الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie كلية علوم الطبيعة والحياة
Département de Biochimie et biologie moléculaire et cellulaire
قسم البيو كيمياء والبيو لوجيا الجزيئية و الخلوية

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

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Etude du pouvoir antioxydant *d'Artemisia Herba alba*

Présenté par : BOUNAAS Safia
CHOUARFA Yousra

Le 26/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : KASSALAOUAR M. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice 1 : BENNAMOUN L. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice 2 : MOUSSAOUI S. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné l'envie et la force pour réaliser ce travail.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection. On remercie leur dévouement, leur consacre de temps et leur présence constante au cours de toutes ces années d'études. « Merci, ce travail est le vôtre ». On vous aime...

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur, Dr **KASSA-LAOUAR M** de nous avoir proposée ce sujet et nous avoir encadre et, nous la remercions pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, ses bons conseils, ses immenses contributions, critiques constructives, patience et compréhension.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche.

Nous souhaiterons également remercier nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie pendant les cinq années du notre parcours et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Safia, Yousra

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A mon chère père **ZOUAOUI** et ma très chère mère **FAHIMA**, sans eux je ne suis pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts et leurs encouragements durant toutes mes études.

A mon cher frère **IBRAHIM**.

A mes chères sœurs, **IMANE, MERWA, HAMIDA, YASSEMINE** et surtout ma grand sœur **HADJER** pour leur amour, leur soutient, et leur encouragement tout au long de ma vie. J'ai les remercie du fond du cœur.

A mes neveux **YOUNES**, **ZAKARIA**, **ZIYAD**, **YASSINE**. A ma nièce et petite princesse **DJEMANA** je vous adore.

A mon oncle **Abd ERAHMAN**, merci beaucoup de votre présence permanente avec moi et de votre soutien et à sa femme **SIHAM** et sa fille **MERIEM** et tous ses enfants.

A **YOUCEF, SALEH, WALID et AZIZ,** merci de votre aide.

A **AHLEM, CHOUROUK, ZAHRA** et tous mes amis. Et une dédicace spéciale à ma précieuse amie **SARA,** merci de votre aide permanente et d'être avec moi.

A mon binôme et mon ami **YOUSRA CHOUARFA** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.

SAFIA BOUNAAS.

Dédicace

Je dédié ce travail à Ma famille **CHOUARFA** et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents :

A mon chère père **MOHEMMED SALAH** ; mon plus haute exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant, pour son soutien, ses conseils Ses encouragements, et son sacrifice.

A ma très chère mère **FATIMA**, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi, que dieu vous garde Mama.

A ma très adorable sœurs **SAMIA**, mes chers frère **WASSIM** et **YEHYA** pour leur soutien et leurs encouragements.

A mes amis proches **KHAOULA** et **ZAHRA** pour leur présence à mes côtés, et une dédicace spéciale à mon ami et mon binôme **SAFIA BOUNAAS**, qui a partager avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et en fin, à mon cher fiancé **MOHEMMED**, pour son soutien, et leur présence à mes côtés.

YOUSRA CHOUARFA.

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'- azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6- sulfonique Acide)

$ACNH_4$: Acétate d'ammonium

ADN : Acide Désoxyribonucléique

$Al(NO_3)_3, 9H_2O$: Nitrate d'aluminium

$ALCL_3$: Trichloure d'aluminium

APX : Ascorbate Peroxydase

Ar $O^{\cdot}$: Radical Aryloxyle

Ar OH : Polyphénols

ASA : Ascorbate

BHA : Hydroxyanisolebutylé

BHT : Hydroxytaluènebutylé

C_2H_6O : Ethanol

$C_4H_8O_2$: Acétate d'éthyle

CAT : Catalase

CH_3COOK : Potassium acétate

CH_3OH : Méthanol

$CH_4H_{10}O$: Buthanol

$CuCl_2\ 2H_2O$: Acétate d'ammonium

CUPRAC : Cupir ion Reducing Antioxydant Capacity

DPPH : (2,2'diphényl-1-picrylhydrazyl)

EA : Extrait d'acétat d'éthyle

EB : Extrait butanolique

EE : Extrait éthanolique

EM : Extrait méthanolique

ERA : Espèce Réactives de l'azote

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène

FCR : Folin-ciocalteu

$FeCl_3$: Chlorure Ferrique

FL_O : Radical Flavonoxy

Gpx : Glutathion Peroxydase

GSSG : Glutathion Oxydé

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

$H_3PMo_{12}O_{40}$: Acide phosphomohybdique

$H_3PW_{12}O_{40}$: Acide phosphotungstique

HCl : Acide Chlorhydrique

HE : Huiles Essentielles

HNO_2 : Acide nitreux

$HO_2^{\cdot}$: Radical perhydroxyle

HOCL : Acide Hypochlorique

IC_{50} : Concentration inhibitrice à 50%

MO_8O_{23} : molybdène

N_2O_3 : Trioxyde d'azote

Na_2CO_3 : Carbonate de Sodium

Na_2HPO_4 : Phosphate dibasique

Na_3Po_4 : Phosphate de Sodium

NACL : Chlorure de Sodium

NaCL : Tampon phpsphate

NaH_2PO_4 : Phosphate monobasique

NO : Azote

NO^- : Monoxyde d'azote

NO_2 : Dioxyde d'azote

NO_2^- : Ion nitrate

$^1O_2$: Oxygène singulet

$O_2^{\cdot -}$: Anion superoxyde

$OH^{\cdot}$: Radical Hydroxyle

$ONOO^-$: Peroxynitrite

POD : Peroxydase

R : Rendement

$RO^{\cdot}$: Radicale Secondaire Alkoxyle

RO_2^- : Radical peroxyle lipidique

$ROO^{\cdot}$: Peroxyles

SOD : Superoxyde Dismutase

TCA : Trichlor Acétique

W_8O_{23} : Oxydes de tugstène

Liste des figures

Figure 1: *Artemisia herba alba* 3

Figure 2: Distribution géographique *d'Artemisia herba alba* dans le bassin méditerrané 5

Figure 3: Aire de distribution *d'Artemisia herba-alba* en Algérie 5

Figure 4: Illustration des différents aspects morphologiques *d'Artemisia herba alba* 6

Figure 5: Racine d'*Artemisia herba alba* 7

Figure 6: Flavonïdes d'*Artemisia herba alba* 9

Figure 7: Composition des HE de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* 10

Figure 8: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène 12

Figure 9: Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène 16

Figure 10: Structure de la vitamine C 19

Figure 11: Structure de la vitamine E 19

Figure 12: Exemple de carotène et xanthophylle 20

Figure 13: Piégeage des ERO ($X^{\cdot}$) par un noyau catéchol 21

Figure 14: Mécanisme de piégeage d'un radical par les flavonoïdes 21

Figure 15: Protocol d'étude expérimental 26

Figure 16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH 27

Figure 17: Courbe d'étalonnage d'acide gallique 51

Figure 18: Courbe d'étalonnage de la quercétine 52

Figure 19: Rendements des extraits de d'*Artemisia herba ala.* (EA) Extrait d'acétat d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 30

Figure 20: IC_{50} des extraits d*'Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test DPPH. (EA) extrait d'acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 32

Figure 21: IC_{50} des extraits d*'Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test ABTS. (EA) extrait d'acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 33

Figure 22: IC_{50} des extraits d*'Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test CUPRAC. (EA) extrait d'acétat d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 34

Figure 23: Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Artemisia herba alba.* (EA) extrait acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 36

Figure 24: Teneur en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba.* (EA) extrait acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique 37

Liste des Tableaux

Tableau 1: Espèces réactives de l'oxygène (ERO) 14

Tableau 2: Espèces réactives de l'azote 15

Sommaire

Table de matiére

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction 1

Partie 1 bibliographique

1 ***Artemisia herba alba*** 3
1.1 Historique 3
1.2 Appellation 3
1.3 Taxonomie 4
1.4 Localisation géographique 4
1.5 Description de la plante 6
1.6 Composition chimique 7
1.6.1 Lactones Sesquiterpène 8
1.6.2 Flavonoïdes 8
1.6.3 Huiles essentielles 9
1.7 Utilisation d'*Artemisia herba alba* 10
1.8 Toxicité de la plante 11
1.8.1 Partie toxique 11
1.8.2 Toxicité rénal 11
2 **Stress oxydatif** 11
2.1 Définition 11
2.2 Radicaux libres 12
2.2.1 Espèces réactives de l'oxygène 12
2.2.2 Espèces radicalaires azotées (ERA) 14
a) Espèces azotées radicalaires 14
b) Espèces azotées non radicalaires 14
2.2.3 Espèces libres non oxygénées 15
2.3 Origine des radicaux libres 15
2.4 Rôle des radicaux libres 16
2.5 Cibles des radicaux libres 16
2.5.1 Dommages oxydatifs des protéines 16
2.5.2 Dommages oxydatifs des lipides 17
2.5.3 Dommages oxydatifs de l'ADN 17

3 **Antioxydants** 17
3.1 Classification des antioxydants 17
3.1.1 Antioxydants non enzymatiques 17
a) Glutathion 17
b) Acide urique 18
c) Oligoéléments 18
d) Vitamine C 18
e) Vitamine E 19
f) Caroténoïdes 19
g) Polyphénols 20
h) Flavonoïdes 21
3.1.2 Antioxydants enzymatiques 21
a) Superoxyde dismutase 21
b) Catalase 22
c) Glutathion peroxydase 22
d) Peroxydase 22
e) Ascorbate peroxydase 23
3.1.3 Antioxydants synthétiques 23
3.2 Antioxydant d'*Artemisia herba alba* 23

Partie 2 Matériel et méthodes

1 **Objectif** 24
2 **Echantillonnage** 24
3 **Lavage** 24
4 **Séchage** 24
5 **Broyage** 24
6 **Préparation des extraits** 25
7 **Rendements des extraits** 25
8 **Tests des activités antioxydants *in vitro*** 26
8.1 Test de DPPH 27
8.1.1 Principe 27
8.1.2 Procédure 27
8.2 Réduction du radical ABTS 27
8.2.1 Principe 27
8.2.2 Procédure 28

8.3 Test CUPRAC 28
8.3.1 Principe 28
8.3.2 Procédure 28
9 **Détermination de la teneur en composés phénoliques** 28
9.1 Dosage des phénols totaux 28
9.1.1 Principe 28
9.1.2 Procédure 29
9.2 Flavonoïdes totaux 29
9.2.1 Principe 29
9.2.2 Procédure 29

Partie 3 Résultas et discussion

1 **Rendements d'extraction** 30
2 **Activité antioxydante** 31
2.1 Activité antiradicalaire au DPPH 31
2.2 Activité antiradicalaire à l'ABTS 33
2.3 Test CUPRAC 34
3 **Teneurs en composées polyphénols** 35
3.1 Teneurs en polyphénols totaux 35
3.2 Teneurs en flavonoïdes 37
Conclusion 39
Références 40
Annexes
Résumés

¾ Le radical hydroxyle $OH^{\cdot}$ & ¶ H V W X Q U D G L F D O U p D F W L I W U q V milieux biologiques, sa durée de vie étant 10^{-11} s. Il peut réagir avec plusieurs molécules dans son entourage comme les acides gras polyinsaturés, les acides nucléiques, les protéines et les glucides. $^{\cdot}OH$ peut être produit par la réaction de Fenton, ou par la scission homolytique, ou par la réaction entre le monoxyde G ¶ D] R W H (Lehouis, 2011).

- / D U p D F W L R Q G H G H V V D W H U

$$^{\cdot-} + \quad + + \quad _2 \quad _2 + \quad ^{3+} : \quad ^{\cdot} + \quad _2 + \quad ^{2+}$$

- La réaction de Fenton :

$$_2 \quad _2 + \quad ^{2+} + \quad : \quad ^{3+} + H_2O_2 + \quad ^{\cdot}$$

¾ / ¶ R [\ J q Q H V (O_2) Q J X O H U W T X H O ¶ p Q H J U J ¶ L R [\ J q Q H D S H S R U H W S E G D Q V X Q p W D W V L Q J X O H W U H S U p V H Q W D Q W X Q H I R forme très énergétique, très réactive, et peut oxyder de nombreuses molécules. Il H V W S U R G X L W j S D U W L U G H O ¶ L R Q : V X S H U R [\ G H V H O

$$O^{\cdot} - O^{\cdot} \longrightarrow ^{1} \quad \text{VRXV O¶DFWLRQ GH OD OXPLqUH .RRSSH}$$

¾ Le peroxyde de H_2O_2 : il est considéré comme une espèce réactive dérivée de O ¶ R [\ J q Q H P r P H V ¶ L O Q ¶ D S D V G H V W U X F W X U H U relativement faible, mais elle est D S D E O H G ¶ L Q L W L H U R X G H S U R S D oxydatifs et réagit avec des ions $^{2+}$ Fe et Cu^{+} partiellement réduits, pour former des radicaux hydroxyles dans la réaction de Fenton (Bousbaa et Lanani, 2021).

Les radicaux libres interviennent dans les phénomènes du stress oxydant, par la S U p V H Q F H G ¶ X Q p O H F W U R Q F p O L E D W D L U H V X U X Q D W F R Q I q U H O D G p Q R P L Q D W L R Q G H V G ¶ H V S q F H V U p D F W L Y H V G (ERO) (Tableau 1) H W O H V H V S q F H V U p D F W L Y H V G H O ¶ D] R W H (Boulegroune et Ardjoun, 2019).

Tableau 1: Espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Boulegroune et Ardjoun, 2019).

Espèces oxygénées réactives radicalaires	Espèces oxygénées réactives non-radicalaires
$O_2^{\cdot-}$ Anion radical superoxyde	$^1O_2$ Oxygène singulet
$HO_2^{\cdot}$ Radical perhydroxyle	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
$HO^{\cdot}$ Radical hydroxyle	HOCl Acide hypochlorique
$RO_2^{\cdot}$ Radical peroxyle	
$RO^{\cdot}$: Radical secondaire alkoxyle	

2.2.2 Espèces radicalaires azotées (ERA)

a) Espèces azotées radicalaires

/H PROQR[\GH GH O¶D]RWH TXL D IDLW O¶REMHW GH QRPEUHXVHV UHYXHV GpFHQQLH D RFFXSp XQH SODFH FRQVLGpUDEOH HQ E oxydatif en limitant les effets oxydatifs et anti-inflammatoires, il est paradoxalement DVVRFLp j GH QRPEUHXVHV PDODGLHV neurodégénératives TXH O les lésions neuronales dégénératives (Rezaire, 2012).

b) Espèces azotées non radicalaires

Elles se caractérisent par leur forte diffusivité dans la membrane cellulaire et leur réactivité. Les radicaux libres d'oxyde nitrique peuvent réagir facilement avec la plupart des espèces d'oxygène et se convertit en dioxyde d'azote ($2NO + O_2 \rightarrow 2\,NO_2$), qui peut générer du trioxyde d'azote ($NO + NO_2 \rightarrow N_2O_3$), ils forment éventuellement des ions nitrates stables ($N_2O_3 + H_2O \rightarrow 2\,H^+ + 2\,NO_3^-$). De plus, l'oxyde nitrique forme avec l'ion superoxyde le peroxynitrite ($NO^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \rightarrow ONOO^-$) ce dernier est moins réactif que son précurseur azoté, mais UHVSRQVDEOH GH O¶DWLRQ GH QRPEUHXVHV ELRP nucléiques) (Rezaire, 2012).

Tableau 2: Espèces réactives de l'azote (Boulegroune et Ardjoun, 2019).

Espèces azotées réactives radicalaires	Espèces azotées réactives non-radicalaires
$NO^{\bullet}$: Monoxyde d'azote	NO_2 : Dioxyde d'azote
	N_2O_3: Trioxyde d'azote
	NO_2^- : Ion nitrate
	$ONOO^-$: Peroxynitrite

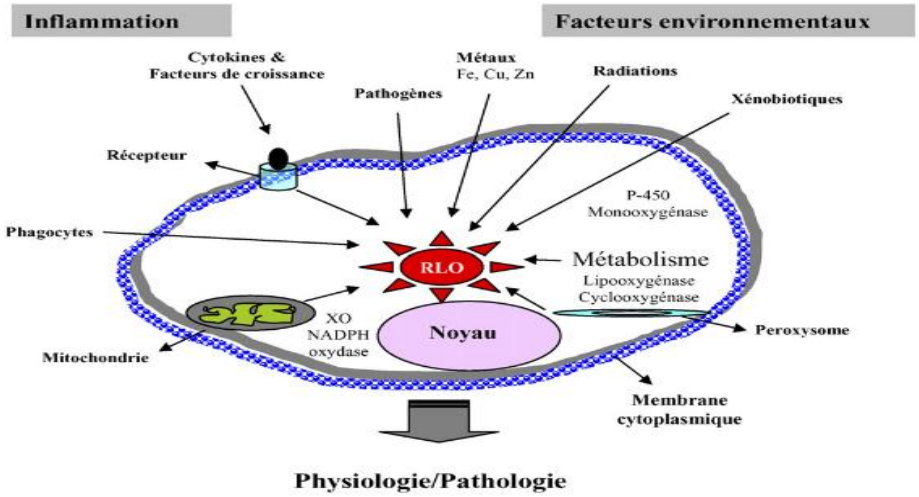
2.2.3 Espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont le produit de la réaction de certaines molécules avec les ERO. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules, entraînant la multiplication des réactions oxydatives et la diffusion des dommages oxydatifs. On citera par exemple les acides gras peroxydés, les composants protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques (Sorg, 2004).

2.3 Origine des radicaux libres

Les espèces radicalaires peuvent avoir des origines endogène ou exogène

- Production endogène tel que les réactions enzymatiques (lipoxygénase, xanthine oxydase et NADPH oxydase), phagocytoses, peroxysomes, mitochondries, métaux de transition ou par auto-oxydation (Fig.9.) (Bndif, 2017).
- Formation par voie exogène via l'ozone, produits chimiques et tabagisme (Fig.9.) (Bndif, 2017).



XO : xanthine oxydase ; P450 : cytochrome P450

Figure 9: Origine et interactions des radicaux libres (Valéry etal., 2007).

2.4 Rôle des radicaux libres

Les rôles des ERO sont très compliqués. Selon leur concentration, ils peuvent produire des effets toxiques ou physiologiques. A concentration faible, ils régulent le phénomène d'apoptose, en entraînant la mort cellulaire. Ils activent des facteurs de transcription, eux-mêmes responsable de l'activation des gènes impliqués dans les réponses immunitaires (Phagocytose). Ils régulent aussi l'expression des gènes de structure codant des enzymes antioxydants (Zerargui, 2015).

2.5 Cibles des radicaux libres

Les radicaux libres attaquent les biomolécules comme les protéines, les lipides et l'ADN (Favier, 2003).

2.5.1 Dommages oxydatifs des protéines

En présence des ERO, les protéines sont dénaturées, telle que les protéines de structure, les protéines de reconnaissance moléculaire (les enzymes et les anticorps). Les attaques visent principalement les acides aminés à chaine latérale aromatiques (tyrosine, histamine, phénylalanine, tryptophane) et les acides aminés soufrées (Benyamina et al., 2009). Ces groupements

carboxyle dans la protéine et entrainent souvent une perte de la fonction catalytique ou structurelle de la protéine affectée (Levine, 2002).

2.5.2 Dommages oxydatifs des lipides

/D SHUR[\GDWLRQ OLSLGLTXH HVW les acides gras SDU O¶D SRO\LQVDWXUpV O¶DFLGH OLQROpLTXH OH GLQ UpSRQVH HVW j O¶RULJLQH GH OpVLRQV WLVVXODLUHV inflammatoires, le vieillissement et aux lésions vasculaires YHVH TXH O¶DWKpURVFOp 5DFFDK /H UDGLFDO K\GUR[\OH HVW FDSDEOH carbone entre les deux doubles liaisons, formant un radicale diène conjugué, qui sera R[\Gp HQ XQ UDGLFDO SHUR[\OH (Lemhadri et al., 2004) F H G¶R[\JqQH

2.5.3 'RPPDJHV R[\GDWLIV GH O¶$'1

/¶$'1 HVW JpQpUDOHPHQW XQH FLEOH privilégiée SRUWDQW interagir avec le désoxyribose et ses bases puriques et pyrimidiques. Ces changements VWUXFWXUHOV FRQGXLVHQW j G¶pYHQWXHOV termes PRGL (Koechlin-Remontxo, 2006).

3 Antioxydants

Les antioxydants sont des substances naturelles ou chimiques capables de neutraliser, ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans O¶RUJDQLVPH (Halliwell et al., 2015) HW

3.1 Classification des antioxydants

Les systèmes de défense antioxydants sont classés en deux systèmes non enzymatiques et systèmes enzymatiques

3.1.1 Antioxydants non enzymatiques

a) Glutathion

Glutathion (GSH sous sa forme réduite) est un tri peptide produit par la condensation de O¶DFLGH JOXWDPLTXH GH O¶DFLGH DPLQp HW G

cyctéinyl-glycine). Il peut réagir directement avec les radicaux OH, $O_2^{\cdot-}$ et bloque la FKDvQH G¶R[\GDWLRQ ,O VH WURXYH VRXV OD IRUPH U une autre molécule de glutathion radicalaire et forme ainsi du glutathion oxydé GSSG sous forme de disulfure. La proportion GSH/GGSG est couramment utilisée comme un marqueur des niveaux d'oxydation cellulaire. Pour cela, le maintien de niveaux élevés en glutathion peut rWUH QpFHVVDLUH SRXU SUpYHQLU O oxydatifs (Béguel, 2012).

b) Acide urique

$ S+ SK\VLRORJLTXH O¶DFLGH XULTXH $+ W SUpVHQ SURWqJH OHV SURWpLQHV GH OD QLWUDWLRQ FRPPH L un puissant antioxydant contre les radicaux ROO, $ROO^{\cdot}$ et $NOO^{\cdot}$ (Matou, 2019).

c) Oligoéléments

Les oligoéléments (cuivre, zinc, sélénium, manganèse, fer, etc..) ne sont pas eux-mêmes des antioxydants, mais agit comme un cofacteur pour les enzymes qui co Q VWLWXHQW OD SUHPLqUH OLJQH GH GpIHQVH G¶DW FDWDO\VHXUV UHGR[SRXU FHV HQ]\PHV /HXU DSSRUW maintenir le bon fonctionnement de la machinerie antioxydante cellulaire et donc O¶pTXLOLEUH G'autre part, certains oligoéléments, selon leur état et leur FRQFHQWUDWLRQ SHXYHQW rWUH j O¶RULJLQH GH OD redox telle que dans le cas du fer et la réaction de Fenton (Djenidi, 2019).

d) Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique se trouve dans les légumes, le chou, les poivrons, le persil, les agrumes et Kiwi. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Fig.10.) (Nsemi, 2010).

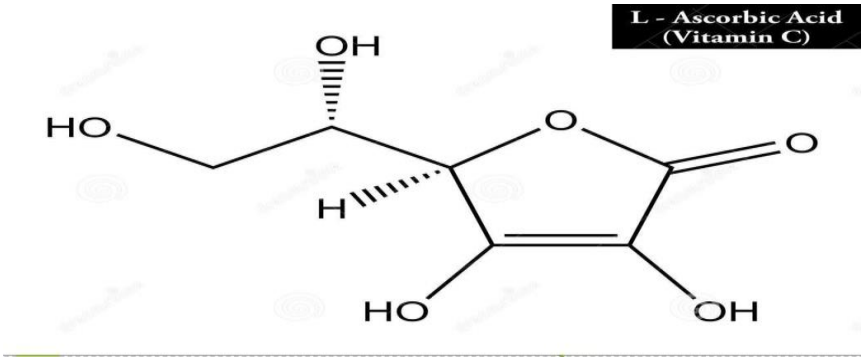


Figura 10: Structure de la vitamine C (Kadi, 2014).

e) Vitamine E

/D YLWDPLQH (RX O¶DOSKD WRFRSKpURO SRVVqGH LVRPqUHV . HW 1 DYHF XQH DFWLYLWp GH (Fig.11) (Bahi, 2015) DFWLYLWp Sa structure lui permet de piéger les radicaux libres.

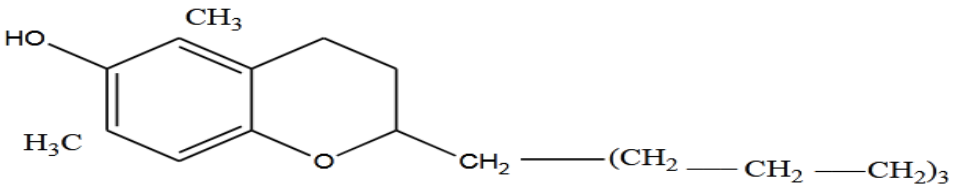


Figure 11: Structure de la vitamine E (Letkessas et Ladraa, 2017).

La vitamine E est un antioxydant liposoluble, elle capte les radicaux peroxyles lipidique RO_2. La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome hydrogène et se transforme en radical alpha WRFRSKpU\OH FH UDGLFDO FDSWH OHV UDGLFDX[VX radicaux hyroxyles (Letkesses et Ladraa, 2017).

f) Caroténoïdes

Les caroténoïdes possèdent un rôle protecteur incluant la désactivation des espèces chimiques réactives telque les alkyles (R) et les peroxyles (ROO) (Chaanforan, 2010). Les caroténoïdes sont des pigments extraits de plantes et de microorganismes. Ils sont divisés en deux groupes principaux les carotènes et les xantophylles(Fig.12.) Leur activité antioxydante est liée à leurs longues chaînes polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $RO^{\cdot}$, $HO^{\cdot}$, $O_2^{\cdot-}$ et R par VLPSOH DGGLWLRQ pOHFWURSKLOH HW WUDQVIHUW G¶p

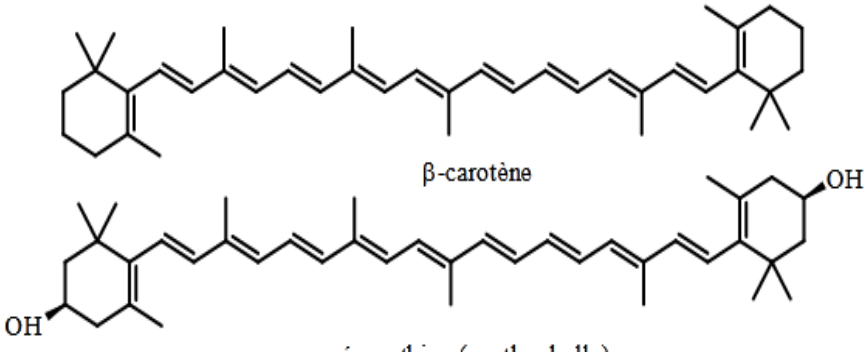


Figure 12: Exemple de carotène et xanthophylle (Rezaire, 2012).

$$Car + ROO + H^{+} \longrightarrow Car^{+} + ROOH$$

$$Car\text{-}H + ROO \longrightarrow Car + ROOH$$

$$Car + ROO \longrightarrow {}^{\cdot}Car\text{-}OOR$$

La majorité des caroténoïdes possèdent une activité antioxydante grâce à leur structure chimique comportant une longue chaine de polyéne riche en électrons F R P S R U W D Q W G H V O L D L V R Q V F R Q M X J X p H V V X V F H S W L E chimique cap D E O H G H Q H X W U D O L V H U O ¶ R [\ J q Q H V L Q J X O L H U 2014).

g) Polyphénols

La réduction de divers radicaux libres par les polyphénols a été largement étudiée pour identifier les principaux composants de l'activité antioxydante. En raison de leur faible potentiel redox, les polyphénols (ArOH) peuvent réduire rapidement les radicaux oxydatifs comme le superoxyde, le peroxyde (ROO) le transfert d'alcoxyle (RO) et d'hydroxyle hydrogène (Achat, 2013).

$$Ar\text{-}OH + X^{\cdot} \longrightarrow Ar\text{-}O^{\cdot} + XH.$$

Ou :

X 5 H S U p V H Q W H O ¶ X Q H G H V V X V (5 2 P H Q W L R Q Q p H V F L

Ar-O U D G L F D O D U \ O R [\ O H T X L V ¶ L O V ¶ D J L W G ¶ X Q Q R \ D X radical pour former une quinone plus stable (Fig.13.) (Achat, 2013).

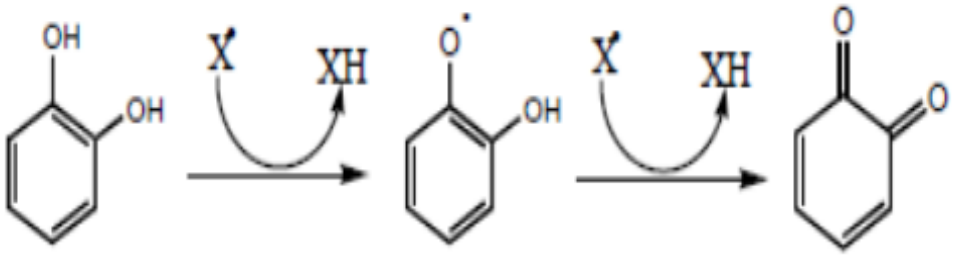


Figure 13: Piégeage des ERO (X•) par un noyau catéchol (Achat, 2013).

h) Flavonoïdes

Les flavonoïdes regroupent une très large gamme de composés polyphénoliques. Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbones. Une grande partie de l'activité biologique des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur (Hadj Salem, 2009).

Les flavonoïdes avec leur structure peuvent réagir avec les ERO par exemple les anions superoxyde, radicaux libres hydroxyle, alkoxyle et peroxyle, par transfert G ¶ K \ G U R J q Q H Y L V U p D F W L R

Fl ±OH+ R → Fl-O· + RH

Ou R: représente le radical libre et Fl-O: un radical flavonoxy qui réagir avec un autre radicale et donner un composé stable (Fig. 14.).

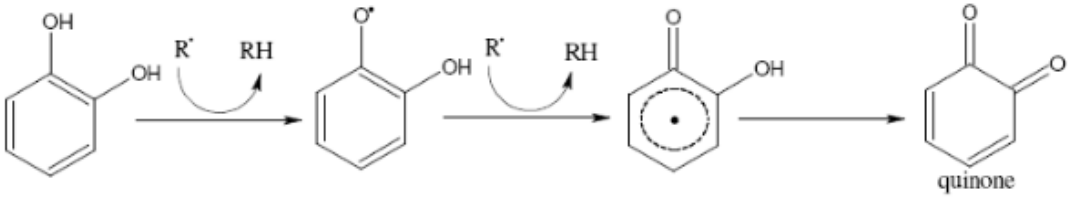


Figure 14: 0 p F D Q L V P H G H S L p J H D J H G H V I O D Y R Q R ï G H V (R a c h e d , 2 0 0 9)

3.1.2 Antioxydants enzymatiques

a) Superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

Le superoxyde dismutase convertit le radical superoxyde en peroxyde G ¶ K \ G U R J q Q H 6 H O R Q O H F R I D F W H X U P p W D O O L T X H F H V

classes, la SOD cytosolique (Cu- et Zn- dépendant), la SOD mitochondriale (Mn- dépendante) et le SOD extracellulaire. SOD est une des enzymes cellulaires les plus importantes et la plus efficace antioxydante de toutes les cellules vasculaires elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène qui peut être létale.

$$2H^{+} + 2\,O_2^{\cdot -} \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Le peroxyde d'hydrogène produit par la SOD est ensuite réduit en eau par la catalase (Zerargui, 2015).

b) Catalase(CAT, EC 1.11.1.6)

La catalase est l'une des plus importantes enzymes antioxydantes présentes dans presque tous les organismes aérobies. La catalase décompose deux molécules de peroxyde d'hydrogène en une molécule d'oxygène et deux molécules d'eau (Aouni, 2011).

c) Glutathion peroxydase (Gpx)

La glutathion peroxydase est capable de dégrader H_2O_2 en une molécule d'eau (H_2O) et O_2. Chez les mammifères, il existe quatre formes de GPx sélénocystéine (Cloutier, 2009). Les GPx1, GPx2 et GPx3 préfèrent toujours H_2O_2 comme substrats, alors que le GPx4 peut agir directement sur les hydroperoxydes de phospholipides, de cholestérol et d'acides gras libres par la phospholipase (Chabory, 2012).

d) Peroxydase (POD, EC 1.11.1.7)

Comme toutes les peroxydases, la POD est une protéine à hème qui catalyse la réduction de H_2O_2 en H_2O via une variété de substrats aromatiques (donneurs de protons). Les peroxydases sont largement distribuées dans les tissus végétaux et animaux.

e) Ascorbate peroxydase (APX, EC 1.11.11)

Les ascorbates peroxydases (APX) appartiennent à la classe 1 des peroxydes. Ils ont été détectés dans tous les organoplastiques contenant des chloroplastes (Christophe et al., /¶$3; MRXH XQ U{OH GDQV OH SLpJHDJH cytosol, la mitochondrie et les peroxysomes (APX microsomal) GRQQHXU G¶pOHFWURQV YHUV OH SHUR[\VRPH (Chaves et al., 2010).

3.1.3 Antioxydants synthétiques

Les antioxydants de synthèse sont incorporés dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés et parfois dans des phases aqueuses contenant des extraits végétaux riches en oxydase. Ils sont généralement utilisés à des concentrations dix fois plus faibles que les conservateurs. Ce sont O¶K\GUR[\WROXqQH EXW\Op %+7 O¶K\GUR[\DQLVROH EXW\Op %+$ OHV lauryle (Bouhadjra, 2011).

3.2 Antioxydant d¶$UWHPLVLD KHUED DOED

/D SDUWLH DpULHQQH G¶Artemisia herba alba possède une activité antioxydante importante. Cette dernière est due à la richesse de cette partie en composés doués G¶DFWLYLWp antioxydante comme: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins. Ces FRQVWLWXDQWV H[HUFHQW OHXUV DFWLRQV DQWLR[\GDQWHV VRLW GLUHFWHPHQW soit O¶K\GUR[\OH FRPPH LOV LQKLEHQW OD SHUR[\GDWLRQ GHV OLSLGHV microsomes (Djali et Hamadi, 2017).

Des études réalisées sur certaines plantes médicinales, y compris Artemisia alba, montrent que ces plantes contiennent une forte teneur en composés phénoliques par rapport aux plantes alimentaires courantes. Il a été également noté dans ces études, que ces plantes sont de forts piégeurs de radicaux libres et ils peuvent être considérés FRPPH XQH H[FHOOHQWH VRXUFH G¶DQWLR[\GDQWV QDWXUHOV GH PrPH commercial (Mansour Sadia, 2015). Une autre étude réalisée sur les extraits des feuilles de O¶$UWHPLVLD par Khedjiet Zeghad (2018) indique que O¶HQVHPEOH GHV H[WUDLWV GH OD SODQWH SUpVHQWH GHV SURSULpWpV qui pourraient avoir plusieurs applications biotechnologiques.

Partie 2 : Matériel et méthodes

1 Objectif

Le travail était réalisé au laboratoire de Biochimie, au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRB_T), Constantine, Algérie. L'objectif principal de la présente étude est basé sur l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de la partie aérienne (feuilles et tiges) d'*Artemisia herba alba*, au moyen de trois tests à savoir : le balayage des radicaux libres de DPPH (2,2'diphényl-1-picrylhydrazyl), d'ABTS (2,2'- azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6- sulfonique Acide), le test CUPRAC, et la détermination des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des mêmes extraits précédemment cités.

2 Echantillonnage

La plante récoltée au début du mois de Mars 2018, durant la période de floraison et de la fructification, dans la commune de Djellalde, la wilaya de Khenchela. L'échantillonnage était loin de la pollution, et ceci pour éviter toute modification de la composition chimique de la plante.

3 Lavage

Les échantillons bien nettoyés et rincés àl'eau de robinet courante pour enlever toutes matières étrangères comme le sol, le sable et d'autres impuretés, puis stockées dans un endroit sec et sombre.

4 Séchage

Une fois les échantillons sont nettoyés, ils sont séchés à une température ambiante, dans un endroit aéré et loin de la lumière, afin de permette un meilleur broyage et extraction, et même pour standardiser le taux de l'humidité des échantillons.

5 Broyage

Après le séchage, les échantillons secs obtenus sont broyés par un broyeur électronique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fines. Les poudres sont conservées

dans des boites en verre et couvertes avec du papier aluminium, pour éviter la photo oxydation des substances actives.

6 Préparation des extraits

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de la plante est réalisée par une macération de la poudre des feuilles et tiges. 24g de la poudre sont divisés en quatre parties égales (6g). Chacune est mélangée avec l'éthanole, le méthanol, l'acétate d'éthyle et le butanol, séparément.

Les mélanges sont soumis à une agitation pondant 24h pour la macération, selon le protocole modifié d'Ozer et *al.* (2000). Ensuite les solutions sont filtrés. Les filtrats obtenus sont évaporés à une température précise (l'extrait éthanolique à 40°C pendant 45 min, l'extrait d'acétate, l'extrait butanolique et l'extrait méthanolique à 43°C pendant 1h) sous pression réduite avec un évaporateur rotatif de type BÜCHI R-210. Chaque extrait est récupéré dans une boîte de Pétri puis conservé dans le réfrigérateur à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation (**Fig.15.**).

7 Rendements des extraits

Le rendement de chaque extrait est défini comme étant le rapport entre le poids sec de l'extrait obtenu et le poids du matériel végétal traité. Il est exprimé en pourcentage, et calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{R\% = PE / PMV * 100}$$

R : rendement
PE : poids de l'extrait (g)
PMV : poids de matière végétale (g)

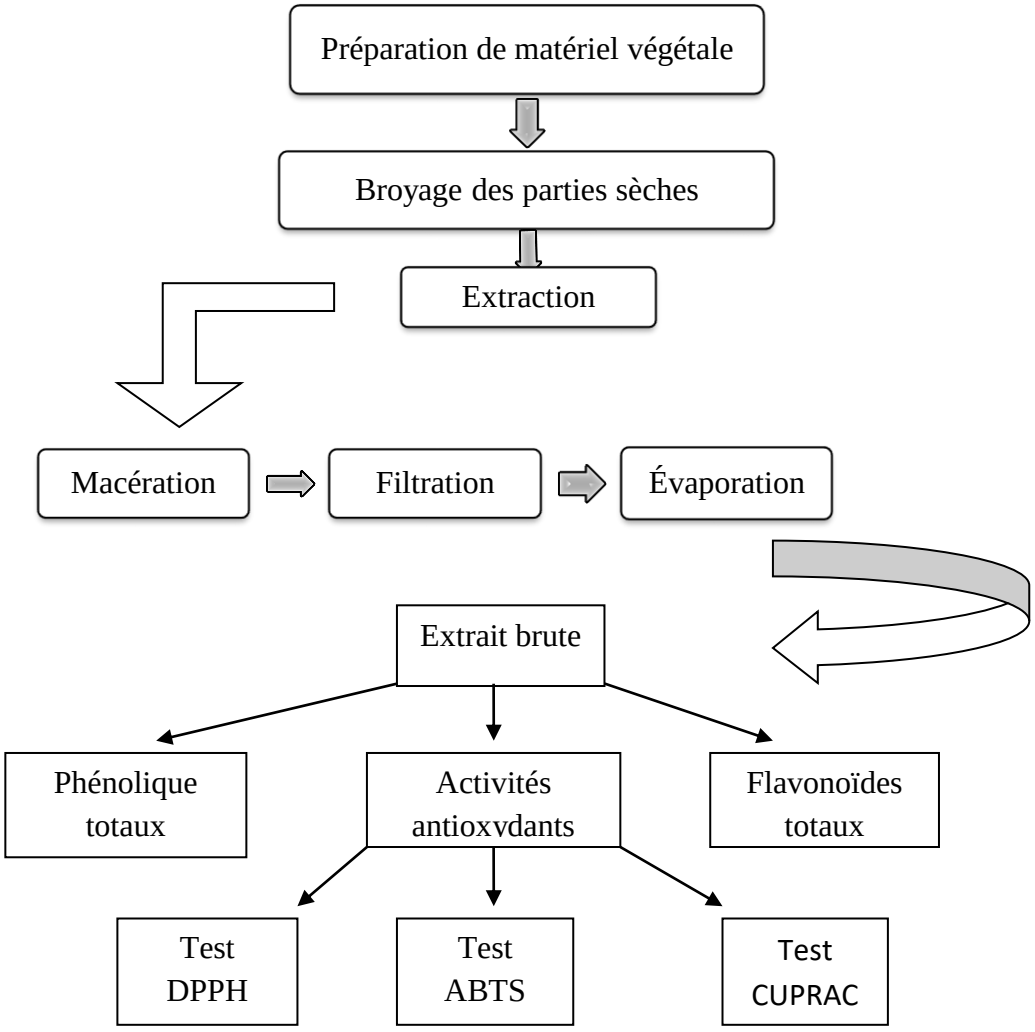


Figure 15: Protocole d'étude expérimentale.

8 Tests des activités antioxydants *in vitro*

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits, trois tests ont été réalisés: le test du DPPH (1,1–diphényl-2-picrylhydrazyl), le test ABTS (2,2'-azino-bis-3éthylbenothiazoline-6-sulfonique Acide) et le test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity). Le Butyl Hydroxy Anizole (BHA) et le Butyl Hydroxy Toluéne (BHT) sont utilisés comme standards antioxydants (**Fig.15.**).

8.1 Test de DPPH

8.1.1 Principe

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre de couleur violet avec une absorption maximale à 520 nm. Lorsqu'il est en présence d'une substance pourvoyeuse d'atome d'hydrogène, il se réduit et devient jaune. Le changement de la coloration est proportionnel à l'activité antioxydante (Congo, 2012) (**Fig.16.**).

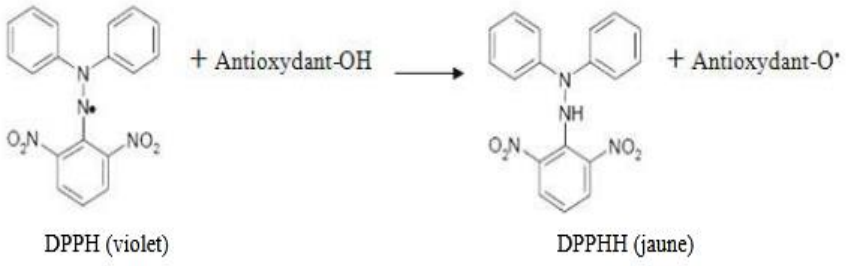


Figure16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Congo, 2012).

8.1.2 Procédure

Un volume de 40 µl de l'extrait est ajouté à 160 µl de la solution DPPH (0,15 10^3M), l'absorbance est lue à 517 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon la formule suivante :

%Inhibition (DPPH) = ((AC – AE) /AC) × 100

AC: Absorbance du contrôle ou standard.
AE: Absorbance du l'extrait.

8.2 Réduction du radical ABTS

8.2.1 Principe

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et *al*. (1999). L'ABTS est un radical cationique, il réagit avec la plupart des antioxydants tels que les phénols, les thiols et la vitamine C. Au cours de ces réactions, il perd sa couleur bleue et revient à son état neutre, incolore. La capacité antioxydante est mesurée comme la

capacité des composés tests à diminuer l'intensité de la coloration obtenue à partir de l'ABTS à 734 nm.

8.2.2 Procédure

Un volume de 40 µl de l'extrait est ajouté à160 µl de la solution d'ABTS ($3{,}4910^{-3}$M), après 10 minute l'absorbance est lue à 734 nm. L'activité $ABTS^{+}$est exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

Effet de piégeage de l'$ABTS^{+}$(%)= ($A_{Control}$–$A_{Echantillon}$ / $A_{Control}$)* 100

8.3 Test CUPRAC

8.3.1 Principe

CUPRAC (Cupir ion Reducing Antioxydant Capacity) est une méthode basée sur le suivi du changement de l'absorbance du complexe néocuproïne (Nc)-ions cuivrique [Nc_2-Cu^{+2}], qui subit une réduction en présence d'un agent antioxydant (Apack et *al*., 2004).

8.3.2 Procédure

Un volume de 40 µl d'extrait a été ajouté avec 60 µl du tampon d'acétate d'ammonium ($ACNH_4$) (1 M), 50 µl d'une solution de $CuCl_2$ (0,01 M) et 50 µl d'une solution de Neocupronin ($0{,}7410^{-2}$ M). Après 1 heure d'incubation, l'absorbance est lue à 450nm.

9 Détermination de la teneur en composés phénoliques

9.1 Dosage des phénols totaux

9.1.1 Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965), selon le procédé décrit par Muller et *al*. (2010). Le dosage est effectué sur une microplaque de 96 puits.

Le réactif Folin-Ciocalteu est formé par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols. La coloration bleue apparue est

proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorbance maximale aux environs de 750 -765 nm.

9.1.2 Procédure

20µl d'extrait sont mélangés avec 100 µl de Folin-Ciocateu (dilué 1 /10ème) et 75 µl de Na_2CO (7,5%). Le mélange est incubé pendant 2h à l'obscurité et la lecture est lue à 765nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le méthanol. L'activité est calculée en utilisant l'acide gallique comme standard (**Annexe, Fig. 17**).

9.2 Flavonoïdes totaux

9.2.1 Principe

Le dosage est basé sur la formation d'un complexe entre l'Al^{3+} et les flavonoïdes. Le procédé de Topçu et *al*. (2007) est réalisé avec des modifications pour le dosage sur microplaque 96 puits.

9.2.2 Procédure

Un volume de 50 µl de l'extrait de plante est mélangé avec 130 µl de méthanol et 10 µl de ($Al(NO_3)_2,9H_2O$). Après 40mn, l'absorbance est lue à 415nm. Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs utilisés dans le mélange réactionnel par le méthanol (150 µl de méthanol plus 50 µl d'extrait). L'activité est calculée en utilisant la quercétine comme étalon (**Annexes, Fig. 18**).

Partie 3 : Résultats et discussion

Ce travail a été réalisé pour estimer la capacité antioxydante de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba.* Elle était mesurée dans différents extraits (éthanol, méthanol, acétate d'éthyle et butanol) de la partie aérienne de cette plante, en utilisant trois tests à savoir : le test de piégeage des radicaux (DPPH, ABTS), le test CUPRAC, en enfin le dosage des composés phénoliques.

1 Rendements d'extraction

L'histogramme porté dans la figure 19, illustre les résultats des rendements des quatre extraits d'*Artemisia herba alba*. Il montre que les rendements varient selon le solvant d'extraction utilisé. La comparaison des valeurs des rendements obtenus montre que l'extrait butanolique (EB) a enregistré le plus grand rendement (18,5%), suivi de l'extrait méthanolique (EM) (14,83%), puis l'extrait éthanolique (EE) (13,83%), et enfin l'extrait d'acétate d'éthyle (EA) avec le plus faible rendement (12,17%).

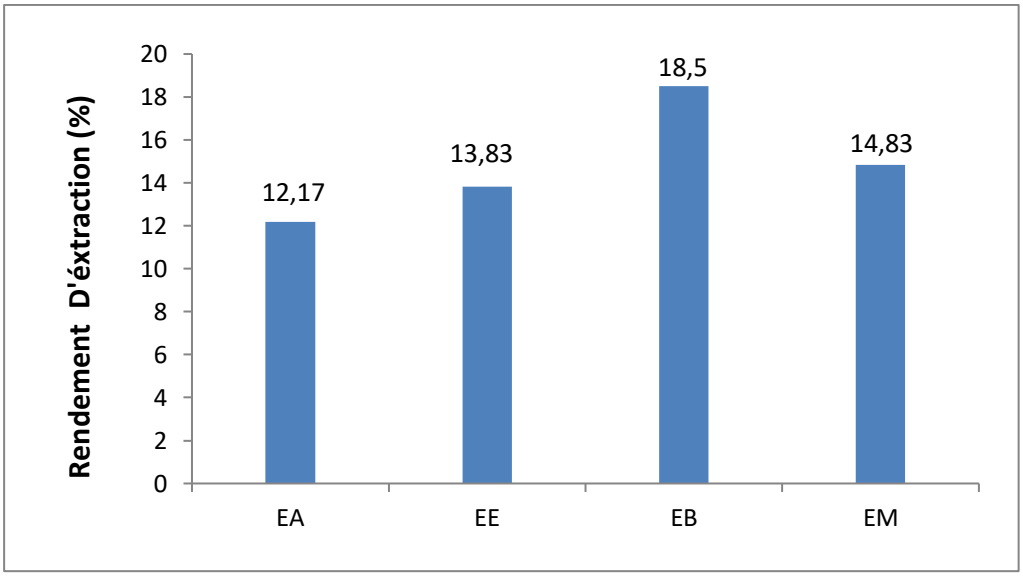


Figure 19: Rendements des extraits de d'*Artemisiaherba alba.* (EA) Extrait d'acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

Ces valeurs dévoilent que la méthode d'extraction utilisée a permis d'obtenir un rendement plus élevée par rapport à celui obtenu par Boudjouref (2011), qui a fait l'extraction de la partie aérienne d'*Artemisia compestris* par des solvants de polarité croissante : chlorofrome, éthanol, acétate d'éthyle, où les rendements sont : 3,4%, 0,48% et 2,26%, respectivement.

Selon Lee et *al*. (2003), le choix des solvants et des conditions dans les quelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent le contenu total en métabolites secondaires, et par conséquent affecte leurs activités biologiques.

L'étude de Mahmoudi et *al*. (2013) sur les différentes parties de la fleur d'artichaut a montré que l'extraction des composés phénoliques dépend de la méthode et du solvant utilisé. Mahmoudi et *al.* (2013) ont trouvé que l'éthanol et l'acétone sont les meilleurs solvants pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes ; alors que la décoction aqueuse est préférable pour l'extraction des tanins.

Selon la bibliographie, la différence entre les rendements des extraits peut être due à de nombreux facteurs comme : l'espèce végétale, les propriétés génétique de l'organe étudié, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et les méthodes d'extraction appliquées (Lee et *al*., 2003 ; Zbadi et *al*., 2018).

2 Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant est étudié pour les quatre extraits et les standards (BHA et BHT), en utilisant la méthode de DPPH, d'ABTS et le test CUPRAC, et en déterminant la concentration inhibitrice à 50 %(IC_{50}). Rappelons que l'IC_{50} est définie comme la concentration de substrat qui entraine une perte de 50% de l'activité de DPPH ou d'ABTS, ou encore, c'est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% de l'absorbance de la solution de DPPH ou d'ABTS (Villano et *al*., 2007). Les IC_{50} sont inversement proportionnelles à l'effet de piégeage des radicaux libres, et leurs faibles valeurs traduisent un effet antiradicalaire important (Villano et *al*., 2007).

2.1 Activité antiradicalaire au DPPH

La réduction du radical libre DPPH· (2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Molyneux, 2004). En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl-1-picryl hydrazine de couleur jaune.

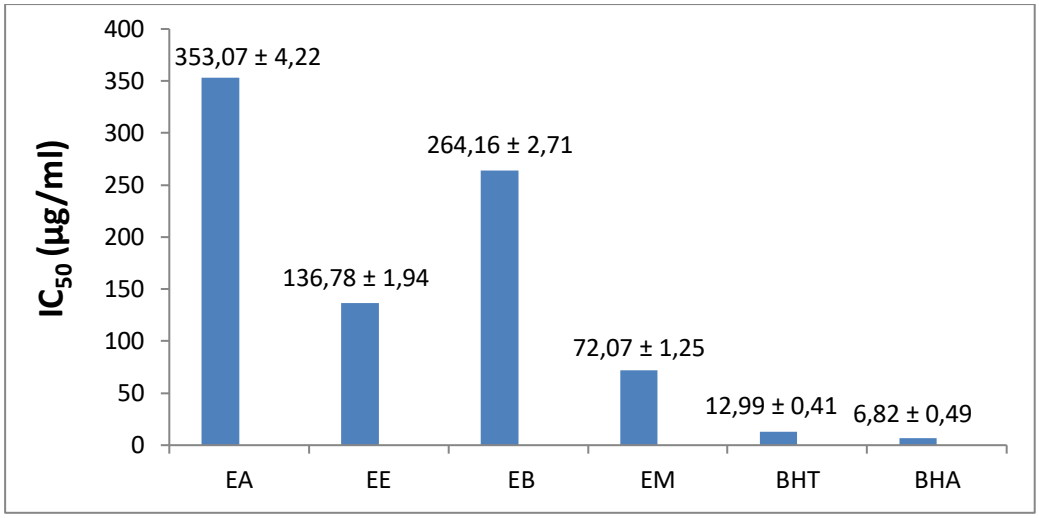


Figure 20: IC_{50} des extraits d'*Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test DPPH. (EA) extrait d'acétat d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

La figure 20 représente les valeurs d'IC_{50} des différents extraits et des standards (BHA et BHT). En comparant les valeurs obtenues, on remarque que l'extrait EM (72,07 ± 1,25 µg/ml) montre une activité modérée par rapport aux standards BHT et BHA (12,99 ± 0,41µg/ml ; 6,82 ± 0,49 µg/ml, respectivement). Par ailleurs, les valeurs d'IC_{50} des extraits EA, EB et EE (353,07 ± 4,22 µg/ml; 264,16 ± 2,71 µg/ml ; 136,78 ± 1,94 µg/ml, respectivement) révèlent une faible activité par rapport aux standards utilisés.

La différence entre les IC_{50} de l'extrait méthanolique et les autres extraits est très importante. En effet, l'EM est très actif, contrairement aux extraits EA, EB et EE, avec des IC_{50} largement supérieures aux celles des standards.

Les résultats de Mebarki et Yahiouche (2015) ont montré également que l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba* possède une excellente capacité de neutralisation du radical libre DPPH mais avec une IC_{50} de 0,0369 mg/ml. De plus, Zbadi et *al*. (2018) ont démontré que l'activité antiradicalaire est élevée dans les extraits les plus polaires de la plante. D'autres travaux ont démontré que les molécules antioxydantes comme le tocophérol, l'acide ascorbique, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Bougandoura et Bendimerad, 2013). En effet, les résultats obtenus dans le présent travail dévoilent que les polyphénols contenus dans les extraits de la plante testée sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits.

2.2 Activité antiradicalaire au ABTS

La méthode d'ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Elle est basée sur la neutralisation d'un radical cation résultant de la mono oxydation électronique du chromophore synthétique (2,2'-azino –bis 3 éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS).

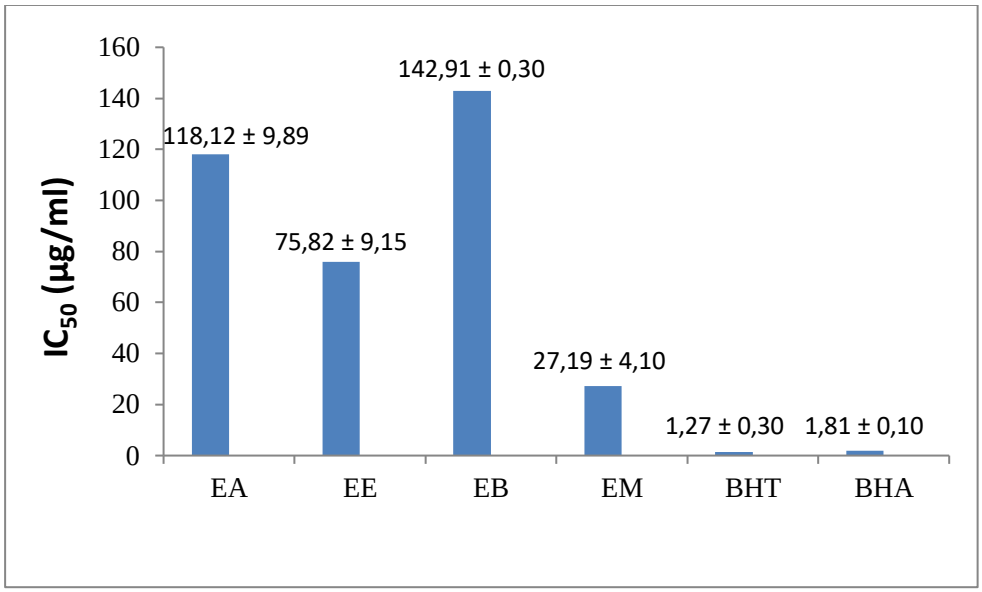


Figure 21: IC_{50} des extraits d'*Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test ABTS. (EA) extrait d'acétat d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

La figure 21 représente les valeurs d'IC_{50} des extraits (méthanolique, acétate d'éthyle, éthanolique et butanolique) d'*Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT). Par comparaison des IC_{50}, on remarque que de l'extrait méthanolique (EM) (27,19 ± 4,10 µg/ml) présente une activité antioxydante modérée par rapport aux standards BHT et BHA (1,27 ± 0,30 ; 1,81 ± 0,10 µg/ml, respectivement). Par contre, les valeurs des IC_{50} des extraits EA, EE, EB (118,12 ± 9,89 ; 75,82 ± 9,15 ; 142,91 ± 0,30 µg/ml, respectivement) révèlent de faibles activités antioxydantes de ces extraits en comparant avec les standards. Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba* est doté d'une bonne activité antiradicalaire contre l'ABTS. Cette activité est expliquée par la présence des composés antioxydants capables de piéger le cation radicalaire et de le réduire en molécule non radicalaire ABTS (N'negue et *al*., 2022).

2.3 Test CUPRAC

La méthode CUPRAC est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance du complexe Néocuproine (Nc)-cuivre (Cu^{2+}) [Nc_2 _ Cu^{2+}]. En effet, en présence d'un antioxydant, ce complexe est réduit et la réaction est mesurée à 450 nm (Apak et *al.*, 2004).

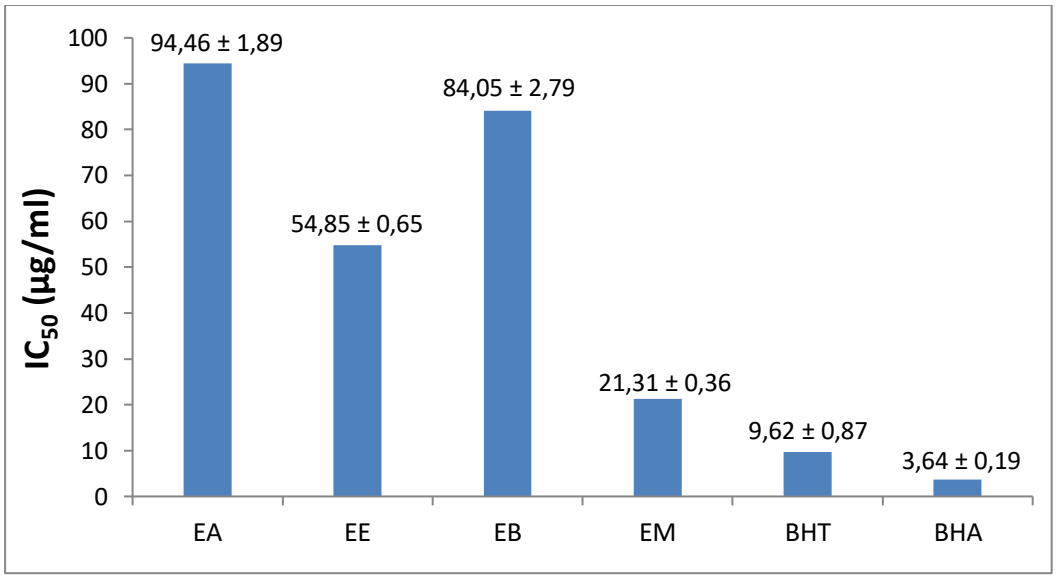


Figure 22: IC_{50} des extraits d'*Artemisia herba alba* et des standards (BHA et BHT) par le test CUPRAC. (EA) extrait d'acétat d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

D'après les résultats présentés dans l'histogramme porté de la figure 22, on note que les valeurs d'IC_{50} des extraits EA, EE et EB (94,46 ± 1,89 ; 54,85 ± 0,65 ; 84,05 ± 2,79 µg/ml, dans cet ordre) montrent une activité plus faible en comparant aux standards BHT et BHA (9,62 ± 0,87 ; 3,64 ± 0,19 µg/ml, respectivement). En revanche, la valeur d'IC_{50} de l'extrait EM (21,31 ± 0,36 µg/ml) montre une activité relativement importante par rapport à celle des standards. Ces résultats dévoilent que l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba* possède une bonne activité inhibitrice du CUPRAC. L'étude de Marref (2018) sur l'activité biologique de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* a montré aussi que l'extrait méthanolique possède une meilleure activité inhibitrice du CUPRAC ($A_{0,50}$= 47,43 ± 4,50µg/ml).

D'après les résultats des trois tests (DPPH, ABTS et CUPRAC), l'extrait méthanolique (EM) de l'espèce *Artemisia herba alba* possède une bonne activité

antioxydante par rapport à l'extrait acétate d'éthyle (EA), à l'extrait éthanolique (EE) et à l'extrait butanolique (EB). La forte activité des extraits bruts est probablement attribuée à leur richesse en composés phénoliques. De plus, il a été noté que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de leur activité antiradicalaire (Medjili et *al.*, 2018). L'étude de Bousbaa et Lanani (2021) sur le pouvoir antioxydant des extraits de *Silybum marianum*, a montré que les IC_{50} varient entre 576,82 ± 3,43 µg/ml et 42,5 ± 1,51µg/ml avec le test DPPH, et elles varient entre 142,67±1,85µg/ml et 12,56±1,19µg/ml avec le test ABTS, et elles varient de 437,78±5,36 µg/ml à 31,25±1,38µg/ml avec le test CUPRAC. Ces valeurs dévoilent que les valeurs des IC_{50} du test ABTS sont relativement proches aux résultats obtenus dans le présent travail du même test. Cependant, les valeurs des IC_{50} du test DPPH et CUPRAC sont plus élevées par rapport aux valeurs obtenues avec les extraits d'*Artemisia herba alba*.

3 Teneurs en composés polyphénols

L'extraction des composés polyphénoliques est une étape cruciale dans la valorisation de ces principes actifs. Elle dépend de la méthode et du solvant approprié pour maintenir leurs propriétés biologiques.

3.1 Teneurs en polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu pour les quatre extraits (méthanolique, butanolique, acétate d'éthyle et l'éthanolique). Les résultats de teneur sont calculés à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

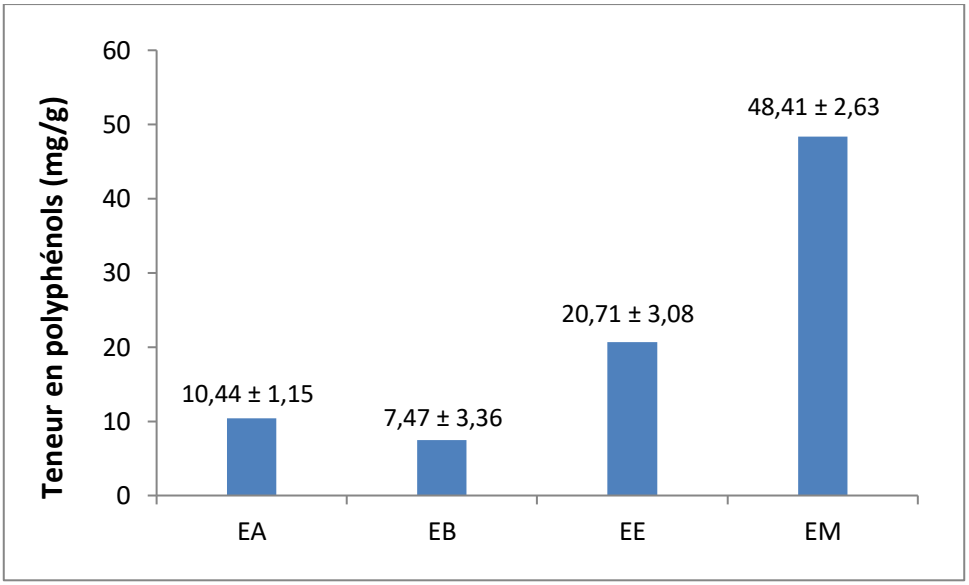


Figure 23 : Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Artemisia herba alba.* (EA) extrait acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

La figure 23 montre que l'extrait méthanolique possède une haute teneur en polyphénols (48,41 ± 2,63 mg/g), suivi par l'extrait éthanolique avec une teneur de 20,7 1± 3,08 mg/g, puis une teneur moyenne à faible de l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait butanolique (10,44 ± 1,15 mg/g ; 7,47 ± 3,36 mg/g, respectivement).Ces résultats dévoilent que tous les extraits d'*Artemisia herba alba* contiennent des polyphénols mais avec des quantités différentes.

Le contenu phénolique des extraits d'une plante dépend de la polarité du solvant utilisé lors de l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne une concentration élevée en ces composés (Ghedadba et *al.*, 2015). De plus, la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique du squelette de base. Il est préférable d'utiliser des mélanges de solvants organiques appropriés avec de l'eau (Mahmoudi et *al.*, 2013). La différence de contenu phénolique est liée aussi à leur degré de polymérisation, car ils sont le plus souvent combinés à d'autres substances telles que les polysaccharides, les terpènes, la chlorophylle, les lipides et les protéines (Naczk et Shahidi, 2004 ; Mompon et *al.*, 1996).

3.2 Teneurs en flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes des quatre extraits est déterminé selon la méthode de trichlorure d'ammonium, où la quercitrine a été utilisée comme standard.

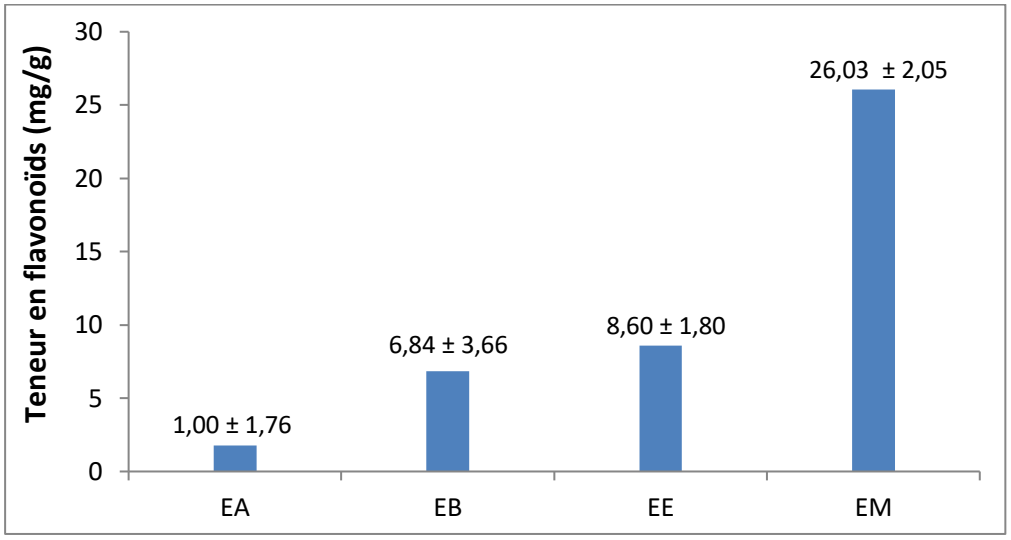


Figure 24 : Teneur en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba.* (EA) extrait acétate d'éthyle, (EE) extrait éthanolique, (EB) extrait butanolique et (EM) extrait méthanolique.

La figure 24 résume les résultats obtenus des teneurs en flavonoïdes des différents extraits d'*Artemisia herba alba*. Elle montre que l'extrait méthanolique possède une teneur élevée en flavonoïdes (26,03 ± 2,05 mg/g), suivi par l'extrait éthanolique avec une teneur plus ou moins faible (8,60 ± 1,80 mg/g), puis l'extrait butanolique et d'acétate d'éthyle avec une quantité très faible (3,66 ± 6,84 mg/g ; 1,00 ± 1,76 mg/g, dans cet ordre).

Les quatre extraits d'*Artemisia herba alba* ont montré la présence des composés phénoliques, ceci explique leur activité antioxydante et antiradicalaire avec les tests DPPH, ABTS et CUPRAC.

Un résultat similaire est obtenu par Sekiou et *al.* (2020), qui ont montré que l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* contient environ 27,7 mg/g de flavonoïdes. Ce résultat est proche à celui obtenu dans le présent travail.

Selon la bibliographie, la teneur en flavonoïdes des extraits de la même plante peut varier selon la polarité des solvants utilisés lors de l'extraction, ainsi que de la solubilité des composés phénolique dans les solvants utilisés (eau distillée, méthanol)

(Ghedadba et *al*., 2015). Les flavonoïdes polaires sont solubles dans les solvants polaires, et les flavonoïdes apolaires sont solubles dans les solvants apolaires (Bouafia et Driouche, 2019). La solubilité des flavonoïdes dépend aussi du nombre, du type et de la position des glucides avec les flavonoïdes (Remiche et Belkahla, 2020). Le type de standard utilisé peut également changer les résultats (Ghedadba et *al*., 2014).

L'étude de Medjili et Zaghdane (2018) sur l'évaluation des substances bioactives d'*Artemisia herba alba* a montré la richesse de cette plante en molécules antioxydantes et en composés phénoliques. Les même auteurs ont trouvé également que la plus haute teneur en flavonoïdes (27,82 ± 0,38 µg /mg) était dans l'extrait 100% méthanol d'*Artemisia herba alba*. Ce résultat est identique à celui obtenu dans la présente étude. Cependant, dans l'étude de Bousbaa et Lanani (2021) sur l'analyse quantitative des composés phénoliques des extraits de *Silybum marianum*, a montré que les quantités élevées des polyphénols et des flavonoïdes sont enregistrées dans l'extrait d'acétate d'éthyle (266,45 ± 3,88 mg/g de polyphénols; 229,18 ± 5,91 mg/gde flavonoïdes).

Conclusion

Conclusion

Artemesia herba alba est une plante endémique de la flore algérienne. Elle est très utilisée en médecine traditionnelle pour la guérison de plusieurs maladies, car elle est riche en molécules bioactives.

Pour cela, le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante des différents extraits de la partie aérienne *d'Artemisia herba alba*, et la quantification de leur teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique (EM) possède la meilleure activité antiradicalaire en utilisant les tests DPPH (72,07 ± 1,25 µg/ml), ABTS (27,19 ± 4,10 µg/ml) et CUPRAC (21,31 ± 0,36 µg/ml). En général, cette activité reste nettement inférieure à celles des standards (BHT et BHA). Ces activités peuvent être améliorées par une purification avancée des molécules actives contenant dans l'extrait cité ci-dessus.

Les résultats du dosage des composés phénolique dans les quatre extraits d'*Artemisia herba alba* dévoilent, d'une part, que l'extrait EM (48,41±2,63 mg/g) ayant la teneur la plus élevée en polyphénols totaux par rapport aux extraits EE (20,71 ± 3,08 mg/g), EA (10,44 ± 1,15 mg/g), EB (7,47 ± 3,36 mg/g). D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que ce même extrait méthanolique (EM) possède la teneur la plus élevé (26,03 ± 2,05 mg/g), alors que, l'extrait EE (8,60 ± 1,80 mg/g) contient une teneur plus ou moins faible, puis l'EB (3,66 ± 6,84 mg/g) et l'EA (1,00 ± 1,76 mg/g) renferment des teneurs très faibles.

Ces résultats indiquent qu'*Artemisia herba alba* contient des quantités importantes des composés polyphénoliques susceptibles d'être exploités à plusieurs échelles : alimentation, cosmétique, pharmaceutique,etc.

En perspectives, dans le but de compléter ce travail, il est recommandé de :

- tester d'autres systèmes de solvants pour améliorer l'extraction.
- évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes.
- étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de cette plante.

Références

1. Ababsa N., Boukaous H. (2018). Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait méthanolique d*'Artemisia herba alba*. Mémoire master en science de la nature et de la vie, université des frères Mentouri Constantine : 4-7.
2. Abass O. A. (2012). Therapeutic effect of *Artemisia herba-alba* aqueous extract added toclassical therapy of acquired hyperlipidemia. Iraqi Journal of community Medicine. 4: 320-323.
3. Abderrabi K. (2018). Etude de la variabilité génétique et de potentialité d'adaptation chez *Artemisia herba-alba* dans la steppe de l'Ouest Algérien. Thèse doctorat en sciences, université Djillali Liabes Sidi Bel Abbés : 7-9-10.
4. Achat S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat en science alimentaires, universite A. Mira-Bejaia : 22.
5. Aidoud A. (1988). Les écosystèmes steppiques à armoise blanche (*Artemisia herba-alba Asso*) : caractères généraux. Biocénose : Bulletin d'écologie terrestre. CRBT. Alger .Tome 3. (12).
6. Al-Khazraji S. M., Al-Shamaony L. A., Twaij HA. A. (1993). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. Journal of Ethnopharmacology. 40: 163-166.
7. Amitouche D., Chemloul L. (2012). Contribution à l'évaluation de l'huile essentielle et des extraits d*'Artemisia herba-alba* algérienne. Mémoire de master en chimie, université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : 57.
8. Ankita N., Liang J.Y., Chandan K. J., Nilanjana D. (2019). Role of catalase in oxidative stress and age associated degenerative diseases. Oxydative medicine and cellular longevity.2019.
9. Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index fordietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of Neocuproine. CUPRAC Method J. Agric. Food chem. 52: 7970-7981.
10. Bahi A. (2015). L'effet protecteur des antioxydants naturels dans l'intoxication du mercure chez le rat albinos wistar (aspects biochimiques, immunologiques et histologiques). Thèse de doctorat en sciences biochimie appliquée, université des Frères Mentouri Constantine : 22-23.

11. Béguel J. P. (2012). Etude de la capacité antioxydante en lieu avec la reproduction chez l'huitre creuse *crassostrea gigas*. Thèse de doctorat en science de la Mer biologie marine, université de Bretagne Occidentale : 7-8.
12. Ben Rhouma-Martin G. (2013). Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés. Thèse doctorat en sciences biologiques et biotechnologiques, université de Lorrain : 144.
13. Bendif H. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques *lamiaceae* : *Ajugaiva* (l) *schreb, teucriumpolium L., thymus munbyanussubsp. Coloratus* (Boiss.et Reut.) grenter et budet et Rosmarinuseriocalysjord et four. Thèse de doctorat en science biologie, université Kouba-Alger : 19.
14. Benjilali B., Richard H. (1980). Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc *Artemisia herba alba*, rivitaitaliana E.P.P.S : 69-74.
15. Benyamina-behadada A. (2017). Etude des effets de l'extrait *d'Artemisia absintium L*. chez les rats intoxique au plomb, Etude neurocomportementale, biochimique et in silico de composés *d'Artemisia absinthium L* à potentiel thérapeutique ciblant les récepteurs du système nerveux central. Thèse de doctorat en sciences biocimie appliquée, université d'Oran 1: 24-25.
16. Bertella A. (2019). Etude da l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles *d'Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*, thèse doctorat en science biologique, université d'Oran Ahmed Ben Bella : 7.
17. Bouafia N et Drouiche A. (2019). Etude comparative des polyphénols et flavonoïdes isolés des feuilles de *Beta vulgaris L* et *Brassica rapa L*. Mémoire de master en science biologique, université des Frères Mentouri de Constantine : 61.
18. Boubekri C. (2014). Etude de l'activité antioxydant des poly phénols extraits de *Salanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, université Mohamed khider Biskra : 44.
19. Boudjelal Amel. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes apontanées (*Ajugaiva, Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'sila, Algérie. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba : 61.

20. Boudjouref M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits *d'Artemisia campestris L.* Mémoire de magister biochimie, université Ferhat Abbes, Sétif : 45.
21. Boudraa A., Djabri R., Manseur C. (2020). Contribution à l'étude du pouvoir antibactérien *d'Artemisia herba alba Asso* (chih). Mémoire de master en science de la nature et de la vie, université de Larbi Tébessi-Tébessa : 9.
22. Bougandoura N et Bendimerad N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques. 9 : 14-19.
23. Bougoutaia Y. (2018). Étude du complexe *Artemisia herba-alba Asso* d'Algérie par des approches pluridisciplinaires: cytogénétique classique, cytogénétique moléculaire, phylogénie et phylogéographie. Thèse doctorat en sciences, université des sciences et de la technologie d'Oran Boudiaf : 23-25.
24. Bouhadjra K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l »hule d'olive vierge. Thèse de magister en chimie de l'environnement, université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou : 42-43.
25. Boulegune A et Ardjoun R. (2019). Evaluation de l'effet antioxydant de deux plantes endémiques en algérie : *thymus algeriensis* d'Ain-Defla et *Lavandula antineae* de Biskra. Mémoire de master en biochimie appliquée : 9-11.
26. Bourass B. (2010). Mise en évidence d'une relation entre la biomasse aérienne (biomasse totale, biomasse aérienne des feuilles et pousses tendres) et certain caractère mesurables de l'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) sur les parcours de Talsint, mémoire de fin d'études E.N.A. Meknès.
27. Bousbaa R et Lanani R. (2021). Etude du potentiel antioxydant et analyse quantitative des composés phénoliques des extraits de *Silybum marianum*. Mémoire de master en science de la nature et de la vie, université des frères Mentouri Constantine : 13-19-35.
28. Caverzan A., Passaia G., Rosa S. B., Ribeiro C.W., Lazzarotto F., Margis-Pinheiro M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. Genetics and molecular biology. 35 (4): 1011-1019.
29. Chaabna N. (2014). Activité anticoccidienne des extraits *d'Artemisia herba alba*. Mémoire magister en biologie et physiologie végétale, université Ferhat Abbas Sétif 1.

30. Chanforan C. (2010). Stabilité de micro constituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise eu poit d'un modèle stocchio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sance tomate. Thèse de doctorat en science chimie, université d'Avignon : 36.
31. Chatard JC. (2005). Lutter contre le dopage en gérant la récupération physique, publications de l'université de Saint-Etienne Amazon France : 157- 27.
32. Christophe P et Christophe S. (2011). Physiologie, phatologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Edition springer : 84.
33. Cloutier A. (2009). Effets neuroprotecteurs et modulation du système antioxydant dans le cerveau par l'acide linoléique conjugue. Mémoire pour l'obtention du grade de maître ès en sciences expérimentales de la santé, université du Québec INRS-Institut Armand-Frappier : 6-7.
34. Congo M. Y. M. (2012). Etude des propriétés anti radicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L* (*Salvadoraceae*). Mémoire de doctorat en pharmacie, université d'Ougadougou Bourkina Faso : 41-42.
35. Delattre J., Beaudeux J. L., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Do., lavoisier. Paris : 547.
36. Djali F et Hamadi H. (2017). Formation du fromage frais aromatisé à base *d'Artemisia herba alba*. Mémoire de master en sciences de la nature et de la vie, université A. MIRA- Bejaia : 4-5.
37. Djenidi H. (2019). Activité antioxydant et anti radicalaire des aliments d'origine végétale consommés des les régions de Biskra et sétif. Thèse de doctorat en sciences biochimie, université de Biskra-Mohamed Khider : 31.
38. Douffi A., Amroune Y. (2021). *Artemisia herba-alba* et *Juniperus communis* : phytochimie et Pharmacologie (Synthèse théorique). Mémoire master académique en sciences de la nature de la vie, université Mouhamed Boudiaf, M'Sila : 21.
39. El Rhaffari L. (2008). Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. L'organisation non gouvernementale Italienne : 11.

40. Eloukili M. (2013). Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) comparée à l'unité fourragère l'orge. Mémoire master en science des aliments, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen : 3.
41. Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique : 108-115.
42. Ghami M, Satrani B, Aafi A, Isamili M. R, Houti H, El Monfalouti H, Benchakroun K. H, Aberchane M, Harki L, Boukir A, Chaouch A, Charrouf Z. (2010). Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental), article phytothérapie. 8 : 295-301.
43. Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M. C., Bousselsela H., Oueld-Mokhtar. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie. 13(2) : 118-129.
44. Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare L.* Phytothérapie. 12(1) : 15-24.
45. Hadj salem J. (2009). Extraction, identification, caracterisation des activites biologiques de flavonoides de *nitraia retusa* et synthèse de derives acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut national polytechnique de lorrane : 22-23.
46. Hennebelle T., Sahpaz T., Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 1: 3-6.
47. Henni M. (2018). Etude comparative de l'adsorption des ions (Pb^{+2}, Cd^{+2}) par l'armoise blanche et l'alfa, et l'élaboration d'un film biodégradable à base amidon/fibre d'alfa. Thèse doctorat en chimie, universitié Djillali Liabes Sidi Bel Abbés : 35.
48. Houmani M, Houmani Z, Skoula M. (2004). Intérêt *d'Artemisia herba alba Asso* dans l'alimentation de bétail des steppes algérienne, Acta Bot. Gallica. 151(2) : 165-172.
49. Houmel S. (2018). Les steppes d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba Asso*) dans l'Est Algérien : répartition actuelle, biodiversité, dynamique et conditions de

durabilité. Thèse doctorat en sciences agronomiques, université Mohamed khider Biskra : 18.

50. IPNI. The international plant name index.
51. Iriadam M., Musa D., Gùmùshan H. and Baba F. (2006). Effects of two Turkish medicinal plants *Artemisia herba-alba* and *Teucrium polium* on blood glucose levels and other biochemical parameters in rabbits. Journal of Cell and Molecular Biology. 5: 19-24.
52. Ivanescu B., Miro A., Corciova A. (2015). Sesquiterpene Lactones from *Artemisia genus*: biological activities and methods of analysis. Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2015: 21.
53. Kadi I.D. (2014). L'effet du prétraitement par la vitamine C sur la néphrotoxicité aigue du nickel chez les souris males. Mémoire de master académique l'université de M'sila : 11.
54. Kadri A., Zarai A., Békir A et *al*., (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium Vulgare L* essential oil from Tunisia. Afr J Biotechnol. 10 (19): 3908–14.
55. Kassa Laouar M. (2020). Etude des mécanismes des résistances de bactéries endophytes isolées à partir des racines *d'Hedysarum pallidum* et de *Lygeum spartum* poussant sur des déblais de mise d'antimoine. Thèse de doctorat en science biochimie microbiologie appliquée, université Frères Mentouri Constantine : 25.
56. Kheffach A. (2015). La cytotoxictte de certaines huilles essentielles chez les lapins. Mémoire master académique en sciences biologique, université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued : 32.
57. Khireddine H. (2013). Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire de magister en technologie alimentaire, université M'hamed Bougara-Boumerdes : 16.
58. Kodjo S., Kefui K., Oudjaniyobi S., Pakoupati B., Amegnone A., Messanvi G. (2017). Etude comparative des activités antioxydant d'extraits éthanoliques de feuilles, d*'ecorces* et de racines de *cassia sieberiana*. International Journal of biological and chemical sciences. 11(6): 2924-2935.

59. Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20(4): 165-177.
60. Kooppenol W. H. (2001). The haber-weiss cucle, 70 years later. Redox repot: 229-234.
61. Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemi-cals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. J. Agric, Food chem 51: 7292-7295.
62. Letkesses H et Ladraa I. (2017). Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits de *Ceratonia Siliqua L*. Mémoire de master biochimie moléculaire et santé, université des frères Mentouri constantine : 21-33.
63. Levine RL. (2002). Carbonyle modified proteins in cellular regulation, againg, and disease. Free Radical Biology and Medicine. 32(9): 790-796.
64. Liu Z., Mo K., Fei S., Zu Y., Yang L. (2017). Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from Cinnamomum logepaniculatum leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. Journal of separation science. 40 (15): 3100-3113.
65. Mahmoudi S, Khali M et Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L*.). Revue «Nature &Technologie»: 30-35-40.
66. Mansour S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso* et *Hypericum scarboides* -Etude *in vivo*-. Thèse doctorat en science, université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf : 30-33.
67. Mebarki F. Z et Yahiouche L. (2015). Extraction et valorisation de l'activité antifongique et propriétés antioxidantes des composés phénoliques de la ped Elante médicinale *Artemisia herba alba*. Mémoire de master, université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. BBA: 37.
68. Medjili S et Zaghdane W. (2018). Etude de l'activité antioxydante de la plante *Artemisia herba alba*. Mémoire master en science de la nature et de la vie, université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B. B. A: 1.
69. Merradi M., Bouguerra K., Bayou S. (2021). La guérissions à bas de l'Armoise blanche en médecine traditionnelle dans les Aurès (Algérie) –étude anthropologique-. Eributaries journal. 5 (02): 1065-1074.

70. Messai L. (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (*Artemisia herba alba*).Thèse doctorat des sciences en chimie organique, université Frères Mentouri Constantine :47.
71. Mette M. (2006). Berger manipulations nutritionnlles du stress oxidant: Etat des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme. 20 (1): 48-53.
72. Migdal C et Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Médecine/science. (27): 405-12.
73. Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en science de l'université Louis pasteur : 13-21-25.
74. Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical of diphenyl-1-picrylhydrazyl (dpph) forrestination antioxidant activity. Song klankarinj. sectechnol. 26: 211-219.
75. Mompon B., Lemaire P., Mengal M. Surbled. (1998). Extraction des polyphénols: du laboratoire a la production industrielle. Polyphenols. Ed. Colloques-INRA, Paris : 289.
76. Mouchem Metahri F Z. (2015). Contribution à l'étude des huiles essentielles de l'armoise blanche de trois localités de l'ouest algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs effets antimicrobiens. Thèse doctorat en science, université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes : 4.
77. Mouhamed A E., El-Sayed M. A., Hegazy M E,. Helaly S E., Esmail A M., Mohamed N S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*, Rec. Nat. Prod 4: 1-25.
78. 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(6): 992-999.
79. N'negue. M M., Lendoye E., Makoyo O., Bekale S., Ndong JE., Nguema E RW., Ngou- Milama E. (2022). Activité antioxydante du sang total, du plasma, du sérum et des globules rouges par piégeage de l'ion radicalaire ABTS+. Article Health Sciences et Disease 23 (2): 8-13.
80. Naouaoui S. (2019). Néphrotoxicité des plantes médicinales. Thèse doctorat en médecine, université Cadi Ayyad Marrakech: 90.
81. Noichri Y. (2016). Stress oxydant et Infractus du Myocarde. Thèse doctorat en sciences da la vie et de la santé, université de Paris Sud : 1.

82. Oberley T.D et Oberley L.W. (1997). Antioxidant enzyme levels in cancer. Histology and histopathology (12): 525-535.
83. Ozer E., Platin S., Akman U., Ortascsu O., Goto M. (1992). Turkish J. Chem, 16, 273. Papamichail I., Louli V., Magoulas KJ. Supercritical fluid extraction of celery seedoil. (2000). Journal of supercritical fluids: 18:213.
84. Park J., Jun. W.K., Nam K.S., Shahidi F., Kim S.K. (2001). Purification and characterization of antioxydative peptides from protein hydrolysate of lecithin-ree egg yolk. Journal of the American oil chemist society. 78 (6): 651.
85. Phan-thi H. (2014). Utilisation des carotenoides naturels de *Momordica cochinchinensis* (GAC) comme composes sante. Extraction et bioactivité en fonction de l'origine et du procede. Thèse de doctorat sciences des aliments, université de bourgogne : 10.
86. Raccah D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré, EMC- endocrinologie. 1 (1): 29-42.
87. Rached W. (2009). Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de magister en biochimie végétale applique, université d'Oran Es-Sénia : 41.
88. Re R., Pellergrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine. 26 (9-10): 1231-1237.
89. Remiche R et Belkahla K. (2020). Etude des quelques caractéristiques phytochimiques d'un hydrodistillat <<extrait traditionnel>> de la plante médicinale <<*Artemisia herba alba*>>. Mémoire de master en sciences de la nature et de la vie, université Mouhamed Khider de Biskra : 30.
90. Rezaire A. (2012). Activité antioxydante et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazouien Oenocarpus bataua (patawa). Thèse de doctorat en phytochimie, Antilles-Guyane: 48-49.
91. Ronald st L. (2011). Imlication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle centrale de l'osmorégulation. Thèse de doctorant en neurosciences, université Paris VI. Pierre et marie curie : 36.
92. Sahgal G., Ramanathan S., Sasidharan S., Mordi M. N., Ismail S., Mansor S. M. (2009). *In Vitro* antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic Swietenia mahagoni sed Extracts. Molecules. 14 (11): 4476-4485.

93. Saidi I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : extraction des substances bioactives. Thèse doctorat en sciences biologiques, université Djillali Liabès Sidi Bel Abbés : 1.
94. Sekiou O., Boumendjel M., Taibi F., Tichati L., et Boumendjel A. (2020). Nephroprotective effect of *Artemisia herba alba* aqueous extract in alloxan-induced diabetic rats. Journal of Traditional and Complementary Medicine: 1-8.
95. Serigne O. S., Alioune D. F., Rokhay G., Amodon D., Khady D., Ndeye D., Bara N., Yérim M. D. (2015). Etude de l'activité antioxydant des extraits des feuilles de vitex *doniana (verbenacca)*. International journal of biological and chemical sciences. 9 (3): 1263-1269.
96. Singleton V., Rossi J. (1965). Colorimetry of total phenolic swith phosphomolybdic -phosphotungstic acid reagents. Amer. J. Enol. Viticult. 16: 144-58.
97. Sorg O. (2004). Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality. Comptesrendusa a biologies.327: 649-662.
98. Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. Food Chemistry. 103 (3): 816–822.
99. Valéry A., Ronuald C., Dragoslav M., Pascal C., Abderrahim L. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases. Rôle dans les maladies rhumatismales. Rhumatisme. 74 (7): 636-643.
100. Villano M. S., Femandez-Pachon., Moya B. M L., Troncoso A. M., Garia-Pamilla M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta. 71(1): 230-235.
101. Vital P. G., Rivera W. L. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (*L. F*.) King and Robinson and *Uncaria perrottetti* (*A. Rich*) Merr. Extracts. Journal of medicinal plants researche. 3 (7): 511-518.
102. Wang J., Mazza G. (2002). Effet of anthcyanins and other phenolic compounds on the mproduction of tumor necrosis factors α in LPS/IFN-y-Ativated RAW. 246.7. Macrophages. J. AGRIC. Food. Chem. 50: 4183-4189.
103. Yamen O., Nacera Dahmani-Hamzaoui., Yassine A., Nacer H., Baaliouamer A. (2022). Chemical characterization of volatile extract of *Artemisia herba alba* and study of its antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities and its

inhibitionory effect on corrosion of aluminum in hydrogen chloride solution. Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences. 11 (4): 4889.

104. Zbadi R., Mohti H., Moussaoui F. (2018). Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. Article Médecine thérapeutique. 24 (2) : 134-41.

105. Zerargui F. (2015). activité antioxydante des extraits de racines *tamus Communis L* et caractérisation des substances bioactives. Thèse de doctorant en science de biochimie, université Ferhat Abbas Sétif (1) : 4-8-17.

106. قزعوط د وسنينة ز. (2019).المساهمة في دراسة النشاط البيولوجي عند نبات الشيح. مذكرة درجة ماستر في العلوم البيولوجية جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي : 5.

Sites internet :

1. http://agronomie.info. consulté le 03/04/2022

Annexes

1. Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

On prépare une solution mère (S1) de 0,2 mg/ml de l'acide gallique dans le méthanol. Puis des dilutions sont à partir de cette solution mère comme la suite :

25µg/ml	25µl de S1+ 175µl de MeOH
50 µg /ml	50µl de S1+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S1+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S1+ 100µ de MeOH
125µg /ml	125µl de S1+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S1+ 50µl de MeOH
175 µg /ml	175µl deS1+ 25µl de MeOH
200µg /ml	200µl de S1

Dans une microplaque, on mit 20 µl de chaque dilution puis on ajoute 100 µl du Folin-Ciocateu (1 /10) et 75 µl de Na_2CO_3 (7,5%). Lecture est effectuée à765 nm après 2h d'incubation.

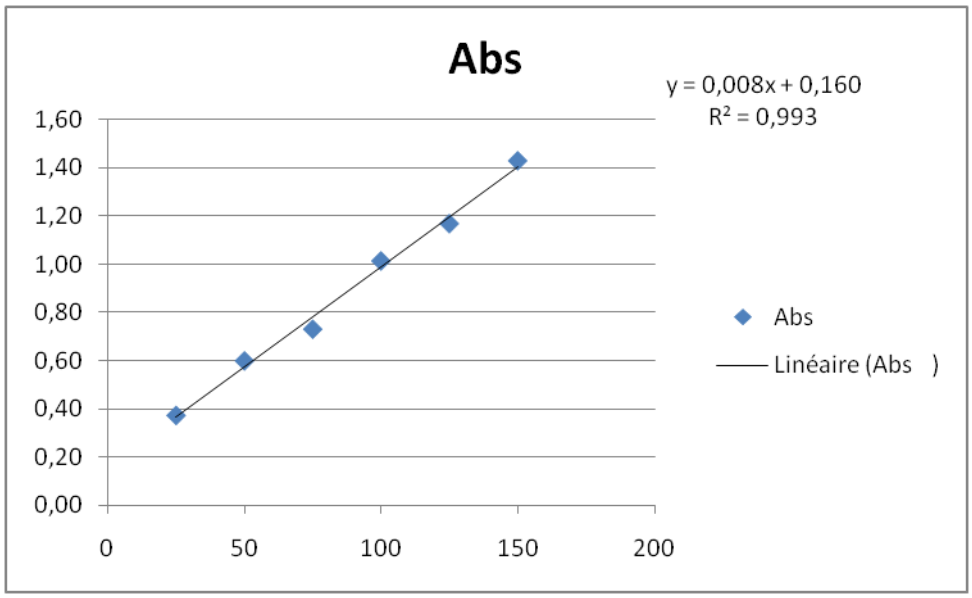


Figure 17: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

2. Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

On prépare une solution mère (S1) de 0,2 mg/ml de la quercetine dans le méthanol. Puis des dilutions sont à partir de cette solution mère comme la suite :

Quercetin(25)	25µl Sm+ 175 µl MeOH
Quercetin(50)	50µl Sm+ 150µl MeOH
Quercetin (75)	75 µl Sm + 125µ MeOH
Quercetin(100)	100µl Sm+ 100µl MeOH
Quercetin (125)	125 µl Sm + 75µl MeOH
Quercetin(150)	150µl Sm + 50µl MeOH
Quercétine (175)	175µl Sm + 25µl MeOH
Quercetin(200)	200µl Sm + 0 MeOH

Dans une microplaque 96 puits, on mit 50 µl de chaque dilution puis on ajoute 130 µl de MeOH, 10 µl de solution (CH_2COOK) et 10 µl de ($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$). La lecture est effectuée à 415 nm après 2h d'incubation.

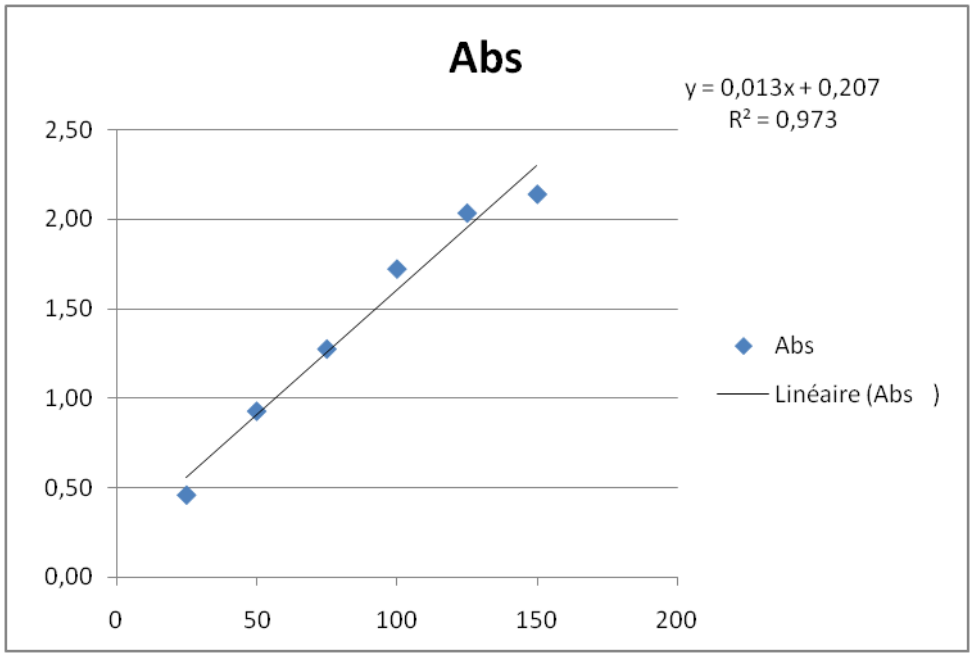


Figure 18: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Résumé

La présente étude consiste à évaluer, *in vitro*, les activités antioxydantes des substances bioactives d'*Artemisia herba alba* et sa teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Pour cela, quatre extraits (éthanolique, butanolique, acétate d'éthyle et méthanolique) de la partie aérienne de l'*Artemisia herba alba* ont été préparés. Pour estimer le pouvoir antioxydant, les IC_{50} des extraits obtenus sont mesurées en utilisant trois tests antiradicalaires: DPPH, ABTS et CUPRAC. De plus, les teneurs en composés phénoliques ont été dosés par des méthodes spectrophotométriques.

Les résultats des rendements des quatre extraits varient selon le solvant utilisé, ils sont compris entre 12,17% et 18,5%. Les valeurs d'IC_{50} en présence du radical DPPH ont révélé que l'extrait méthanolique possède la meilleure activité inhibitrice avec une IC_{50} de 72,07 ± 1,25µg/ml. De plus, le test ABTS a montré que ce même extrait est le plus actif (IC_{50} = 27,19 ± 4,10µg/ml) par rapport aux autres extraits. De même, les valeurs d'IC_{50} pour le test CUPRAC ont confirmé que l'extrait méthanolique était le plus actif avec une IC_{50} de 21,31 ± 0,36µg/ml. La quantification des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonïdes par l'$AICL_3$ a montré que l'extrait méthanolique est très riche en composés phénolique. D'ailleurs, il contient environ 48,41 ± 2,63 mg/g de phénols totaux et 26,03 ± 2,05 mg/g en flavonoïdes.

Ces résultats indiquent qu*'Artemisia herba alba* est riche en composés phénoliques et possède une grande activité antioxydante. En effet, *Artemisia herba alba* peut être donc utilisée comme une source de molécules bioactives ayant des propriétés antioxydantes.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, activité antioxydant, composés phénoliques, DPPH, ABTS, CUPRAC.

Summary

The purpose of this study is to evaluate, *in vitro*, the antioxidant activities of the bioactive substances of *Artemisia herba alba* and its total polyphenols and flavonoïds content. For this purpose, four extracts (ethanolic, butanolic, ethyl acetate and methanol) from the aerial part of the *Artemisia herba alba* were prepared. To estimate the antioxidant potency, the IC_{50} of the extracts obtained are measured at least three antiradicalar tests: DPPH, ABTS and CUPRAC. In addition, the levels of phenolic compounds were determined by spectrophotometric methods.

The yield results of the four extracts vary according to the solvent used, they are between 12.17% and 18.5%. The IC_{50} values for the DPPH radical showed that the methanol extract had the best inhibitory activity with an IC_{50} of 72.07 ± 1.25µg/ml. In addition, the ABTS test showed that the same extract is the most active (IC_{50} = 27.19 ± 4.10µg/ml) compared to the other extracts. Similarly, IC_{50} values for the CUPRAC test confirmed that the methanol extract was most active with an $IC_{50}$of 21.31 ± 0.36µg/ml. The quantification of total phenols by the Folin-Ciocalteu method and flavonoïds by $AICL_3$ showed that the methanol extract is very rich in phenolic compounds. It contains approximately 48.41 ± 2.63 mg/g of total phenols and 26.03 ± 2.05 mg/g of flavonoïds.

These results indicate that *Artemisia herba alba* is rich in phenolic compounds and has a high antioxidant activity. *Artemisia herba alba* can therefore be used as a source of bioactive molecules with antioxidant properties.

Keywords: *Artemisia herba alba*, antioxidant activity, phenolic compounds, DPPH, ABTS, CUPRAC.

الملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة في المختبر للمواد النشطة بيولوجيا في الشيح ومحتواه الكلي من البوليفينول والفلافونويد. ولهذا الغرض، أعدت أربعة مستخلصات (الإيثانوليك، البوتانوليك، أسيتاتالإيثيل والميثانول) من الجزء الجوي من الشيح. لتقدير فعالية مضادات الأكسدة، يتم قياس IC_{50} للمستخلصات التي تم الحصول عليها، على الأقل بثلاث إختبارات مضادة للجذور الحرة: DPPH و ABTS وCUPRAC. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد مستويات المركبات الفينولية من خلال طرق القياس الطيفي. تختلف نتائج مردود المستخلصات الأربعة باختلاف المذيب المستخدم حيث تراوحت بين12.17٪ و18.5٪. كشفت قيم IC_{50} في وجود جذور DPPH أن المستخلص الميثانولي لديه أفضل نشاط مثبط مع IC_{50} من1,25±72,07ميكروغرام / مل. بالإضافة إلى ذلك، أظهر اختبار ABTS أن نفس المستخلص هو الأكثر نشاطًا(IC_{50} = 27,19 ± 4,10 ميكروغرام / مل) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. وبالمثل، أكدت قيم IC_{50} لاختبار CUPRAC أن المستخلص الميثانولي كان الأكثر نشاطًا مع قيم التركيز المثبط 50٪ من 0.36±21.31ميكروغرام / مل. أظهر القياس الكمي لمجموع الفينولات بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بواسطة $AICL_3$ أن المستخلص الميثانولي غني جدًا بالمركبات الفينولية. يحتوي على حوالي 48.41 ±2.63 مجم / جم من الفينولات الكلية و 26,05 ±2.05 مجم / جم من مركبات الفلافونويد. تشير هذه النتائج إلى أن الشيح غني بالمركبات الفينولية وله نشاط كبير مضاد للأكسدة. لذلك يمكن استخدام نبات الشيح كمصدر للجزيئات النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الشيح، النشاط المضاد للأكسدة، مركبات الفلافونويد، DPPH، ABTS، CUPRAC.

Année universitaire : 2021-2022	**Présenté par :** CHOUARFA Yousra BOUNAAS Safia

Etude de pouvoir antioxydante *d'Artemisia herba alba.*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Résumé

La présenteétude consiste à évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydante d'*Artemisia herba alba* et sa teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Pour cela, quatre extraits (éthanolique, butanolique, acétate d'éthyle et méthanolique) de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* ont été préparés. Pour estimer le pouvoir antioxydant, les IC_{50} des extraits obtenus sont mesurées en utilisant trois tests antiradicalaires: DPPH, ABTS et CUPRAC. De plus, les teneurs en composés phénoliques ont été dosés par des méthodes spectrophotométriques.

Les résultats des rendements des quatre extraits varient selon le solvant utilisé, ils sont compris entre 12,17% et 18,5%. Les valeurs d'IC_{50} en présence du radical DPPH ont révélé que l'extrait méthanolique possède la meilleure activité inhibitrice avec une IC_{50} de 72,07 ± 1,25µg/ml. De plus, le test ABTS a montré que ce même extrait est le plus actif (IC_{50} = 27,19 ± 4,10µg/ml) par rapport aux autres extraits. De même, les valeurs d'IC_{50} pour le test CUPRAC ont confirmé que l'extrait méthanolique était le plus actif avec une IC_{50} de 21,31 ± 0,36 µg/ml. La quantification des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par l'$AICL_3$ a montré que l'extrait méthanolique est très riche en composés phénolique. D'ailleurs, il contient environ 48,41 ± 2,63 mg/g de phénols totaux et 26,03 ± 2,05 mg/g en flavonoïdes.

Ces résultats indiquent qu*'Artemisia herba alba* est riche en composés phénoliques et possède une grande activité antioxydante. En effet, *Artemisia herba alba* peut être donc utilisée comme une source de molécules bioactives ayant des propriétés antioxydantes.

Mots-clefs : *Artemisia herba alba*, activité antioxydante, composés phénoliques, DPPH, ABTS, CUPRAC.

Laboratoires de recherche :

Centre en Recherche de Biotechnologie (CRB_T) (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Laboratoire de Biologie et Environnement (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : KASSALAOUR M (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinatrice 1 : BENNAMOUNE L (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinatrice 2 : MOUSSAOUI S (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).