

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Des Frères Mentouri Constantine



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

N° d'ordre.....

Série.....

Mémoire

PRESENTÉE POUR OBTENIR LE DIPLÔME DE Master

**Spécialité
BIOCHIMIE APPLIQUE**

THÈME

**Evaluation de l'activité antioxydante de L'espèce
*Artemisia absinthium***

**PAR
BELAIDI NADA
BOUBENDIRA KENZA**

Devant le jury :

Président	BOUANIMBA NOUR	MCA Université des frères Mentouri Constantine
Encadreur	KITOUNI RACHID	MAA Université des frères Mentouri Constantine
Examineur	HAROUNI SOUFIANE	MAA Université des frères Mentouri Constantine

Année universitaire 2017/2018

REMERCIEMENT

Avant tout, je remercie **ALLAH**, qui nous a donné la santé la volonté et la passion de
réalisé ce travaille

Je tiens à exprimer ma plus vive reconnaissance à mon encadreur Mr **KITOUNI RACHID**
(Maitre-assistant A Université des frères Mentouri Constantine) pour avoir encadré et dirigé
ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la
confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail

Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr BOUANIMBA NOUR** (Maitre de
conférences A Université des frères Mentouri Constantine)

pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et gratitude de **Mr HAROUNI SOUFIANE**
(Maitre-assistant A Université des frères Mentouri Constantine) d'avoir accepté d'être parmi
les membres du jury de ce mémoire.

Un grand merci va à **MR BENSOUISSI CHAWKI et son équipe de laboratoire de biochimie
de CRBT** pour toute l'aide qu'elle nous a apporté au cours de notre pratique.

Toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement, à la

réalisation de ce travail

Dédicace

A mon père **zoubire** et ma mère **Farida**

A mes grands parents **Ahmed** et **zoubida**

A toute la famille **Boubendira**

A ma chère et unique sœur **GHOUZLENE**

A mes très chers frères **Fouad ,Oussama et Ihab**

A toutes les mains qui m'ont été tendues

Kenza

Dédicace

A mon père **lezhar** et ma mère **Lamia**

A mes grands parents

A toute la famille **Belaidi**

A mon fiançais

A mes chères sœurs **Nessrine** et **Maya**

A mes très chers frères **Rabeh** et **Abd elmouhaimen**

A toutes les mains qui m'ont été tendues

Nada

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de l'Absinthe.....	5
Tableau 2 : Constituants chimiques principaux de <i>artemisia absinthuim</i>	7
Tableau 3: préparation de la gamme d'étalonnage d'acide gallique	22
Tableau 4: préparation de la gamme d'étalonnage de Quercétine.....	23
Tableau 5 Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux	31
Tableau 6 Inhibition du radical DPPH par les extraits d'Artémisia absinthuim	33
Tableau 7 Inhibition du radical ABTS par les extraits d'Artémisia absinthuim ...	35
Tableau 8 Inhibition du CUPRAC par les extraits de l' <i>Artémisia absinthuim</i>	37

Liste des figures

Figure 1 : <i>Artemisia absinthium</i>	5
Figure 2 : structures des principaux constituants d' <i>Artemisia absinthium</i>	8
Figure 3 : Classification des composés phénoliques.....	10
Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes [Dean, 1963].	11
Figure 5 : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe.....	12
Figure 6 : structures chimiques de : a-tanins hydrolysable b-tanins condensée ...	13
Figure 7 : Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre	17
Figure 8 structure chimique de radicale libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)[5].....	25
Figure 9 Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)	26
Figure 10 Structure chimique d'ABTS	27
Figure 11 Réduction de neocuproïne/copper (II) complexe	28
Figure 12 Courbe d'étalonnage de Quercitine.....	30
Figure 13 Courbe d'étalonnage par acide gallique	31
Figure 14 Histogramme de dosage de flavonoïdes	32
Figure 15 Histogramme de dosage de polyphénol.....	32

Figure 16 Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Artémisia absinthuim</i>	34
Figure 17 Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d' <i>Artémisia absinthuim</i>	35
Figure 18 Histogramme de l' Activité antioxydant (CUPRAC) de différent extrait de <i>Artémisia absinthuim</i>	36

Les abréviations

- % : Pourcentage
- [] : Concentration
- μl : microlitre
- $\cdot\text{O}_2$: oxygène singulet
- **A** : ARTEMISIA
- **Abs** : Absorbance
- **ABTS** : acide 2,2'-azinobis 3-ethylbenzo-triazoline-6-sulphonate
- **AcOEt** : Acétate d'éthyle
- **AGPI** : acides gras polyinsaturés
- **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium
- **BHA** : Butylated hydroxyanisole
- **BHT** : Butylated hydroxytoluene
- **C** : concentration
- **CI50** : Concentration inhibitrice à 50%
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- **ERO** : Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène
- **g** : gramme
- **H** : heure
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- **M** : Masse molaire
- **m** : masse
- **MeOH** : Méthanol
- **mg** : milligramme
- **min** : minute
- **ml** : millilitre
- **nm** : nanomètre
- **NO \cdot** : Monoxyde d'azote

- $O_2^{\cdot-}$: anion superoxyde.
- OH^{\cdot} : radical hydroxyl.
- R^{\cdot} : radical
- RO^{\cdot} : Radical oxyl
- ROO^{\cdot} : Radical peroxy
- S : Solution
- SOD : superoxyde dismutase
- TFC : Total Flavonoïdes Content
- UV : ultra-violet
- μg : microgramme

Sommaire

1. Introduction.....	4
2. L'espèce <i>Artemisia absinthium</i>	4
2.1 Description Botanique	4
2.2 Classification.....	5
2.3 Nomenclature	5
2.3.1 Noms communs	5
2.3.2 Noms vernaculaires.....	6
2.4 Origine et distribution.....	6
2.5 Culture	6
2.6 Période de Récolte.....	6
2.7 Propriétés thérapeutiques.....	6
2.8 Les compositions chimiques.....	7
3. Les métabolites secondaires.....	8
3.1 Les composés phénoliques	9
3.2 Structure général des Polyphénols	9
3.3 Classification des composés Phénoliques.....	10
3.4 Les acides phénols.....	10
3.5 Les flavonoïdes.....	11

3.5.1	Structure générale.....	11
3.5.2	Classification des flavonoïdes.....	11
3.6	Les tanins.....	12
3.6.1	Structure chimique et classification	12
3.7	Propriétés biologiques des Polyphénols.....	13
4.	Stress oxydatif.....	14
4.1	Radical libre	14
4.1.1	Nature des radicaux libres	14
4.1.2	Origine des radicaux libres	15
4.2	Antioxydant	16
4.2.1	Déférente type des antioxydants.....	17
4.2.2	Mécanismes d'action des antioxydants.....	19
1.	Introduction.....	21
2.	Matérielle végétale	21
3.	Préparation des extraits.....	21
4.	Analyse quantitative des composés phénoliques.....	21
4.1	Préparation des concentrations de l'extrait de la plante	22
4.2	Dosage des Polyphénols totaux	22
4.2.1	Préparation de la gamme d'étalonnage.....	22

4.2.2	Mode opératoire.....	23
4.3	Dosage Total Flavonoïde, TFC (Total flavonoïdes Content)	23
4.3.1	Préparation de la gamme d'étalonnage de la Quercetine.....	23
4.3.2	Mode opératoire :.....	24
5.	Evaluation de l'activité antioxydant.....	24
5.1	Préparation des concentrations de l'extrait de la plante :	24
5.2	Teste de DPPH :.....	25
5.2.1	Mode opératoire.....	26
5.3	Teste d'ABTS.....	26
5.3.1	Mode opératoire.....	27
5.4	Teste de CUPRAC.....	27
5.4.1	Mode opératoire :.....	28
1.	Dosage des Flavonoïdes et Polyphénols totaux.....	30
2.	Les activités antioxydant	32
2.1.	Histogramme de dosage de polyphénol este DPPH	32
2.2.	Teste ABTS :.....	34
2.3.	Test CUPRAC:.....	36

Introduction générale

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies[1], près de 80% de la population mondiale a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité [2].

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes[3].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme, anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires[4], ils sont une autre source importante pour une grande variété d'antioxydants naturels .

Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable due à un intérêt accru pour leur potentiel d'être utilisé en tant que source d'antioxydants riche et naturel. Parmi ces plantes : *Citrullus colocynthis*, *Limoniastrum feei*, *Pistacia lentiscus* et bien d'autres[5]

Parmi les plantes médicinales, nous avons sélectionné dans cette recherche l'étude et l'évaluation de l'activité anti oxydant d'espèce *Artemisia absinthium*. La présentation de notre travail est réalisé en trois chapitres.

- La première partie concernant l'étude bibliographique, relative à la plante étudiée, aux composés phénoliques et à l'activité antioxydante.
- La deuxième partie du travail est expérimentale, elle est consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de *Artemisia absinthium*, est basée sur :
 - ✓ L'extraction des composés phénoliques de la plante.

Introduction générale

- ✓ Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes.
- ✓ Evaluation de l'effet anti-radicalaire par le DPPH et l'ABTS et le CUPRAC.
- Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus, on termine notre étude par une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Synthèse bibliographique

1. Introduction

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[6], Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes[7].

Le nom " *Artemisia* "est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie imbuvable à cause du goût très amer de la centrale[8].

2. L'espèce *Artemisia absinthium*

2.1 Description Botanique

A. absinthium (absinthe) est un sous-arbrisseau vivace pouvant atteindre 1 m de haut. La tige, souterraine, est ligneuse, dressée et rameuse dont les feuilles alternes, aromatiques, sont bi- ou tripenniséquées et portent une pubescence dense et soyeuse sur les deux faces. Les feuilles inférieures ont des lobes lancéolés obtus. Les supérieures peuvent devenir entières et linéaires. Les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées, ramifiées. Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette [9].



Figure 1 : *Artemisia absinthium*

2.2 Classification

La classification de l'Absinthe est montrée dans le tableau suivant [10]:

Tableau 1 : Classification de l'Absinthe

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Aseridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia absinthium</i>

2.3 Nomenclature

2.3.1 Noms communs

Elle est connue sous le nom absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine, armoise amère[9].

Synthèse bibliographique

2.3.2 Noms vernaculaires

Chedjret Meriem, chaibet el adjouz, chih quoraçani, degnatech cheik, siba, chiba[11].

2.4 Origine et distribution

Venant des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord. Naturalisée d'autre part. Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs[12].

2.5 Culture

L'absinthe peut être assez facilement cultivée à partir de semences. Propager les graines sur la surface du sol. Quand elles ont poussé et après que tout risque de gel soit passé, transplanter là à l'extérieur. Il faut prévoir au moins 1 mètre pour qu'elle puisse se développer. L'absinthe est capable de croître dans des sols pauvres en plein soleil à mi-ombre. La taille se fait à l'automne, à l'exception de celle du sud qui est réduite au printemps ou en été. Les plantes ont besoin du plein soleil et de sols secs et bien drainés[13].

2.6 Période de Récolte

L'*A. absinthium* est collectée généralement entre le printemps et l'été[11].

2.7 Propriétés thérapeutiques

La plante est réputée depuis des temps indéterminés pour ses propriétés médicinales. Elle est citée comme stimulant dans un papyrus égyptien (vers 3550 avant J-C). Les grecs et les romains l'utilisaient pour combattre les troubles de la ménopause, mais également comme vermifuge et fébrifuge [14], Elle possède des vertus stimulantes, stomachiques, diurétiques, et une action antitoxique en cas d'intoxication au plomb [11].

L'absinthe est utilisée depuis l'antiquité pour le traitement des troubles digestifs. Les parties actives de la plante sont toutes très amères. On les emploie en traitement interne soit

Synthèse bibliographique

pures, soit en mélanges, pour stimuler l'appétit, la sécrétion du suc digestif et de la bile, contre les coliques intestinales ainsi que contre les parasites intestinaux[15].

Dans la médecine traditionnelle turque, *Artemisia absinthium* a été utilisée comme antipyrétique, antiseptique, anthelminthique, tonique, diurétique, et pour le traitement des maux de ventre[16].

Au Maroc, les feuilles écrasées et mélangées avec l'huile d'olive chaude sont utilisées en goutte à l'intérieur de l'oreille contre l'otite [17].

En Algérie, elle est employée en usage interne comme remède digestif[18], la macération à froid avec le lait caillé souvent utilisé pour diminuer le taux de glycémie (antidiabétique)[19].

2.8 Les compositions chimiques

L'espèce *Artemisia absinthium* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites [20], certaines études rapportent qu'en plus de l'artémisinine, le genre *Artemisia* est une riche source d'autres lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes[21].

La plante fraîche contient de 0.2 à 0.6 % d'HE. La teneur et la composition chimique de cette huile comme pour toutes les plantes aromatiques, diffèrent selon l'origine de la plante et la saison de récolte et selon le mode d'obtention[22].

Les principaux constituants chimiques de *Artemisia absinthium* sont consignés dans le tableau suivant[9].

Tableau 2 : Constituants chimiques principaux de *artemisia absinthium*

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques détaillés
Principes amers : (0,15 à 0,4% ; indice d'amertume de 10 000 à 15 000)	Lactones sesquiterpéniques dimères de type guaianolide : absinthines A - E (0,20 à 0,28%), isoabsinthine, absintholide et arténolide Lactones sesquiterpéniques monomères :

Synthèse bibliographique

	artabsine, artanolide, désacétylglobicine, parishines B et C.
Huile essentielle (0,2 à 1,5%)	α et β -thuyone (33,1–59,9% dans le chémotype à β -thujone), chamazulène, acétate de trans-sabinène (18,1–32,8%), myrcène, cis-époxy-ocimène, acétate de chrysanthényl, thuyol, linalol, 1,8-cinéole, α -bisabolol, β -pinène, β -curcumène, spathuléol, trans-sabinène
Flavonoïdes	myricétine, quercétine, kaempférol, rutine, hespéridine, naringénine
Acides phénols	Acides salicylique, cafeïque, gallique, p-coumarique, férulique, vanillique, β -resorcylique et protocatechuique

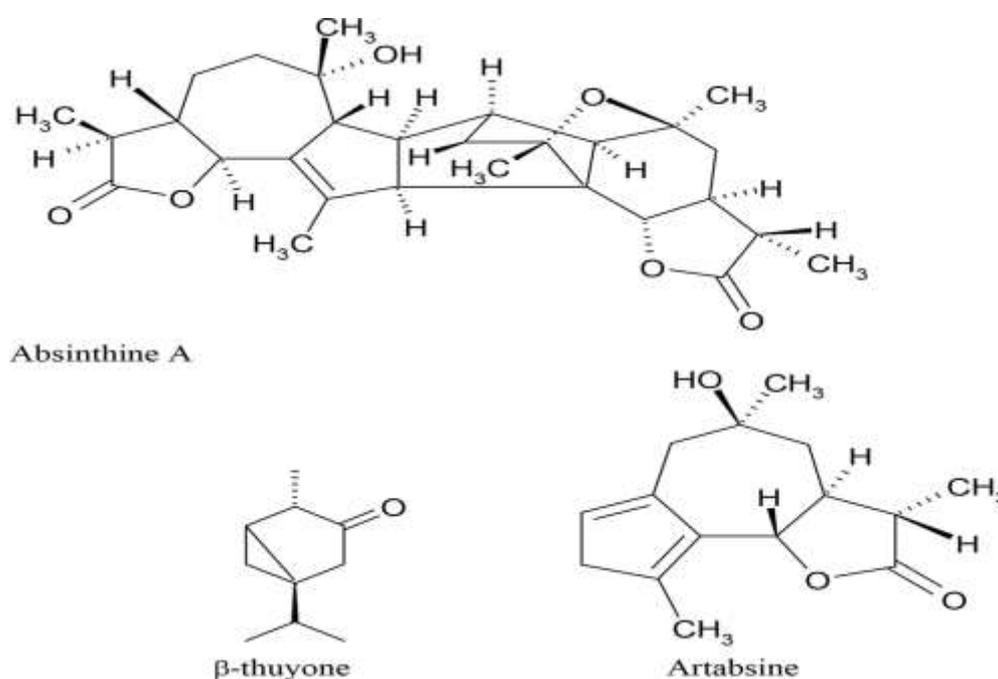


Figure 2 : structures des principaux constituants d'*Artemisia absinthium*

3. Les métabolites secondaires

Synthèse bibliographique

Les métabolites secondaires végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (protéines, lipides et glucides). Ces métabolites secondaires interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement[23].

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de 200 000 molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes [24].

3.1 Les composés phénoliques

Les composés phénolique ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées[25].

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec l'environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes, entre les plantes et les symbioses ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel[26].

3.2 Structure générale des Polyphénols

La structure chimique des polyphénols est comparable à tous les polyphénols. Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient[27].

Synthèse bibliographique

3.3 Classification des composés Phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols, les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins[28].

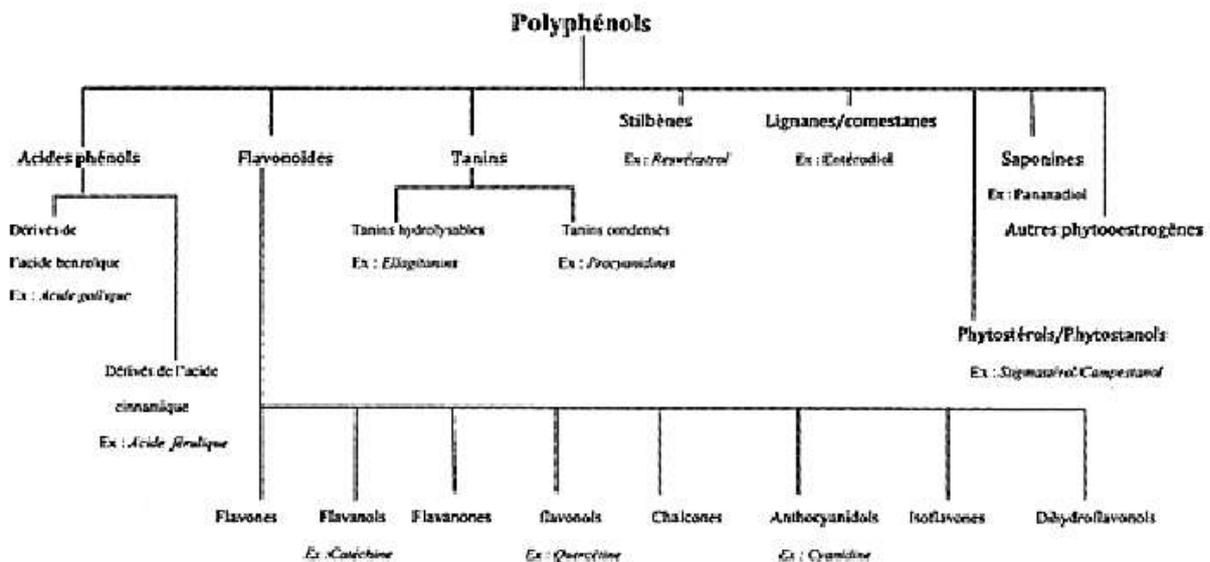


Figure 3 : Classification des composés phénoliques

3.4 Les acides phénols

Les acides phénoliques sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont répartis en deux grandes classes: il y'a d'une part les acides benzoïques en C7 : (C6-C1) et d'autre part les acides cinnamiques en C9 : (C6-C3) [29].

Synthèse bibliographique

- Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1): très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside, ex : Acide p-hydroxy benzoïque, Acide salicylique
- Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3) : ils présentent une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés ,ex : acide caféique[30].

3.5 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols[31], les flavonoïdes (du latin, flavus : jaune) au sens strict sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont présents dans la plupart des plantes, Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles[32].

3.5.1 Structure générale

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 [32].

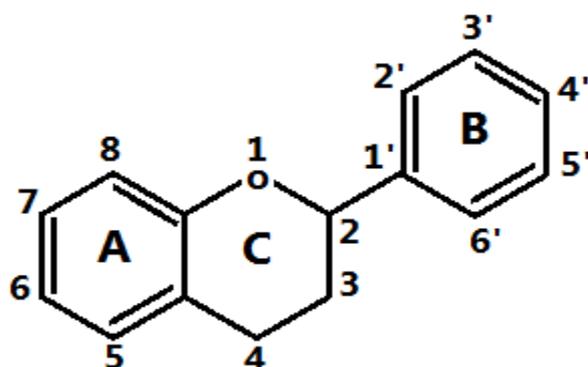


Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes

3.5.2 Classification des flavonoïdes

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C[33]. Les principales

Synthèse bibliographique

classes des flavonoïdes sont : les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes[34].

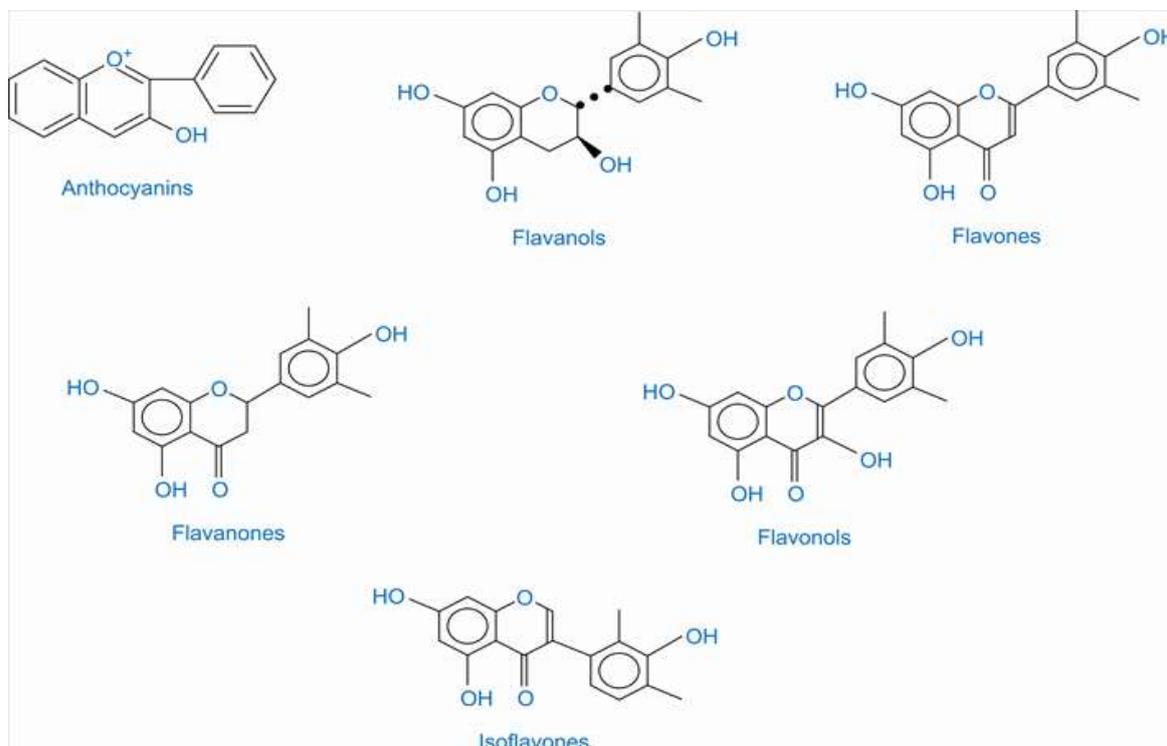


Figure 5 : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe

3.6 Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés[35].

3.6.1 Structure chimique et classification

- ❖ **Tanins hydrolysables** : Ce sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont, en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotannins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique

Synthèse bibliographique

(cas des ellagitanins). Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénolique[36].

- ❖ **Tanins condensés :** Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères[32].

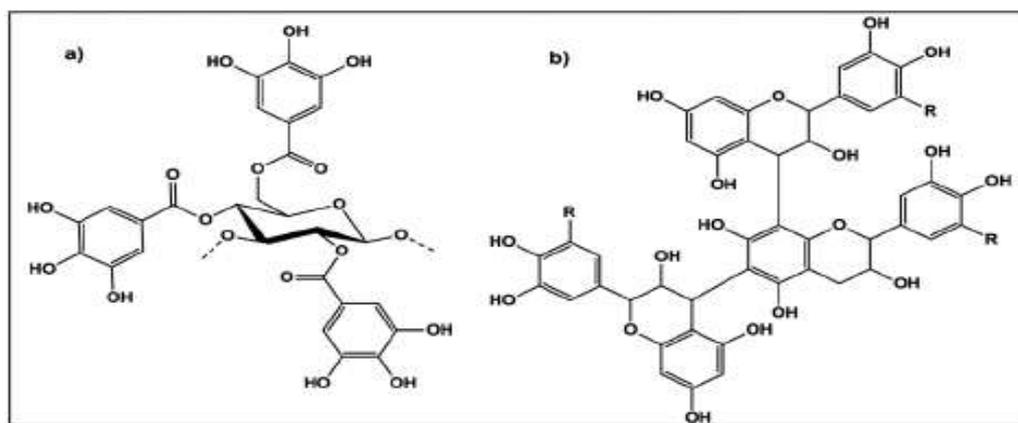


Figure 6 : structures chimiques de : a-tanins hydrolysable b-tanins condensée

3.7 Propriétés biologiques des Polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, cardioprotective et vasodilatateur. Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes.

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles,

Synthèse bibliographique

superoxydes, alkoxydes et peroxydes; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres[37].

4. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs[38] L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé[39].

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale des radicaux[40].

4.1 Radical libre

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres [41].

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les formes activées de l'oxygène. La réactivité particulière de l'oxygène est due à la structure bi radicalaire de la molécule. Les radicaux libres sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire[42].

4.1.1 Nature des radicaux libres

4.1.1.1 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO):

Les principaux radicaux libres dérivés de l'oxygène sont les suivants [43]:

Synthèse bibliographique

- l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.
- le radical hydroxyle : OH^{\bullet} . Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.
- le radical peroxyde : ROO^{\bullet}
- l'oxygène singulet $^{\bullet}O_2$: forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité.

4.1.1.2 Espèces libres non oxygénées :

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO). Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs.

Nous citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques[44].

4.1.2 Origine des radicaux libres

Les Radicaux Libres sont formés par un grand nombre de mécanismes, endogènes et exogènes.

4.1.2.1 Source endogène

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation : $O_2 + 4 e^- + 4 H^+ \longrightarrow 2 H_2O$

Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet

Synthèse bibliographique

(1O₂) mais surtout de l'anion superoxyde (O₂•⁻). La dismutation de O₂•⁻ va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) puis indirectement au radical hydroxyl (•OH)[45][46].

Les radicaux libres peuvent également être produits lors de la défense antibactérienne. Les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles...) activées pendant la réaction inflammatoire, vont libérer un anion superoxyde O₂•⁻. Ce phénomène est appelé la flambée respiratoire. Les radicaux superoxydes formés peuvent alors subir eux aussi des transformations donnant naissance aux dérivés oxygénés toxiques.

La régulation des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée (apoptose). fait appelle aussi à la production endogènes des radicaux libre[45][46].

4.1.2.2 Source exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives. Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que O₂•⁻, OH•, 1O₂ et de molécules génératrices de radicaux libres.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires[40].

Il a aussi été montré que l'ingestion d'alcool pouvait être à l'origine de la production de radicaux libres. Ils sont produits au cours de l'oxydation de l'acétaldéhyde. Mais aussi certains médicaments anti-cancéreux antibiotiques[40][47].

4.2 Antioxydant

Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat[48].

Synthèse bibliographique

L'équilibre entre les antioxydants et les oxydants est généralement appelé « équilibre d'oxydo-réduction »[49].



Figure 7 : Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre

4.2.1 Différents types d'antioxydants

4.2.1.1 Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes sont synthétisés dans les cellules et comprennent à la fois les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Les principaux antioxydants enzymatiques comprennent la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (CAT). Ensemble, ces enzymes antioxydantes préviennent le stress oxydatif en récupérant les radicaux et les espèces réactives avant qu'ils n'endommagent les composants cellulaires.

Le principal antioxydant non enzymatique dans toutes les cellules est le glutathion (GSH). Cet important antioxydant non enzymatique peut non seulement agir comme un piège des oxydants indépendants, mais aussi collaborer avec la glutathion peroxydase pour éliminer le peroxyde d'hydrogène (un oxydant) de la cellule[49].

4.2.1.2 Les antioxydants exogènes

- Les vitamines :

Synthèse bibliographique

Les vitamines sont des molécules organiques requises en faible quantité indispensable pour le fonctionnement des voies métaboliques des êtres vivants. Elles réagissent sous forme de coenzyme[50].

- **Les oligo-éléments :**

Les oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse[51].

- **Les médicaments**

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants[52].

- **Les polyphénols**

Le mécanisme de piégeage des radicaux libres par les polyphénols se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène (H-atome transfert ou HAT). Le radical libre est réduit par transfert de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant (ArO-H) vers le radical (R•).



Le radical ArO• ainsi formé sera stabilisé par délocalisation des électrons π , par un nouveau transfert d'atome d'hydrogène conduisant à la formation de quinone ou par réaction avec un autre radical libre. Les polyphénols jouent un rôle important, ils sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre. En effet les ROS sont produits abondamment par réduction d'O₂ par Fe²⁺ ou Cu⁺ aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyle (réaction de Fenton)[53].

Synthèse bibliographique

4.2.2 Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition[54].

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre Substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol.

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur [55].

CHAPITRE II

MATERIELLES ET METHODES

Matérielles et méthodes

1. Introduction

L'objectif de cette présente étude réalisé au sein de Laboratoire de pharmacologie et toxicologie de centre de recherche en biotechnologie Constantine est de évaluer l'activité antioxydant de ces différentes extraits : Méthanolique , Chloroformique et l'extrait de l'acétate d'éthyle de la plante *Artemisia absinthium* ,cette évaluation est effectuée par des tests in vitro :DPPH ,ABTS et CUPRIC , après avoir la détermination leur taueaux polyphénols et flavonoïdes totaux . Pour cela nôtre étude est réalisé comme suite :

1. Préparation des extraits (Méthanolique, Chloroformiques, Acétate d'éthyle).
2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.
3. Réalisation des tests phytochimiques.

2. Matérielle végétale

La plante d'*Artemisia Absinthium* a été cueillie au mois de mars (2017), dans les Montagnes de wilaya de boumerdès.

3. Préparation des extraits

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil la plante est broyée entièrement, La matière végétale obtenue est mise à macération dans un mélange hydro -alcoolique (Méthanol / eau ; 80 / 20 ; V / V). Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant chaque 24 h pour obtenir le maximum des métabolites secondaire

Après filtration et concentration sous vide ($T < 40^{\circ}\text{C}$), l'extrait méthanolique est dilué avec de l'eau distillée, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le MeOH puis le chloroforme puis l'acétate d'éthyle.

4. Analyse quantitative des composés phénoliques

Matérielles et méthodes

4.1 Préparation des concentrations de l'extrait de la plante

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

4.2 Dosage des Polyphénols totaux

Pour déterminé La teneur des polyphénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu[56] selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par [57]

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm[1].

4.2.1 Préparation de la gamme d'étalonnage

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S_1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs qui représentent dans le tableau suivant **Tableau 3**

Tableau 3: préparation de la gamme d'étalonnage d'acide gallique

N° des eppendorfs	1	2	3	4	5	6	7	8
V ajouté de méthanol (ml)	175	150	125	100	75	50	25	0
V ajouté d'acide gallique (μ l)	25	50	75	100	125	150	175	200

20 μ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque et ajouté 100 μ l FCR (1 :10) et 75 μ l de Na_2CO_3 (7,5%) après l'incubation pendant 2h et pour la lecture se fait à 765nm à l'aide d'un lecteur de microplaque.

Matérielles et méthodes

4.2.2 Mode opératoire

Sur une microplaque on ajoute 20 μl d'extrait de plante et 100 μl de FCR dilué 10 fois (1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée) et 75 μl de carbonate de sodium (7,5 gramme de Na_2CO_3 et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé) Pour le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le Méthanol, ces mélange est mettre à l'obscurité pendant 2h ,La lecture se fait à 765 nm. Pour le contrôle positif se fait par l'acide gallique.

4.3 Dosage Total Flavonoïde, TFC (Total flavonoïdes Content)

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le d'aluminium Al^{+3} et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [58]

La coloration jaunâtre produite est proportionnelle à la teneur en flavonoïdes totaux et possède une absorption maximum aux 415 nm[58]

4.3.1 Préparation de la gamme d'étalonnage de la Quercétine

On prend 1 mg de la Quercétin et on le dissolvé dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Tableau 4: préparation de la gamme d'étalonnage de Quercétine

N° des eppendorfs	1	2	3	4	5	6	7	8
V ajouté de méthanol (ml)	175	150	125	100	75	50	25	0
V ajouté de quercétine (μl)	25	50	75	100	125	150	175	200

Matérielles et méthodes

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) +10 µl (S₁) (CH₃COOK) + 10 µl (Al(CL₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

4.3.2 Mode opératoire :

Sur une microplaque on ajoute 50 µl (extrait de plante) , 130 µl (MeOH), 10 µl(CH₃COOK) et 10 µl (Al(CL₃)₂, 9H₂O) ;Pour la préparation de blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).et le mélanges obtenue est incubé pendant 40 min , La lecture se fait à 415 nm. Pour le contrôle positif par la Quercetin

5. Evaluation de l'activité antioxydant

5.1 Préparation des concentrations de l'extrait de la plante :

A partir de l'équation $C_1 V_1 = C_2 V_2$ l'élaboration des concentrations sont comme suite :

$$4000 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 800 \text{ }\mu\text{g}$$

$$2000 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 400 \text{ }\mu\text{g}$$

$$1000 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 200 \text{ }\mu\text{g}$$

$$500 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 100 \text{ }\mu\text{g}$$

$$250 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 50 \text{ }\mu\text{g}$$

$$125 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 25 \text{ }\mu\text{g}$$

$$62.5 \text{ (ppm)} * 40 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (extrait)} / 200 \text{ (}\mu\text{l)} \text{ (volume total)} = 12.5 \text{ }\mu\text{g}$$

La masse de l'extrait est choisie entre 4-5 mg

On prépare 07 dilutions qui sont : (1/1 , 1/2 , 1/4 , 1/8 , 1/16 , 1/32 , 1/64).

On veut préparer 4000 ppm de l'extrait :

Matérielles et méthodes

$V = 4 \text{ mg} \times 250 \text{ } \mu\text{l} = 1000 \text{ } \mu\text{l}$ (volume à ajouter pour la masse d'extrait)

(1/1) → 4mg (extrait) + 1000 μl du solvant

(1/2) → 500 μl solvant+ 500 μl de (1/1)

(1/4) → 500 μl solvant+ 500 μl de (1/2)

(1/8) → 500 μl solvant+ 500 μl de (1/4)

(1/16) →500 μl solvant+ 500 μl de (1/8)

(1/32) →500 μl solvant+ 500 μl de (1/16)

(1/64) → 500 μl solvant+ 500 μl de (1/32)

5.2 Teste de DPPH :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques[59]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [60].

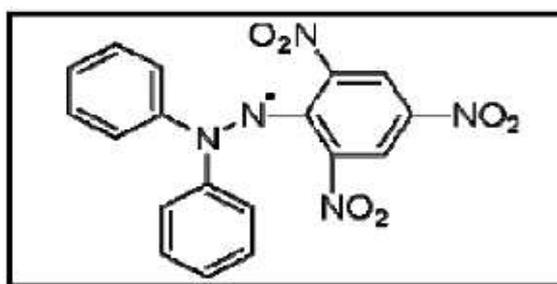


Figure 8 structure chimique de radicale libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)[5]

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants[61]. En présence des piègeurs de radicaux libres, le

Matérielles et méthodes

DPPH. (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune[62].

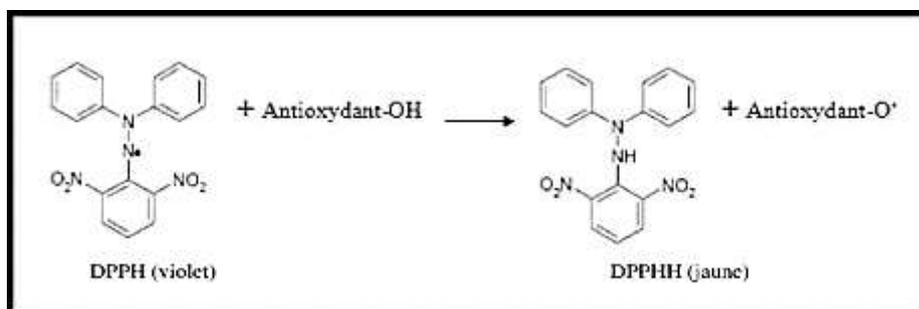


Figure 9 Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)

5.2.1 Mode opératoire

Sur une microplaque à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits on ajout \acute{e} 160 μl la solution DPPH (Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de m \acute{e} thanol) et ajoute 40 μl de chaque extrait \grave{a} diff \acute{e} rente concentration et pour le contr \acute{o} le n \acute{e} gatif on \grave{a} m \acute{e} lange 40 μl du m \acute{e} thanol avec 160 μl de solution de DPPH et incub \acute{e} pendant 30 min \grave{a} l'obscurit \acute{e} et gard \acute{e} \grave{a} T $^{\circ}$ ambiante, La lecture se fait \grave{a} 517 nm.

Le α -tocoph \acute{e} rol, BHT et le BHA sont utilis \acute{e} s comme standards antioxydants.

5.3 Teste d'ABTS

ABTS forme \acute{e} galement un radical libre relativement stable, qui d \acute{e} colore sous sa forme non-radicalaire. Dans cette m \acute{e} thode, un antioxydant est ajout \acute{e} \grave{a} un ABTS pr \acute{e} -form \acute{e} solution radicalaire et apr \acute{e} s une p \acute{e} riode de temps fixe le reste ABTS \bullet + est quantifi \acute{e} par spectrophotom \acute{e} trie \grave{a} 734 nm[63]. Le spectrophotom \acute{e} trique analyse de l'activit \acute{e} de pi \acute{e} geage ABTS \bullet + d \acute{e} termin \acute{e} selon la m \acute{e} thode de Re et al[64]

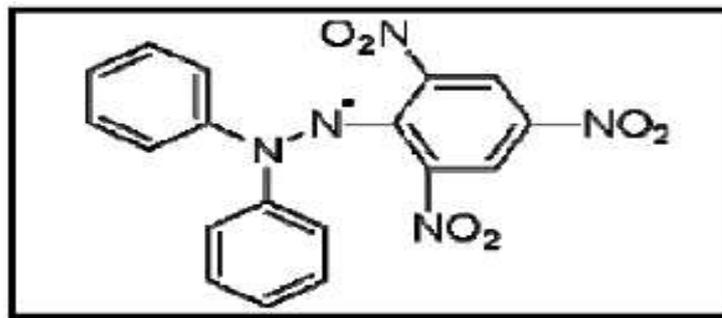


Figure 10 Structure chimique d'ABTS

5.3.1 Mode opératoire

Sur une microplaque ont ajouté 160 μ l de la solution (ABTS⁺) que préparé A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium(K₂S₂O₈) et on ajoute 40 μ l de chaque extrait à différente concentration ,Pour la préparation de blanc est préparé en remplaçant les extraits par le méthanol et incubé pondent 10 min à l'obscurité et gardé à T° ambiante, La lecture se fait à 734 nm

α -Tocophérol, BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

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

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

5.4 Teste de CUPRAC

Le Cupric reducing antioxidant capacity est déterminé par la méthode CUPRAC[65]Ce test est basé sur les modifications des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (Nc) cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant². Le potentiel de réduction de l'échantillon ou de l'étalon convertit efficacement Cu + 2 en Cu + 1, changeant ainsi l'absorbance maximum, comme le montre **la figure 4**. Ce complexe de cuivre réduit donne une absorption maximum à 450 nm[66].

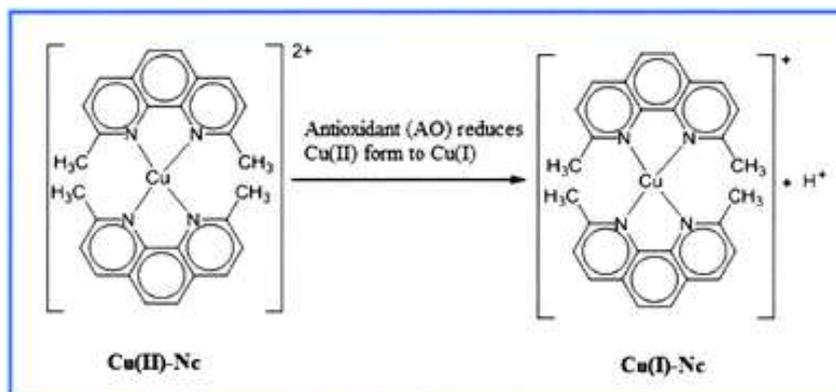


Figure 11 Réduction de neocuproïne/copper (II) complexe

5.4.1 Mode opératoire :

Sur une microplaque on ajoutant 40 μ l extrait et 60 μ l (S1 : 1,927 g Acétate d'ammonium (ACNH₄) + 25 ml (H₂O)) et 50 μ l de (S3 : 0,039 g (Neocupronin) dissoudre dans 25 ml (EtOH)) et 50 μ l de (S2 : 0,042625 g (Cu Cl₂, 2H₂O) dans un 25 ml (H₂O)) , Pour le contrôle négatif on mélange 40 μ l du méthanol avec 60 μ l (S1) et 50 μ l (S3) et 50 μ l (S2) ces tests était incubé pendant 1h du temps , La lecture se fait à 450nm.

α -Tocophérol, BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et Discussion

1 .Dosage des Flavonoïdes et Polyphénols totaux

Des dosages spectrophotométrique ont été effectués à partir de l'extrait chloroformiques, méthanolique et acétate d'éthyle de la partie aérienne *Artémisia absinthuim* afin de déterminer les teneurs en flavonoïdes et en polyphénols à partir des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la quercitrine respectivement

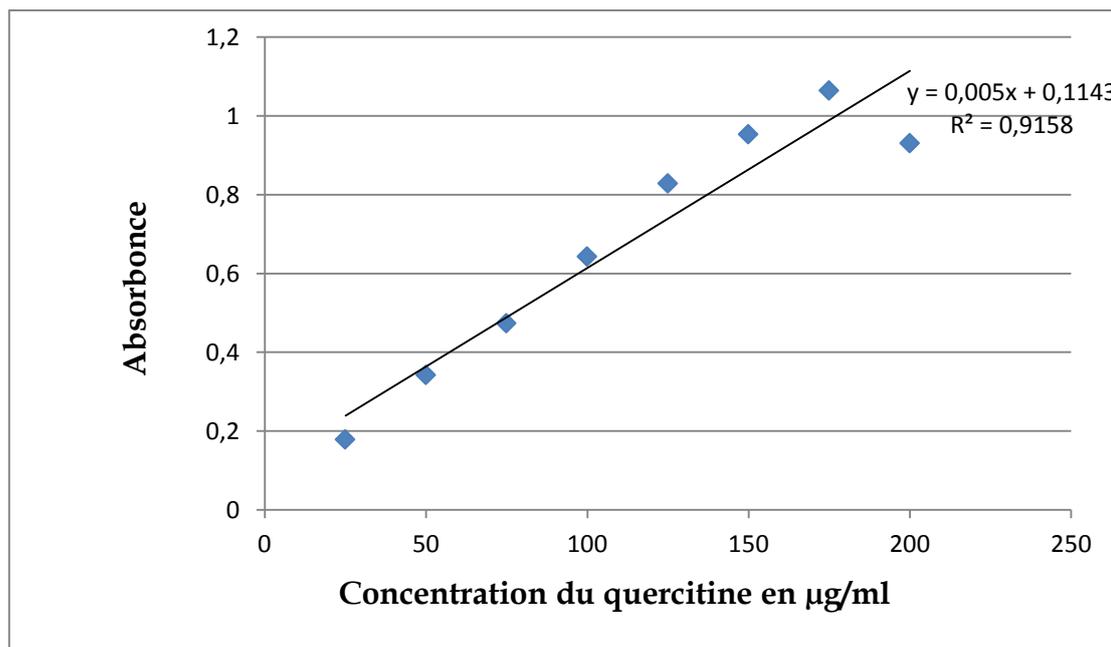


Figure 12 Courbe d'étalonnage de Quercitrine

Résultats et Discussion

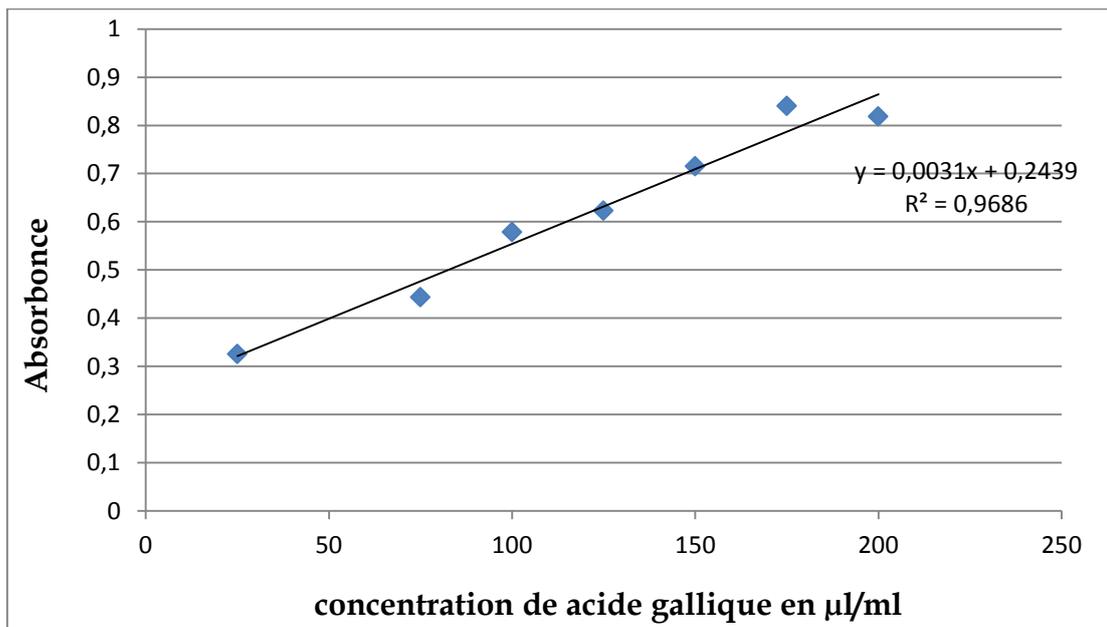


Figure 13 Courbe d'étalonnage par acide gallique

Tableau 5 Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux

Extraits	Polyphénols totaux (μg EAG/mg extrait)	Flavonoïdes (μg EQ/mg extrait)
CHCl ₃	62,50 \pm 4,81	116,55 \pm 17,21
MeOH	202,27 \pm 6,20	106,63 \pm 3,65
ACETATE	37,79 \pm 9,31	84,22 \pm 11,79

Le Tableau 5 montre que l'extrait méthanolique de *l'Artémisia absinthium* est plus riche en polyphénols par rapport de l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle par contre la teneur des flavonoïdes est élevée dans l'extrait chloroformique que les extraits acétate d'éthyle et méthanolique.

Résultats et Discussion

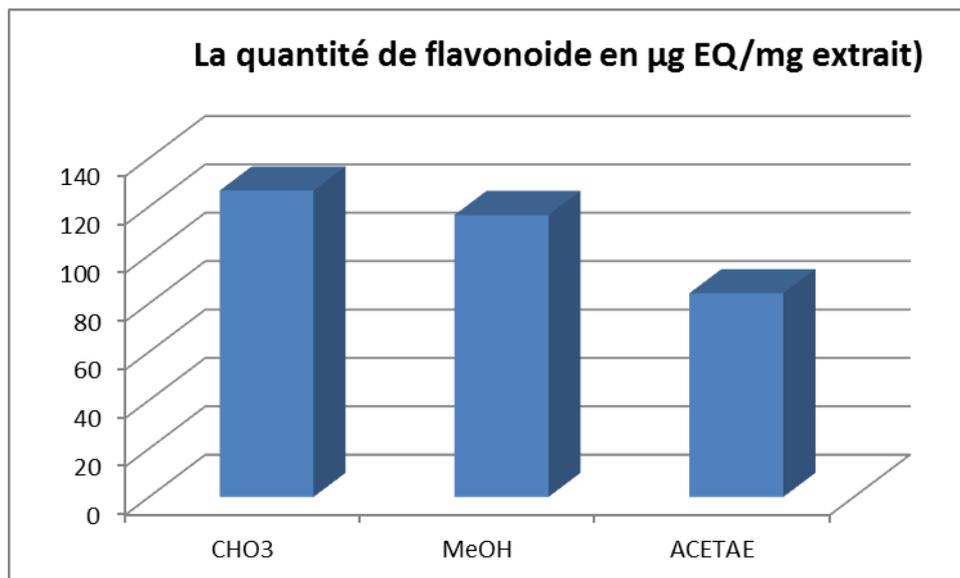


Figure 14 Histogramme de dosage de flavonoïdes

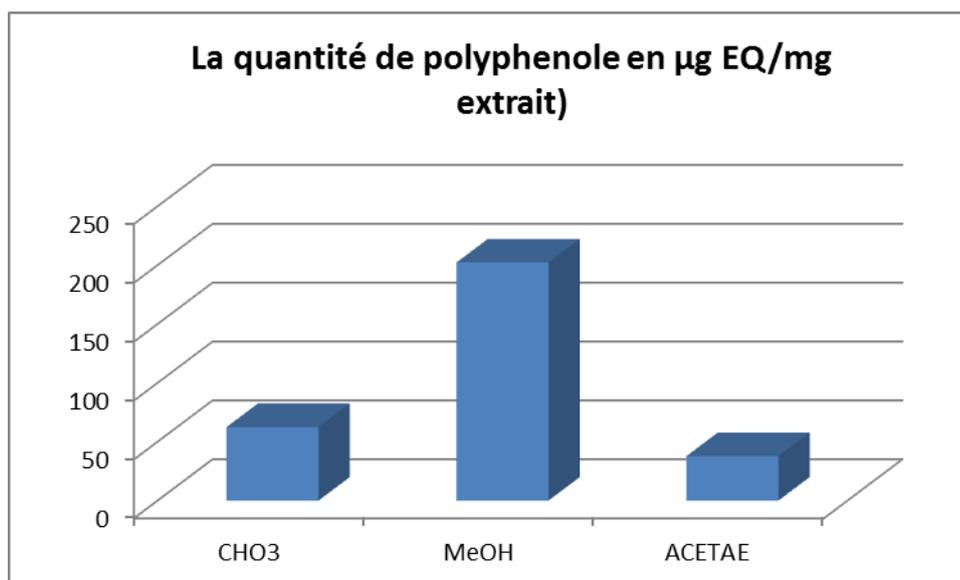


Figure 15 Histogramme de dosage de polyphénol

2 .Les activités antioxydant

Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits chloroformique, méthanolique et acétate de l'*Artémisia absinthium*.

2.1. Teste DPPH :

Résultats et Discussion

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (Tableau 6. Figure 16)

➤ Calcule d'IC50 :

IC50 : Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

Les valeurs des IC50 trouvées pour les trois extraits testés sont représentées dans le Tableau 6 et dans la Figure 16 sous forme d'histogrammes.

Tableau 6 Inhibition du radical DPPH par les extraits d'Artémisia absinthium

EXTRAITS	% Inhibition							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
CHL3	NA	NA	5.27 ±1.44	10.68 ±0.68	17.3 2±1.42	34.9 3±0.64	61.9 5±0.78	627.65 ±5.57
MeOH	14.78 ±2.29	22.95 ±3.96	40.7 9±3.02	81.03 ±0.49	83.9 6±2.20	84.0 7±0.19	84.9 0±0.51	62.66 ±2.55
ACETAT	NA	NA	NA	NA	0.09 ±0.93	4.43 ±0.34	9.94 ±0.76	>800
BHA	76,55 ± 0,48	79,89 ± 0,26	81,7 3±0,10	84,18 ±0,10	87,1 3±0,17	89,3 6±0,19	90,1 4±0,00	6.14± 0.41
BHT	49,09 ± 0,76	72,63 ± 2,06	88,7 3±0,89	94,00 ±0,31	94,9 7±0,08	95,3 8±0,41	95,0 2±0,23	12.99 ±0.41
α- Tocopherol	37,21 ±1,82	81,53 ±1,51	89,2 3±0,12	89,38 ±0,19	89,4 5±0,22	89,9 9±0,23	89,5 2±0,33	13.02 ±5,17

Résultats et Discussion

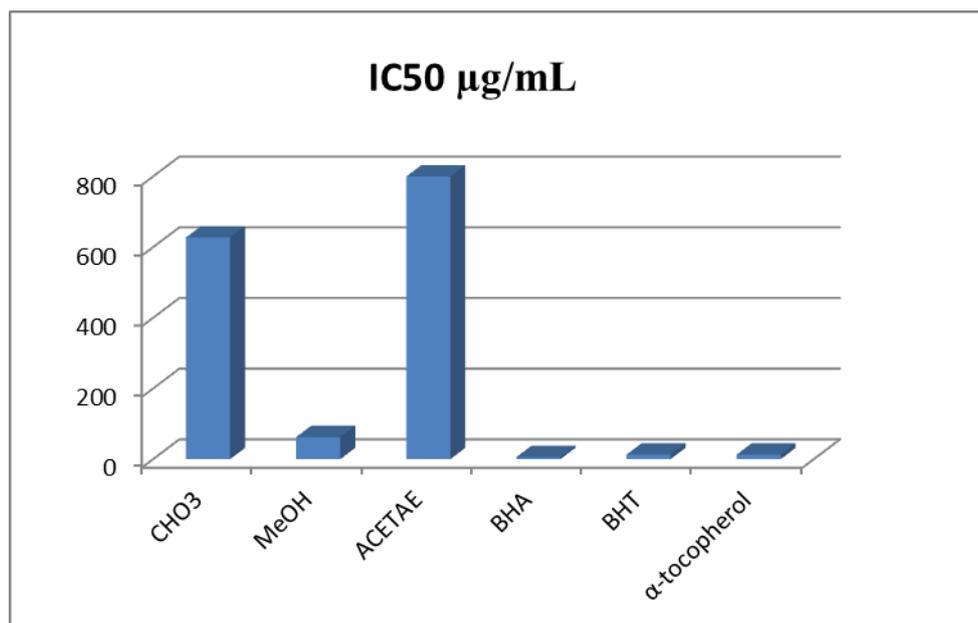


Figure 16 Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d'*Artémisia absinthium*

L'extrait méthanolique a présenté une meilleure activité antiradicalaire de ($CI_{50}=62.66\pm 2.55 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), en comparaison avec le standard BHA ($CI_{50}= 6.14\pm 0.41 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), BHT ($CI_{50}= 12.99\pm 0.41 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) et α -tocophérol ($CI_{50}=13.02\pm 5,17 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes et à d'autres polyphénols. Par contre, l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle a montré une activité antiradicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA, BHT et α -tocophérol. (**Tableau 6, Figure 16**)

L'extrait Méthanolique d'*Artémisia absinthium* montré une meilleure activité antiradicalaire par rapport à l'extrait Chloroformique et Acétate d'éthyle bien que le contenu en polyphénols de ce dernier soit un peu supérieur.

Cette bonne activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes.

2.2. Teste ABTS :

Pour déterminer les valeurs IC_{50} , nous avons tracé les courbes de variations de

Pourcentages d'inhibition (I%) avec les concentrations des extraits

Résultats et Discussion

Tableau 7 Inhibition du radical ABTS par les extraits d'Artémisia absinthuim

Extracts	% Inhibition in ABTS assay							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
CHO3	19.31±1.84	26.90±1.84	33.72±2.30	46.08±0.39	53.36±0.39	64.66±4.21	74.60±1.89	151.21±2.72
MeOH	20.30±3.56	43.81±2.56	63.07±2.96	85.67±4.17	90.14±0.73	90.44±0.39	90.52±0.26	41.57±0.97
ACETATE	NA	NA	3.92±1.60	2.93±1.72	5.59±0.79	15.90±0.66	23.18±0.92	>800
BHT	69.21±0.40	78.23±1.34	88.12±1.28	88.76±3.07	90.85±1.74	90.95±0.51	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	1.81±0.10

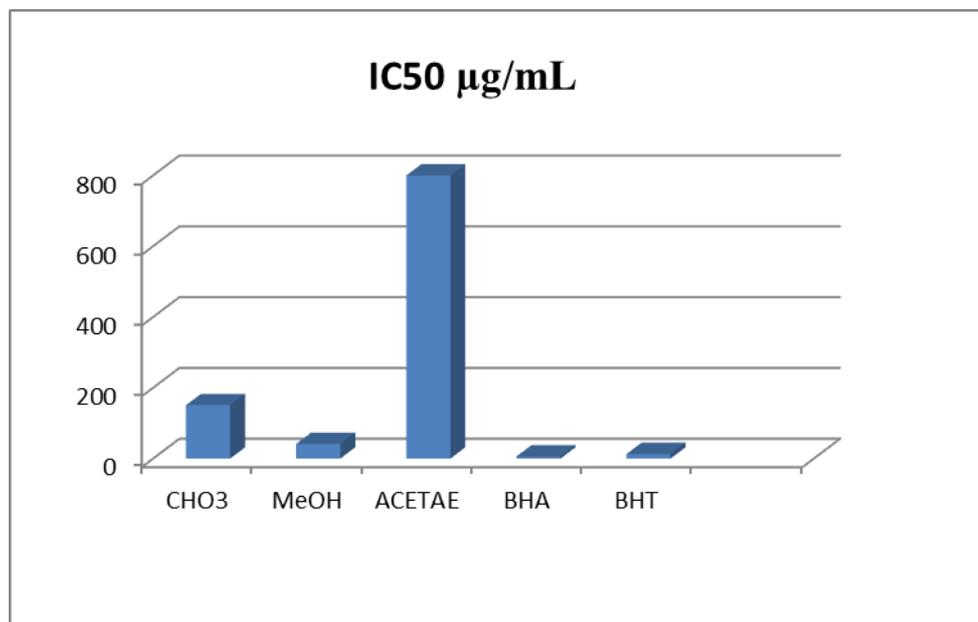


Figure 17 Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d'Artémisia absinthuim

L'extrait méthanolique a présenté une meilleure activité antiradicalaire de ($CI_{50}=41.57\pm 0.97 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), en comparaison avec le standard BHA ($CI_{50}= 6.14\pm 0.41 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), BHT ($CI_{50}= 12.99\pm 0.41 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) et .Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes et à d'autres polyphénols. Par contre, l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle

Résultats et Discussion

a montré une activité antiradicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA, BHT. (Tableau 7, Figure 17)

L'extrait Méthanolique d'*Artémisia absinthuima* montrée une meilleure activité antiradicalaire par rapport à l'extrait Chloroformique et Acétate d'éthyle bien que le contenu en polyphénols de ce dernier soit un peu supérieur.

Cette bonne activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes.

2.3. Test CUPRAC:

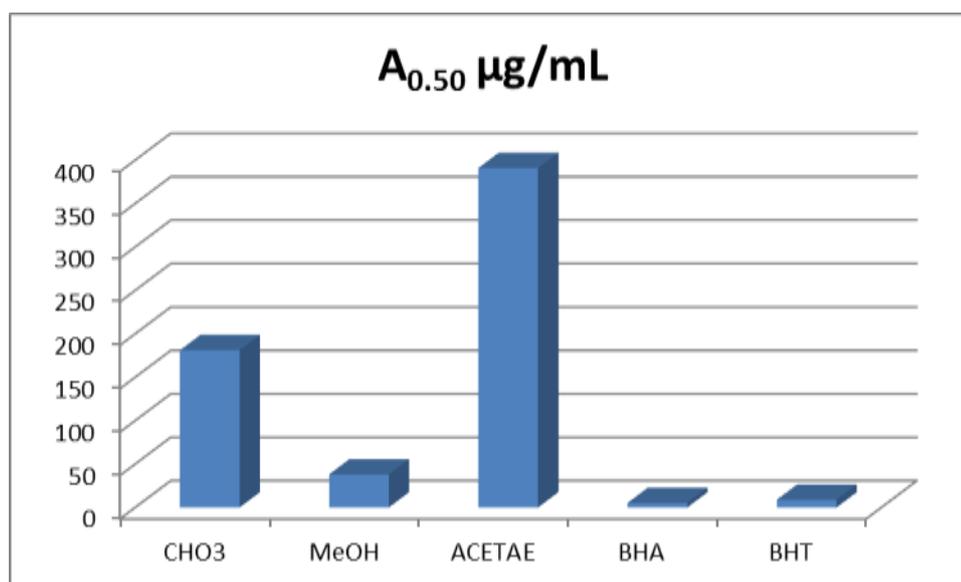


Figure 18 Histogramme de l'Activité antioxydant (CUPRAC) de différents extraits de *Artémisia absinthuim*

Résultats et Discussion

Tableau 8 Inhibition du CUPRAC par les extraits de *l'Artémisia absinthuim*

Extracts	% Inhibition in CUPRAC assay							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	A _{0.50} µg/mL
CHO ₃	0.16±0.00	0.18±0.01	0.28±0.06	0.35±0.00	0.53±0.02	0.81±0.04	1.30±0.06	181.12±2.11
MeOH	0.26±0.03	0.37±0.02	0.65±0.05	0.96±0.08	1.78±0.21	2.54±0.22	3.72±0.08	38.15±0.79
ACET ATE	0.14±0.03	0.15±0.04	0.15±0.00	0.21±0.02	0.28±0.00	0.51±0.01	0.86±0.08	390.96±2.99
BHT	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHA	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

L'extrait méthanolique a présenté une meilleure activité antiradicalaire de ($A_{0.50}=38.15\pm0.79 \mu\text{g.mL}^{-1}$), en comparaison avec le standard BHA ($A_{0.50}=8.97\pm3.94\mu\text{g.mL}^{-1}$), BHT ($A_{0.50}=5,35\pm0,71 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Cette activité est due à sa richesse en molécules polaires à savoir les flavonoïdes glycolyses qui ont été isolés et à d'autres polyphénols. Par contre, l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle a montré une activité antiradicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA, BHT. (Tableau 8, Figure 18)

L'extrait Méthanolique d'*Artémisia absinthuim* montré une meilleure activité anti radicalaire par rapport à l'extrait Chloroformique et Acétate d'éthyle bien que le contenu en polyphénols de ce dernier soit un peu supérieur.

Cette bonne activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude photochimique et biologique de la plante médicinale *Artémisia Absinthuim* de la famille d'*Asteraceae*.

Dans le présent travail on a effectué l'extraction et l'évaluation photochimique des

Métabolites secondaires et l'étude de l'activité antioxydante de notre plante qui est une grande plante herbacée, vivace largement utilisée en médecine traditionnelle.

L'analyse quantitative des extraits de *l'Artémisia Absinthuim* est représentée par un dosage spectral, La teneur la plus élevée en polyphénols est retrouvée dans l'extrait Méthanolique (202,27±6,20 mg d'acide gallique/g). Pour les flavonoïdes la teneur la plus élevée est trouvée dans l'extrait Chloroformique (116,55±17,21 mg de Quercetin/g).

Quant à l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antiradicalaire des Extraits Chloroformique ,Méthanolique et acétate d'éthyle en utilisant trois méthodes la technique de piégeage du radical libre DPPH, ABTS, et CUPRAC L'étude de l'activité antiradicalaire a donné une bonne efficacité antioxydante des extraits Méthanolique avec un (DPPH IC50%= 62.66±2.55 µg/ml) (ABTS IC50%= 41.57±0.97 µg/ml) (CUPRAC A₀₅₀% = 38.15±0.79µg/ml) .

Ces méthodes ont confirmé les propriétés puissantes que possèdent les polyphénols à piéger les radicaux libres.

Notre étude a montré que la plante médicinale *Artémisia Absinthuim* est très riche en différents composés métaboliques et présente une bonne activité antioxydante dans le domaine pharmaceutique.

- [1] R. Sanago, « Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle », *Univ. Bamako Mali*, vol. 53, 2006.
- [2] O. Benaissa, « Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres chrysanthemum et rhantherium. », Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine.
- [3] M. Chaabi, « Étude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: *Euphorbia stenoclada* Baill.(Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr.(Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.(Plumbaginaceae) », Thèse de doctorat, LOUIS PASTEUR, 2008.
- [4] T. Bahorun, « Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle », in *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists*, 1998, p. 83.
- [5] D. Atmani *et al.*, « Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants », *Food Chem.*, vol. 112, n° 2, p. 303-309, 2009.
- [6] Mucciarelli M and Maffei M, *Artemisia: Introduction to the Genus*, vol. 18. in Taylor & Francis.: Colin W.W., 2002.
- [7] Barkely T M, Brouillet L, Strother J L, « Flora of North America -Asteraceae », Oxford University Press, New York., 2006.
- [8] Yıldız K, Başalan M, Duru O, Gokpınar S, *Antiparasitic Efficiency of Artemisia absinthium on Toxocara cati in Naturally Infected Cats*. *Turkiye Parazitol Derg*, 2011.
- [9] K. Ghédira et P. Goetz, « *Artemisia absinthium* L. : absinthe (Asteraceae) », *Phytothérapie*, vol. 14, n° 2, p. 125-129, avr. 2016.
- [10] GUIGNARD. J. LOUIS. P.M, *Abrégé de botanique*, ..5ème Edition. 1983.
- [11] LUCIENNE. A. D, *Les plantes médicinales d'Algérie*, 2èmeEdition. 2010.
- [12] « Absinthe / *Artemisia absinthium* ». [En ligne]. Disponible sur: [http://www.bonneplante.com/absinthe_\(plante\).php](http://www.bonneplante.com/absinthe_(plante).php). [Consulté le: 26-mai-2018].
- [13] « L'absinthe - Encyclopédie - Azarius ». [En ligne]. Disponible sur: <https://azarius.fr/encyclopedia/19/Labsinthe/>. [Consulté le: 16-mars-2018].
- [14] S. A. Padosch, D. W. Lachenmeier, et L. U. Kröner, « Absinthism: a fictitious 19th century syndrome with present impact », *Subst. Abuse Treat. Prev. Policy*, vol. 1, p. 14, mai 2006.

-
- [15] Iserin P, *Larousse Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins*, Ed Larousse. 2001.
- [16] Baytop, « Therapy with Medicinal Plants in Turkey », Istanbul University Press, Istanbul, 1984.
- [17] Sijelmassi A, *Les plantes médicinales du maroc*, 3ème Ed Fennec. Casablanca, 1993.
- [18] Khebri S, « Etude chimique et biologique des huiles essentielle de trois Artemisia », . Mémoire de magistère en chimie organique. Département de chimie. Faculté de sciences. Université Batna., 2011.
- [19] Garnier G ., Bezanger-Beauquesne L . et Debr aux G, *Ressources médicinales de la flors française 2tomes.1511*, Ed Vigot frère. Paris, 1961.
- [20] MANSOUR Sadia, « Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L , Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides - Etude in vivo- », Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF, 2015.
- [21] Jill M. Squiresa, Jorge F.S. Ferreirab, David S. Lindsaya, Anne M. Zajaca, « Effects of artemisinin and Artemisia extracts on Haemonchus contortusin gerbils (Meriones unguiculatus). » *Veterinary Parasitology* 175, p. 103-108, 2011.
- [22] Ait Youssef, M, *Plantes Médicinales de Kabylie*. Paris: IBIS, 2006.
- [23] MANSOUR A., « Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce centaurea AFricanai », 2009.
- [24] Amas., « Food and Agricultural Research Council », *Réduit Mauri.*, 1997.
- [25] Waksmundzka-Hajnos, M. & Sherma, J, « High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. Chromatographic Science Series », p. 477-478, 2011.
- [26] Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand, *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolite secondaires d'importance économique*, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. 2005.
- [27] Manallah A, « Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L. », Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas, sétif, 2012.
- [28] Ahmed Bessas, « Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien », Ingénieur d'état en biologie option controle de qualité et analyses, Université Djillali Liabes, -Sidi Bel Abbes, 2008.

-
- [29] Pr. MARKAOUI Mostafa, « cours de biochimie alimentaire (oxydation des lipides, brunissement enzymatique et non enzymatique). », 2010 2009.
- [30] Dr Sahraoui W, « LES ECOMPOSES PHENOLIQUES », Laboratoire de pharmacognosie.
- [31] Belakhder D., « La pharmacopée Marocaine traditionnelle. Ed. Ibis, press, France, 52- 58pp ». France, p. 52-58, 1997.
- [32] Bruneton J, « Pharmacognosie (photochimie, plante médicinales) », . médicinales internationales, Paris, p. 233-783-1120, 1999.
- [33] P.-G. Pietta, « Flavonoids as Antioxidants », *J. Nat. Prod.*, vol. 63, n° 7, p. 1035-1042, juill. 2000.
- [34] Sadasivam, S. & Thayumanavan, B., *Molecular host plant resistance to pests. de Books in soils, plants and the environment.*, CRC Press., vol. 96. 2003.
- [35] Rabasso, N, « Chimie organique : Généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques », . p. 79, 2006.
- [36] Leinmüller E., Steingass H. and Menke K.H, « Tannins in Ruminant feed stuff », Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim, (Germany), 1991.
- [37] N. BENHAMMOU, « Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien », Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 2011.
- [38] Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B, « Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience& Nutrition*. 4 (6):7.(cited in Mohammedi Z, 2005 », 2003.
- [39] O. I. Aruoma, « Free radicals, antioxidants and international nutrition », *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, vol. 8, n° 1, p. 53-63, mars 1999.
- [40] Favier A, *Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, L'actualité chimique.*, 108-115 vol. 2003.
- [41] J. F. Turrens, A. Alexandre, et A. L. Lehninger, « Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria », *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 237, n° 2, p. 408-414, mars 1985.
- [42] Fulbert J.C. , Cals M.-J, « Les Radicaux libres en biologie clinique », *Pathol Biol*, vol. 49, n° 1, p. 66-77, 1992.

-
- [43] MILANE Hadi, « La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques », Docteur en Sciences, l'Université Louis Pasteur, STRASBOURG I, 2004.
- [44] BOUHADJRA Kahina, « ETUDE DE L'EFFET DES ANTIOXYDANTS NATURELS ET DE SYNTHÈSE SUR LA STABILITÉ OXYDATIVE DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE », Soutenance de magister, UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERI, TIZI- OUZO, 2011.
- [45] M. Valko, Cj. Rhodes, J. Moncol, M. M. Izakovic, et M. Mazur, « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer », *Chem. Biol. Interact.*, vol. 160, n° 1, p. 1-40, 2006.
- [46] J. Pincemail, K. Bonjean, K. Cayeux, et J.-O. Defraigne, « Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 16, n° 4, p. 233-239, 2002.
- [47] MOHAMMEDI Z, « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région du Tlemcen », Thèse de magistère., Université-Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, 2005.
- [48] B. Halliwell, « How to characterize a biological antioxidant », *Free Radic. Res. Commun.*, vol. 9, n° 1, p. 1-32, 1990.
- [49] S. K. Powers et M. J. Jackson, « Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production », *Physiol. Rev.*, vol. 88, n° 4, p. 1243-1276, 2008.
- [50] Barati Elbaz et Le Marechal, « Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. Phytochemistry », vol. 43. p. 309-311, 2008.
- [51] Pastre, J.O.C., « Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. », Thèse de docteur vétérinaire., Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2005.
- [52] BOUTINE D, « Évaluation De L'activité Antioxydante Et Antibactérienne D'une Plante Endémique Algérienne *Ampelodesma Mauritanica*. », Diplôme de Magister Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE., Université Badji Mokhtar, Annaba, 2011.
- [53] Thomas DESMIER, « LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS », UNIVERSITÉ DE LIMOGES Faculté de Pharmacie, 2016.
- [54] A. Favier, « Stress oxydant et pathologies humaines », in *Annales pharmaceutiques françaises*, 2006, vol. 64, p. 390-396.

-
- [55] Z. Hellal, « Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). », Thesis, Université Mouloud Mammeri, 2011.
- [56] HAMADA Djamilia, « Etude Structure Activité des Principes Actifs de la Plante *Anvillea radiata* Asteracea », THÈSE, UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA, 2016.
- [57] V. L. Singleton et J. A. Rossi, « Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents », *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 16, n° 3, p. 144-158, janv. 1965.
- [58] L. Müller, S. Gnoyke, A. M. Popken, et V. Böhm, « Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations », *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 43, n° 6, p. 992-999, 2010.
- [59] M. S. Blois, « Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical », *Nature*, vol. 181, n° 4617, p. 1199-1200, avr. 1958.
- [60] C. Popovici, I. Saykova, et B. Tylkowski, « Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », 2010.
- [61] P. Molyneux, « The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity », *Songklanakarin J Sci Technol*, vol. 26, n° 2, p. 211-219, 2004.
- [62] B. S. Maataoui, A. Hmyene, et S. Hilali, « Activites antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie [*Opuntia ficus indica*] », *Leban. Sci. J.*, vol. 7, n° 1, p. 3-8, 2006.
- [63] T. Ak et İ. Gülçin, « Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin », *Chem. Biol. Interact.*, vol. 174, n° 1, p. 27-37, 2008.
- [64] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, et C. Rice-Evans, « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, n° 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- [65] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, et S. E. Karademir, « Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, n° 26, p. 7970-7981, 2004.
- [66] M. Özyürek, K. Güçlü, et R. Apak, « The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement », *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 30, n° 4, p. 652-664, 2011.

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude et l'évaluation des propriétés antioxydantes de trois extraits (CHCl_3 , MeOH, ACETATE) de plante *Artemisia absinthium* par trois méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC).

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antioxydante ont donné une bonne efficacité antioxydante de l'extrait méthanolique (MeOH), pour DPPH ($\text{IC}_{50} = 62,66 \mu\text{g/ml}$), pour ABTS ($\text{IC}_{50} = 41,57 \mu\text{g/ml}$) et pour CUPRAC ($\text{IC}_{50} = 38,15 \mu\text{g/ml}$).

Le dosage quantitatif des flavonoïdes et des polyphénols témoigne la richesse de l'extrait méthanolique (MeOH) en polyphénols et l'extrait chloroformique en flavonoïdes.

Mots clés : *Artemisia absinthium*, polyphénols, flavonoïdes, antioxydant, DPPH, ABTS, CUPRAC.

Abstract

In the context of the discovery of new antioxidants from natural sources, we are interested in this work to study and evaluate the antioxidant properties of three extracts (CHCl₃, MeOH, ACETATE) of plant *Artemisia absinthium* by three methods (DPPH, ABTS, CUPRAC).

The obtained results of evaluation of activity antioxidants gave a good antioxidant effectiveness of the methanolic extract (MeOH), for DPPH (IC₅₀% = 62,66µg / ml), for ABTS (IC₅₀ = 41,57µg / ml) and for CUPRAC (IC₅₀ = 38.15 µg / ml)

The quantitative determination of flavonoids and polyphenols testifies the richness of the methanol extract (MeOH) in polyphenols and the chloroformic extract in flavonoids.

Key Words:

Artemisia absinthium, polyphénol, flavonoïde, antioxydant activity, DPPH, ABTS, CUPRAC.

ملخص

يهدف عملنا إلى إجراء الدراسة حول مضادات الأكسدة من المصادر الطبيعية وتقييم خصائص مضادات الأكسدة لثلاثة مستخلصات كلوروفورم ميثانولي و أسينات الأثيل من نبات *artémisia absinthuim* بثلاث طرق وهي 'DPPH' ، 'ABTS' ، 'CUPRAC'.

أعطت النتائج التي تم الحصول عليها من تقييم نشاط مضادات الأكسدة فعالية مضادة للأكسدة من المستخلص الميثانولي حيث قدر الـ IC_{50} لـ DPPH \rightarrow $IC_{50} = 62,66 \mu g / ml$ وكذلك لـ ABTS $(IC_{50} = 41,57 \mu g / ml)$ كما أنه لـ CUPRAC $(IC_{50} = 38.15 \mu g / ml)$

يشهد التقدير الكمي لفلافونيدات وبوليفينول على ثراء مستخلص الميثانول بالبوليفينول و مستخلص الكلوروفورم بلفلافونيدات

الكلمات الاستدلالية:

Artemisia absinthium البوليفينول، الفلافونويد، مضادات الأكسدة ، 'DPPH' ، 'ABTS' ، 'CUPRAC'

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude et l'évaluation des propriétés antioxydantes de trois extraits (CHCl_3 , MeOH, ACETATE) de plante *Artemisia absinthium* par trois méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC).

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antioxydante ont donné une bonne efficacité antioxydante de l'extrait méthanolique (MeOH), pour DPPH ($\text{IC}_{50} = 62,66 \mu\text{g/ml}$), pour ABTS ($\text{IC}_{50} = 41,57 \mu\text{g/ml}$) et pour CUPRAC ($\text{IC}_{50} = 38,15 \mu\text{g/ml}$).

Le dosage quantitatif des flavonoïdes et des polyphénols témoigne la richesse de l'extrait méthanolique (MeOH) en polyphénols et l'extrait chloroformique en flavonoïdes.

Mots clés : *Artemisia absinthium*, polyphénols, flavonoïdes, antioxydant, DPPH, ABTS, CUPRAC.