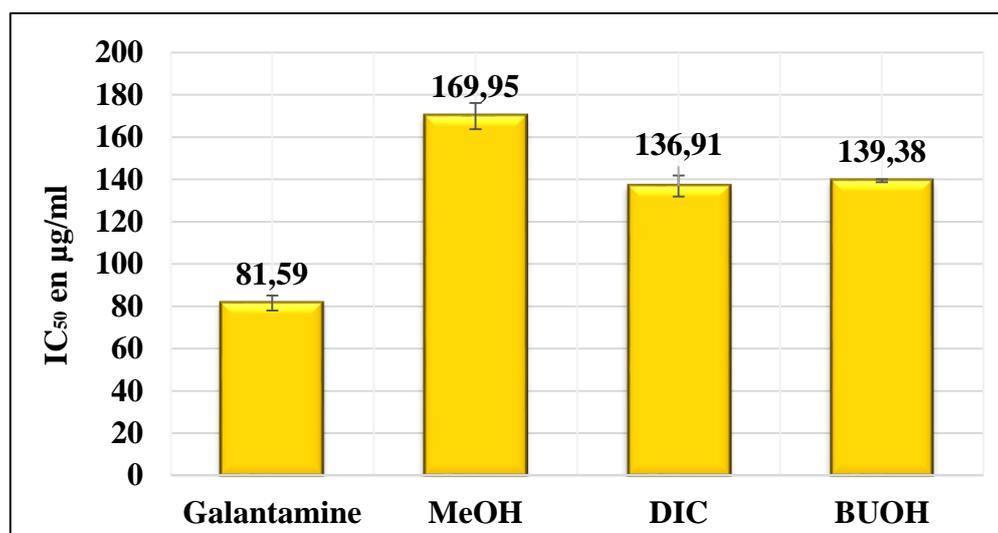


Figure 38 : IC_{50} pour l'activité inhibitrice de la butyrylcholinésterase de l'*Artemisia* exprimé en $\mu\text{g/ml}$

A partir de la (figure 37) qui présente les valeurs des IC_{50} on constate que tous les extraits MeOH, DIC, BuOH montrent une faible activité inhibitrice de la butyrylcholinésterase ($169,95 \pm 6,24$ et $136,91 \pm 5,00$ et $139,38 \pm 0,69$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement) et que les résultats obtenus sont loin d'être comparé au standard galantamine ($81,59 \pm 3,54$ $\mu\text{g/ml}$). Alors que l'extrait EA à montrer une IC_{50} supérieur à $200 \mu\text{g/ml}$.

III.3.1.4. L'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et alpha amylase

L'alpha glucosidase et l'alpha amylase sont des enzymes qui catalysent la dégradation des sucres complexes en sucre simple absorbable.

A- L'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase

Dans la présente étude, nous avons testé la capacité inhibitrice des quatre extraits (EA, DIC, BuOH et MeOH) d'*Artemisia*. La **Figure 39** présente l'IC₅₀ des extraits.

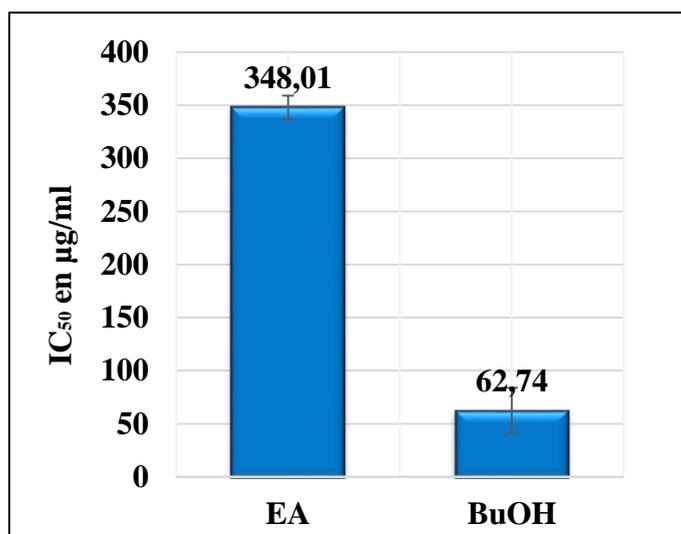


Figure 39 : IC₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase de l'*Artemisia* exprimé en µg /ml

Dans cette étude, nous avons testé les quatre extraits d'*Artemisia* mais seulement l'extrait éthyle acétate et butanolique ont présenté des IC₅₀ présenté sur la **figure 39**. L'extrait butanolique possède une activité inhibitrice de l'alpha glucosidase plus importante à celle du l'éthyle acétate avec des IC₅₀ égale à 62.74±21,13 et 348,01±10,89 µg /ml. Les autres extraits MeOH et DIC ont alors une IC₅₀ supérieure à 1000 µg/ml.

B- L'activité inhibitrice de l'alpha amylase

Dans cette étude nous avons testé les quatre extraits d'*Artemisia* mais seul l'extrait MeOH a donné un résultat avec une IC₅₀ de 250,34±7.53 µg/ml. Les autres extraits DIC, EA et BuOH ont alors une IC₅₀ supérieure à 400 µg/ml.

III.3.2. Les Activités inhibitrices des enzymes d'*Aristolochia*

III.3.2.1. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase

Dans cette étude, nous avons testé les quatre extraits d'*Aristolochia* mais seul l'extrait dichlorométhane et butanolique nous ont donné des résultats qui sont représenté sur la figure au-dessous. Ces deux extraits possèdent une activité anti butyrylcholinestérase importante et une IC_{50} de l'ordre de $38,19 \pm 1,90$ et $79,2 \pm 5,00$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement qui est inférieur à celle du standard ($81,59 \pm 3,54$ $\mu\text{g/ml}$).

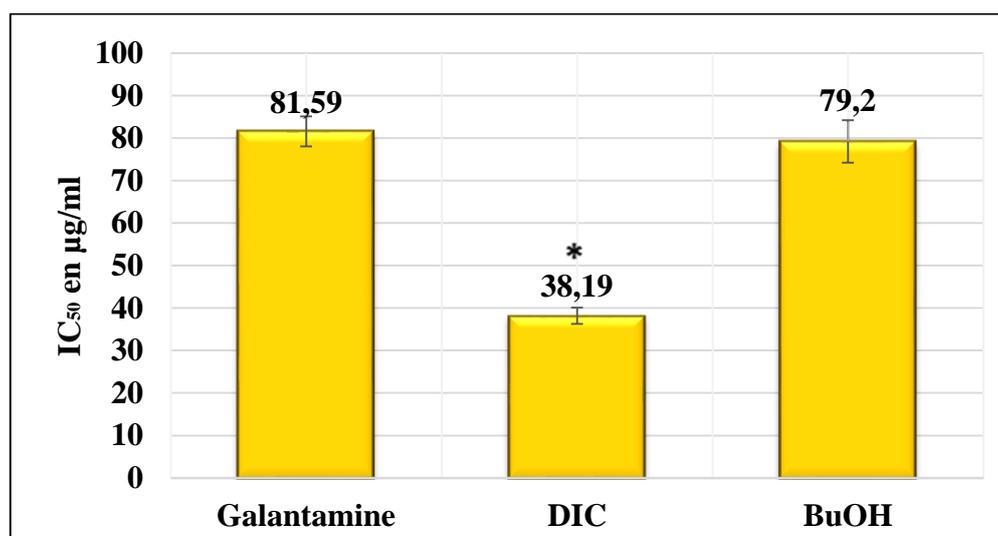


Figure 40 : IC_{50} pour l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase de *Aristolochia* exprimé en $\mu\text{g/ml}$ (* $p > 0,05$).

III.3.2.2. L'activité inhibitrice de l'alpha amylase

Dans cette étude nous avons testé les quatre extraits d'*Aristolochia* mais seulement l'extrait DIC et EA ont donné un IC_{50} représenté sur la **Figure 40**.

L'extrait DIC montre une capacité inhibitrice supérieur à celle de l'extrait EA avec IC_{50} égale à $265 \pm 5,06$ et $320,75 \pm 7,29$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement. Les autres extraits MeOH et BuOH ont une IC_{50} supérieure à 400 $\mu\text{g/ml}$.

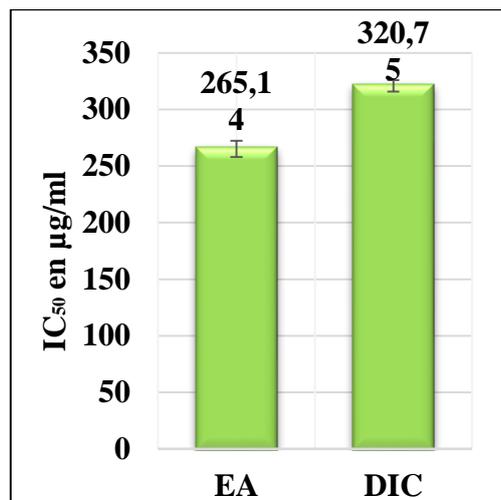


Figure 41 : IC₅₀ pour l'activité inhibitrice de l'alpha amylase de l'Aristolochia exprimé en µg /ml.

Conclusion

Depuis la nuit des temps, les hommes ont su développer l'utilisation thérapeutique des plantes pour guérir, ainsi pour prévenir les différentes maladies physiques ou mentales. De nos jours, les scientifiques ont confirmé qu'un grand nombre des plantes possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie et cosmétologie.

Comme plusieurs pays au monde, l'Algérie dispose d'une diversité exceptionnelle aux plantes qui sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner des divers maladies et infections, les tests *in vitro* sont nécessaires pour confirmer l'utilisation de ces espèces dans la pratique médicale.

Dans le présent travail, différents aspects de deux plantes (*Artemisia* et *Aristolochia*) ont été étudié : le dosages totaux (phénoliques et flavonoïdes), les activités antioxydantes et l'activité inhibitrice des enzymes des quatre extraits (Méthanolique, dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanolique) de ces plantes.

L'extraction de la partie aérienne d'*Artemisia* par différents solvants a permis d'obtenir une bonne teneur en composés phénoliques et flavonoïdes qui diffère d'un extrait à un autre. En parallèle l'activité antioxydante des différents extraits d'*Artemisia* et *Aristolochia* a été évalué par huit méthodes : le test blanchissement de β -carotène, la méthode de réduction de radical libre DPPH, ABTS, hydroxyle radicale et la superoxide DMSO alcaline et la capacité de chélater des métaux, le test Cuprac et la méthode de pouvoir réducteur.

Pour l'*Artemisia* la plus parts des tests ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle possède la capacité antioxydante la plus élevé. Cette dernière est justifié par une richesse en composé phénoliques. Ces derniers sont probablement responsables de son potentiel antioxydant. Alors que, dans la deuxième plante (*Aristolochia*) la meilleur capacité antioxydante a été observé dans les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle dans la plus parts des tests.

En outre, l'activité inhibitrice des enzymes a été déterminé par cinq tests basé sur l'inhibition des enzymes (tyrosinase, uréase, butyrylcholine estérase, alpha amylase et glucosidase). Les résultats indiquent que les deux extraits acétate d'éthyle et dichlorométhane possèdent la meilleure capacité inhibitrice des enzymes cités précédemment pour les deux plantes.

L'ensemble de ces résultats expliquent les propriétés pharmacologiques d'*Artemisia* et d'*Aristolochia* et fournies une base scientifique à l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle algérienne.

Les résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydantes et inhibitrices des enzymes des extraits de ces deux plantes.

Références bibliographiques

-A-

- Adhikari a., Devotka h.p., Takano k., Nakane t., Basnet p., Skalko-basnet N. (2008).** Screening of Nepalese crude drugs traditionally used to treat hyperpigmentation: *in vitro* tyrosinase inhibition. *Int. J. Cosm. Sci.*(30):353-360.
- Akrout A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia* and *Thymelaea hirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.
- Algeria native plants. (2012).** [Consulté le 27/05/2018]. Disponible à partir de : <http://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-inventaire.php?page=13>.
- Amtul Z ., Atta Ur. R ., Siddiqui R.A ., Choudhary M. I. (2002).** Chemistry and mechanism of urease inhibition. *Current Medicinal Chemistry*, (9): 1323-1348.
- Aniya Y., Shimabukuro M., Shimoji M., Kohatsu M., Gyamfi M.A., and Miyagi C. (2000).** Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia* from the Okinawa Islands. *J. Biol. Pharm. Bull.* 23 (3):309–312.
- Apak R., Guclu` K., Ozyurek M., & Karademir S. E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (52): 7970–7981.
- APGIII. (2009).** an update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Bot. J. Linn. Soc.*, 161(2):105–121.
- Ardekani M. R. S., Rahimi R., Javadi B., Abdi L., Khanavi M. (2011).** Relationship between Temperaments of Medicinal plants and their Major Chemical Compounds *journal of traditional Chinese Medicine.* 31: 27-31.
- Aroca P., Urabe K., Kobayashi T., Tsukamoto K., Hearing V.J. (1993).** Melanin biosynthesis patterns following hormonal stimulation. *J. Biol. Chem.*, 268 (34), 25650-25655.
- Auclair C, Voisin E. (1985).** Nitroblue-tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, Ed.
- Azzi R, Djaziri R, Lahfa F, sekkal F.Z, Benmehdi H, Belkacem N. (2012).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the north western and south western Algeria. *Journal of medicinal plants research.* 6: 2041-2050.

-B-

- Baba aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, first Ed. librairie moderne, Rouïba, Algérie.
- Bakchiche B, Gherib A. (2014).** Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie [Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia]. *Int J Innov Appl Stud.*9(1): 167-172.
- Bekdouche F., derrid J A., Krouchi F. (2008).** Evaluation après feu de la composition floristique de la subéraie de Mizrana (Tizi-Ouzou, Algérie). *Science and technologie C.* (28) : 19-29.
- Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F and Aouni M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
- Benzakour G., Benkrane N., Amrani M., Oudghiri M. (2011).** Immunostimulatory potential of *Aristolochia* L. induced toxicity on liver, intestine and kidney in mice. *Journal of toxicology and Environmental Health Science.* (3):214-222.
- Bhosale U. P., Hallale B. V., Asian Journal of Plant Science and Research. (2011).** 1(96).
- Biotech-ecolo. (2018).** [Consulté le 28/05/2018]. Disponible à partir de : <http://www.biotech-ecolo.net/antioxydants.html>.
- Blois M.S., (1958).** Antioxydant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181) :1119-1200.
- Boizot N., and Charpentier.J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra.* pp79-82.
- Brand William W., cuvelier M.E., and Berset C. (1995).** use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25-30.
- Bremer K. (1994).** Asteraceae, Cladistics and Classification. (TimberPress), pp. 752, Portland, Oregon.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris : 227-310-312-313-314.494.

-C-

- Castro I et Freeman B.A. (2001).** Reactive oxygen species in human health and diseases. *Nutrition.*170 : 161-165.
- Chakrabarti R., & Rajagopalan R., Current Science. (2002).** 83 (12): 1533-1538.

Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong L.F., Lianto F.S., Wong S.K., Lim K.K., Joe C.E., Lim T.Y.(2008).Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species.Food chem109 : 477-483.

Cherif H S., Saidi F., Boutoumi H., Rouibi A., Chaouia C. (2009). Identification et caractérisation de quelque composé chimique chez *Aristolochia* L.Agricultura-Sttinta Si practica.3(4) : 76-82.

Chevallier. (2001). Encyclopedia des plantes médicinales Edit, LAROUSE. Paris : 16.

Chitme H.R., Malipatil M., Chandrashekhara V. M., Prashant P. M. (2010). Antiallergic activity of *Aristolochia Bracteolata* lank in animal model. *Indian Journal of Experimental biology*. 48: 46-52.

-D-

David A., Hervé M. (1994). Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse : 428.

Decker E. A., & Welch B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38:674–677.

Delacourte A., Flament S., Dibe E. M., Hublau P., Sablonnière B., Hemon B., Sherrer V. & Defosse A. (1990). Pathological proteins Tau 64 and 69 are specifically expressed in the somatodendritic domain of the degenerating cortical neurons during Alzheimer's disease.Demonstration with a panel of antibodies against Tau proteins. *Acta Neuropathologica*, 80:111-117.

Delattre J., Beaudoux J.-L. et Bonnefont- Rousselot D. (2005a). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques : 1- 23.

Delattre J., Beaudoux J.-L. et Bonnefont- Rousselot D. (2005b). Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques : 87-108.

Devesa S. S., blot W. J and fraumeni jf. (1998). Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United State. *J. cancer*. 83: 2049-2053.

Dib I, Angenol L, Mihamou A, Ziyat A et Tits M (2016). Artemisia L: Ethnomedicinal phytochemical and pharmacological review.

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*.97: 654-660.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Maamri S., Djireb F., Stocher P. (2006). Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*.21:719-726.

Djidel S, Khennouf S. (2014). Radical scavenging, reducing power, lipid peroxidation inhibition and chelating properties of extracts from *Artemisia L.* Aerial parts. *Annu res rev boil.*4:1691-1702.

Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C. (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia L.* from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514.

Dunn, B.E.; Cohen, H.; Blaser, M.J. (1997). *Helicobacter pylori.* *Clin. Microbiol. Rev.*, 10 : 720–741. Dunod.Paris. 254

Duyckaerts C., Colle M. A., Delatour B. & Hauw J.-J. (2002). Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer. In C. Duyckaerts & F. Pasquier (Eds.), *Démences*, 127-144. Paris : Doin.

-E-

El Rhaffari L., Hammani k., Benlyas M., Zaid A. (2002). Traitement de la leishmaniose cutanée par la phytothérapie au Tafilalet. *Biologie et santé.* 1 :45-54.

El-Hilaly J., Hmammouchi M., Lyoussi B. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of Ethnopharmacology.* 86: 149-158.

Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V. & Featherstone R. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.* 7:88-95.

Enacademic. Aristolochiales. (2010). [Consulté le 25/05/2018]. Disponible à partir de :
<http://enacademic.com/dic.nsf/enwiki/153947>.

-F-

Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* : 108-111.

-G-

Gachkar L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rose marinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102: 898-904.

Gausson H., Leroy F. (1982). Précis de botanique (Végétaux supérieurs), 2ème édition : 424-426.

Gao H, lamusta J, Zhang W.F, Salmonsén R, liu Y, Oconel E, Evan J. E, Burstein S, Chen J.J. (2011). Tumor cell selective cytotoxicity and apoptosis introduction by an Herbal

preparative from *brucea javanica*. North American journal of medicine and science. 4: 62-66.

Gonz'alez-Tejero M. R., Casares-porcel M., S'anchez-Rojas C. P., Ramiro-Guti'arrez J. M., Molero-Mesa J., Pieroni A., Giusti M. E., Censorii E., de pasquale C., Della A., Parasheva-Hadijchambi D., Hadjichambis A., Houmani Z., EL-Demerdash M., EL-Zayat M., Hmamouchi M., El Johrig S., (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 341-357.

Gülçin I, Küfreviöglu Ö. I, Oktay M, Büyükokuroglu M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 205-215.

-H-

Ha S.K.; KOKETSU M.; LEE K.; CHOI S.Y.; PARK J.H.; ISHIHARA H.; KIM S.Y. (2005). Inhibition of tyrosinase activity by *N,N*-unsubstituted selenourea derivatives. *Biol. Pharm. Bull.*, (28):838-840.

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C, Chapelle J.P. (2007). Le stress oxidant, *Rev Med Liege*, 62(10): 628-638.

Halimi A. (2014). Les plantes médicinales en Algérie. Ed Berti, Algérie : 201-202. (En Arabe).

Hans W. K. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. : 6-7.

Harput U. Ş, Genç Y, Khan N et Saracoglu I. (2011). Radical Scavenging Effects of Different *Veronica* Species. *Rec.Nat.Prod* 5(2):100-107.

Haudecoeur R. (2006). Pharmacologie chimie des aurones pour la modulation d'enzymes. Thèse (Docteur en chimie-biologie Genève). Partie4.

Hearing V.J et Jimenez M., (1989). Analysis of mammalian pigmentation at the molecular level. *Pig Cel Res* ,2:75-85.

Henrich CJ., Brooks AD., Booth NL., Lowery EM., Pompei RJ., McMahon JB., Sayers TJ. (2009). Effets of cucurbitacins on cellmorphology are associatedwithsensitization of renalcarcinomacells to TRAIL-inducedapoptosis. *Apoptosis*. 17 :79-89.

Hong G., Huang Y- N., Gao B., Xu P.Y., Chika I., et Kawabata J. (2008). Glucosidase inhibitory effect bu the flower buds of *Tussilofarfara*L,*Journal of Food chemistry* : 1195 -1201.

Huang D., Ou B and Prior R L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistiy*, 53:1841-1856.

-J-

Quevauvilliers J, Somogyi A, Fingerhut A. (2007). Dictionnaire médical de poche. Elsevier Masson, 524 : 153.

Jagadeeswari P., Nishanthini A., Muthukumarasamy S., Mohan V. R. (2014). Evaluation of antioxidant activity of *Aristolochia Krysagathra* (Aristolochiaceae). An important medicinal Herb. *International journal of pharmacy*, 4 (1):410-416.

-K-

Kaiser S., Di Mascio P, Murphy M.E et Sies H. (1990). Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. *Archives of Biochemistry and Biophysic.*277(1) : 101-108

Kamiri A. (2007). Stratégies thérapeutique dans la récurrence de la maladie ulcéreuse à *Helicobacter pylori*. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université cheikh anta diop Dakar.

Kaur C and Kapoor H.C. (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Food. Sci.Technol.* **37**: 153-161.

Khan M.A., Khan H., Tariq S.A et Pervez S. (2014). Urease Inhibitory Activity of Aerial parts of *Artemisia Scoparia*: Exploration in an in vitro study.Hindawi publishing corporation.Ulcers.5P.

Khattaf A., Belloula N et Dridi S. (2016). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African journal of biotechnology* **15**(13): 524-530.

Kong Y. C., Chen D. S. (1996). Elucidation of Islamic drugs in Hui Hui Yao Fang. A linguistic and pharmaceutical approach. *Journal of Ethnopharmacology.* 54:58-102.

Kouame J.A.(2009). Etudes des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *GUIERA SENEGALENSIS* J. F. Gmel (Combretaceae).Thèse (docteur en pharmacie au Burkina Faso).Chapitre 4(p100).

Kumar V., Poonam, Prasad A. K., Parmar V.S. (2003). Naturally occurring aristolactams aristolochic acids and dioxoaporphirines and their biological activities. *Nat Prod Rep*, 20:565-583.

Kunchandy and Rao M.N.A. (1990). Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm.* 58:237–240.

Kundan S., and Anupam S. (2010). The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.*pp:1-9.

Kusters J. G ; Van Vliet A.H .(2006). -“ pathogenesis of helicobacter pylori infection.”Clin Microbiol Rev19 (3):449-490.

Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007). Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia ssp.caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. J. Plant. Biology. 50 (3): 358-361.

-L-

Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M., Hseini S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaer (Maroc occidental). Lejeunia. 186 : 1-26.

Leopoldini M., Russo N et Toscano M. (2011). "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry*. **125**(2): 288-306.

LIN V.C., DING H., KUO S., CHIN L., WU J., CHANG T. (2011). Evaluation of *in vitro* and *in vivo* depigmenting activity of raspberry ketone from *Rheum officinale*. *Int. J. Mol. Sci.*, 12(8):4819-4835.

-M-

Magnoliides C. (2006). Piperales : Aristolochiaceae, in Guia de consultas Diversidad vegetal. Ed. FACENA (UNNE). Argentina.

Majdouline A. (2017). Toxicité de l'Aristolochia (Bereztém). [consulté le 25/05/2018] disponible à partir de : <http://www.pharmapresse.net/content/toxicit%C3%A9-de-1%E2%80%99aristolochia-longa-berezt%C3%A9m>.

Marco G.J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 45: 594–598.

Marrouani N., Belhattab R., Salhi F. (2017). Evaluation of the biological activity of *Aristolochia L* extract. *International journal pharmaceutical science and research*. (5): 1978-1992.

Martini M-C. (2003). Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier, Paris, 117-149.

Masella R. R., Di Benedetto R., Vari C., Filesi et Giovannini C. (2005). "Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16(10) : 577-586.

Massoud G., Gauthier S. (2010). Update on the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *Curr. Neuropharmacol*. 8:69–80.

Megdiche-Ksouri W, Trabelsi N, Mkadmini K, Bourgou S, Noumi A, Snoussi M. (2015). *Artemisia* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Ind Crops Prod*. 63:104-113.

- Megh Raj B, Nilubon J. A, GAO H, Jun K. (2008).** Glucosidase and α - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia Ciliata*, Haw.), *Journal of Food chemistry*:247 - 252.
- Mégraud F., Lehn N., Lind T., Bayerdorffer E., O'morain C., Spiller R., Unge P., van Zanten S.V.,Wrangstadh M., Burman C.F.(1999).** Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: The MACH 2 study. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43: 2747–2752.
- Memmi A., Sansa G., Rjeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z., and Fekhih A. (2007).** Use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis.* 84 (1-4): 49-55.
- Mesli-Bestaoul K., Bouazza M., Godron M., (2007).** Etude des groupements végétaux des Monts de Tlemcen et de leurs faciès de dégradation par deux approches : les profils écologique et les liaisons interspécifiques (Orani-Algérie). *Science et technologie C.* 25 :71-78.
- Michel Démarchez. (2012).** radicaux hydroxyles /radical hydroxyle. [Consulté le 28/05/2018]. Disponible à partir de : <https://biologiedelapeau.fr/spip.php?mot136>.
- Miguel M. G. (2010):** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Iv molecules.* 15:9252-9287.
- Mirjalili M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S E., and Sonboli A. (2007).** Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 19 : 326–329.
- Mohammedi Z (2013).** Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants. *Edilivre* : 3-6.
- Mucciarelli M and Maffei M. (2002).** *Artemisia: Introduction to the Genus* Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. : 10-16.
- Mulder C.(2003).** *Aristolochiaceae. Review of palaeobotany and palynology.*123:47-55.
- Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43:992–999.
- Murtaza G., Badshah A., Said M., Khan H., Khan A., Khan S., Siddiq S., Choudhary M.I., Boudreau J et Fontaine F-G. (2011).** Urease inhibition and anti-leishanial assay of substituted benzoylguanidines and their copper (II) complexes. *Journal the Royal Society of Chemistry.*40:9202-9211.

-N-

- Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3 : 79–84.
- Nardi E. (2009).** Aristolochiaceae.- In : Euro + Med plant base- the information resource for Euro- Mediterranean plant diversity *Aristolochia* L. Accessed through. Euro + Med plant base.
- Neyra O., Vaya J., Musa R., Izrael S., Ben-Arie R., Tamir S.(2003).** Glabrene and Isoliquiritigenine as Tyrosinase Inhibitors from Licorice Roots. *J. Agric. Food Chem.*, 51:1201-1207.
- Nylander K., Bourdon J-C., Bray S. E., Gibbs N. K., Kay R., Hall P. A. (2000).** Transcriptional activation of tyrosinase and TRP-I by the p53 links UV irradiation to the protective tanning response. *J. Pathol.* 190:39-46.

-O-

- Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44 :307–315.
- Ozenda P. (1983).** Flore du Sahara Ed : éditions du centre national de la recherche scientifique -Paris- 441p.
- Özyurek M, Güçlü K et Apak R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement (2010).** *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 30(4):652-664.
- Özyürek M., Güçlü K., Tütem E., Kevser Sözgen B., Erol E., S.Esin çelik., Baki S., Leyla Y., Karaman S., Apak R. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology, *CRITICAL REVIEW*, 3 :2439.

-P-

- Packer L., Kraemer K et Rimbach G. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition.* 17(10) : 888-895.
- Patry-Morel C. (2006).** *Maladie d'Alzheimer et troubles apparentés : rééducation, théorie et pratique.* Marseille : Solal.
- Pavela R. (2009).** Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *J. Parasitol Res.* 105 : 887–892.
- Pincemail J., Defraigne J.O. (2004).** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio- vasculaire. Belgique.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4, (5).

Pohanka M. (2012). Acetylcholinesterase inhibitors: A patent review (2008–present). *Expert Opin. Ther. Pat.* 22:871–886.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001). Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.

Prota G. (1993). Regulatory mechanism of melanogenesis : beyond the tyrosinase concept. *J. Invest. Dermatol.*, 100:156-161.

-Q-

Quelle est cette plante. (2018). [Consulté le 25/05/2018]. Disponible à partir de : <http://www.quelleestcetteplante.fr/genres.php?genre=Aristolochia>.

Quezel et Santa. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p.

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.

-R-

Rao.M.N.A and Kunchandy. E (1990). Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm.* 58:237–240.

Raza Shah M., Soomro Z.H. (2012). Enzyme inhibition and bioapplication. In Tech. ISBN:978-953.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26:1231–1237.

Retsky K. L., Chen K, Zeind Z et Frei B. (1999). "Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation." *Free Rad Biology and Medicine.* 26(1-2): 90-98.

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed.

Riley P. A. (2003). Melanogenesis and melanoma. *Pigment cell Res.*, 16:548-552.

Rulika B., Wanke S., Nuss M., Neinhuis C. (2008). Pollination of aristolochia pallid Willd (Aristolochiaceae) in the Mediterranean. *Flora* ; 203 :175-184.

-S-

Sagebud. (2018). [Consulté le 27/05/2018]. Disponible à partir de : <http://sagebud.com/field-sagewort-artemisia-campestris>.

- Saidi F., Cherif H S., Lazouri H., Aid K., Rouibi A., Bele C., Matea C. (2009).** Determination of the lipid compounds of *Aristolochia* L. from Algeria. *Bulletin UASMV agriculture*. 66:17-23.
- Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A., (2010).** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *LAZAROA*. 31 :133-146.
- Samy RP., Thwin M. M., Stiles B. G., Bow H., Chow V. T. K., Gopalakrishnakon P. (2011).** Therapeutic potential of peptides with neutralizing ability towards the venom and toxin (Ca Tx-I) of *crotalus adamanteus*. *Current topics in medicinal Chemistry*. 11:2540-2555.
- Sanago R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- Sanchez Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of foods Sci Tech*. 8:121-137.
- Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia* against pufferfish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox. Pathol*.62: 601–605.
- Schroeter, H., Boyd C., Spencer J.P.E., Williams R.J., Cadenas E et Rice-Evans C. (2002).** MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging*. 23(5): 861-880.
- Science.mnhn. (2005).** [Consulté le 27/05/2018]. Disponible à partir de : <https://science.mnhn.fr/institution/mnhn/collection/p/item/p00089845>.
- Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol*.48: 1986–1993.
- Seo B., Yun J., Lee S., Kim M., Hwang K., Kim J., Min K. R., Kim Y., Moon D. (1999).** Barbarin as a new tyrosinase inhibitor from *Barbarea orthocerus*. *Planta Med*. 65:683-686.
- Shrishailappa B., Christy K. J., Chohsi K. K., Santosh K H D., Jagadish PC., Suresh B. (2005).** In vitro antioxidant activity of various extracts of *Aristolochia bracteolata* leaves, *JSS .India* 5 (4):316-321.
- Sinéad L., Thomas J., Smyth, Soler-Vila A., Stanton C., Paul Ross R. (2013).** The alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chemistry* 141: 2170–2176.

- Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- Smirnoff N, Cumbes QJ. (1989).** Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry.* 28:1057–1060.
- Sosa S., Balick M. J., Arvigo R., Esposito R. G., Pizza C., Altinier G., Tubaro A. (2002).** Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 81:211-215.
- Steck W. (2003).** Tyrosinase inhibitors from plants. Patent Application Publication. New York.
- Subramamian R., Asmawi AZ, Sadikun A, J Pol Biochem Soc, (2008).** 55:391-398.
- Suerbaum.S; Josenhans C. (1999).** Virulence factor of helicobacter pylori implications for vaccine development". *Mol Med Today* 5(1):32-39.
- Sussman J. L., Harel M., Frolow F., Oefner C., Goldman A., Toker L. & Silman I. (1991).** Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein, *Science* 253:872 - 879.

-T-

- Taleb A. (2003).** Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar. Document de DGF-MADR. Algérie.
- Taouil S., Benrebiha F.Z. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia Herba alba asso et Artemisia L de la region aride de djlf. *Agrobio.*ISSN:2170-1652.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A. (2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymussipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering.* 66:447-454.
- Thirugnanasampandan R., Mahendran G., Narmatha Bai V. (2008).** Antioxidant properties of some medicinal Aristolochiaceae species. *African journal of biotechnology.* 7:375-361.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur H. (2011).** Phytochemical screening and extraction: A review. *International pharmaceutica scientia.* 1: 98-106.
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103:816–822.
- Tortora G. J., Grabowsky S. R. (1994).** Le système tégumentaire. Principes d'anatomie et de physiologie. Editions de Boeck université, Paris, 2 ème Ed française.

-U-

Uttara B, Singh A.V, Zamboni P et Mahajan R.T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology* 7:65-74.

-V-

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M et Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160(1): 1-40.

Valnet J. (2011). Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes. 6^{ème} Ed Maloine, Paris, 712.

Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M. and Parkanyi C. (1995). GC-MS analysis of Artemisia herba-alba Asso essential oils from Algeria. *Dev. Food Sci.* 37A : 147- 205.

Vijayasaradhi S. (2003). The melanosome: Dark pigment granule shines bright light on vesicle biogenesis and more. *J. Invest. Dermatol.*, 121 (4):650-660.

-W-

WANG K.H., LIN R., HSU F.L., HUANG Y.H., CHANG H.C., HUANG C.Y., LEE M.H. (2006). Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. *J. Ethnopharmacol.* 106 : 353-359.

Wanke S. (2006). Evolution of the genus *Aristolochia*-systematics, molecular evolution and ecology. Dissertation, Technische Universität Dresden, Germany.

Wu T-S., Danu A. G., Su C. R., Kup P. C. (2004). Terpenoids of *Aristolochia* and their biological Activities. *Natural products Reports.* 21:594-624.

-Y-

Yang X., Yan F., Huang S., & Fu C. (2014). Antioxidant activities of fractions from longan pericarps. *Food Science and Technology* .34(2) : 341-345.

Yoshida H., Kajimoto G et Emura S. (1993). Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the American oil chemist's society.* 70(10) : 989-995.

-Z-

Zengin G et al. (2014). 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. *Industrial Crops and Products* 53 : 244-251.

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., Shan L. (2006). Effect of extraction solvent mixtures on Antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19) : 7277-7286.

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : BAHRI Safia

LAKHAL Meryem

Étude phytochimique et propriétés biologiques *in vitro* de deux plantes médicinales Algériennes de genres *Artemisia* et *Aristolochia*

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

Résumé

L'*Artemisia* et l'*Aristolochia* sont deux genres de plantes médicinales appartenant aux familles des Asteraceae et Aristolochiaceae respectivement, ces deux espèces connues sous le nom de « *T'gouft* » et « *Belrostom* » sont très répandue dans le sud algérien. Dans cette étude, le potentiel antioxydant et la capacité d'inhiber des enzymes impliquées dans plusieurs pathologies de ces deux plantes ont été étudié *in vitro*. Les teneurs des polyphénols des extraits bruts sont de 232,16 et 86.33 µg EAG/mg de poids sec et des flavonoïdes sont de 49,99 et 94.11 µg EQ/mg PS pour l'*Artemisia* et l'*Aristolochia* respectivement. Les différentes phases de l'*Artemisia*. ont montré de bonnes propriétés antioxydantes où la phase d'acétate d'éthyle avait les meilleurs IC₅₀ dans l'activité DPPH, pouvoir réducteur, CUPRAC, DMSO-alkalin et anti-uréase alors que la phase Dichlorométhane a montré une bonne activité dans le test de piégeage du radical hydroxyle, ABTS, anti-tyrosinase et anti-Butyrylcholinestérase. La meilleure phase de l'*Aristolochia* qui a montré de bonnes activités antioxydantes et enzymatiques est la phase butanolique qui avait les plus faibles IC₅₀ dans le test DPPH, CUPRAC, chélation du Fer et l'activité anti- Butyrylcholinestérase tandis que la phase dichlorométhane a montré de bonne activité dans le test du piégeage du radical hydroxyle, DMSO-alkalin, et le bêta-carotène. Ces résultats montrent que l'*Artemisia* présente une bonne source de molécules bioactives qui ont des propriétés biologiques meilleures par rapport à l'*Aristolochia*.

Mots clés : *Artemisia*, *Aristolochia*, activité antioxydante, activité inhibitrice des enzymes.

Jury d'évaluation :

Présidente :	KLIBET. F	(MCB - UFM Constantine)
Rapporteur :	MEBREK. S	(Attaché de recherche - CRBt)
Examineur :	MEROUANE. F	(MCB - ENSB Constantine)

Date de soutenance : 04/07/2018