

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 I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biochimie et Biologie cellulaire et
Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم : البيوكيمياء والبيولوجيا الخلوية والجزينية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Evaluation des activités antioxydantes, anticholinestérases, antidiabétiques et antimoisissures
in vitro des extraits de deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum***

Présenté par : Khennaoui Hiba Hadjira
Ghiti Ferial

Le 26/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr BENSOUICI Chawki (MRA- CRBT Constantine).
Examineur 1 : Dr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).
Examineur 2 : Dr BOUANIBA Nour (MCA- UFM Constantine).

**Année universitaire
2021 – 2022**

Remerciement

Avant toutes choses, nous remercions **Dieu**, le tout puissant, de nous avoir guidé le long de nos années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour achever ce travail.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à **Dr. BENSOUICI Chawki** notre encadreur pour nous avoir acceptés malgré ses nombreuses occupations, aussi pour son aide, sa patience, ses conseils et ses encouragements durant la réalisation de ce travail

Nous adressons tous nos remerciements au **Dr. KITOUNI Rachid**, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre travail.

Nous tenons à remercier **Dr. BOUANIBA Nour** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également à toute l'équipe de laboratoires de contrôle de qualité du Centre de Recherche en Biotechnologie en particulier **Mr Mourad, Melle Amina, Melle Linda, Mr Mehdi**

En fin nous adressons nos remerciements à toutes les personnes que nous n'avons pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

On ne fait des progrès notables que dans les études qu'on fait avec amour. J'ai toujours aimé ce que je fais et c'est probablement l'une des raisons pour lesquelles je suis si fière de moi aujourd'hui

Avec la générosité et l'aide d'ALLAH Le majestueux qui m'a donné la patience, le courage et la santé, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie

*A mes **parents***

Pour tous les encouragements qu'ils ont su m'insuffler aux moments difficiles. Je me rends compte que vous avez sacrifié beaucoup de choses pour moi. Merci D'être le parfait exemple d'efforts et de sacrifices. Que dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde le bonheur, la santé et une longue vie.

*A ma **tante** et mes **grands parents***

Merci d'être la meilleure famille que je puisse demander. Votre soutien me donne la force de résister à toute tempête qui se présente à moi.

*A mes frères **Mounder** et **Habib***

*A ma très chère collègue **Ferial** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments le long de la réalisation de ce travail*

*A mes chères copine **Dorsaf**, **Imene**, **Malak** et **Yasmine** pour tous vos encouragements vos aides et la motivation que vous m'avais donné pour complété ce travail*

*Sans oublier mes Collègues **Madjeda** et **Walid***

A toute ma familles, mes amies, mes enseignants et à tous ceux que j'aime...

HIBA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts

A ceux que j'aime le plus au monde

*mes très chers **parents** pour leurs sacrifices et leurs encouragements, et pour m'avoir appris à surmonter mes peurs et d'être là quand cela est nécessaire.*

C'est grâce à votre amour, à vos encouragements, à vos sacrifices et à la confiance que vous m'avez accordée que j'arrive aujourd'hui au terme de ce travail.

A toute ma famille en particuliers mes très chers

*Sœurs **Imen, Djouheina et Soundouse***

Mes copines et mes cousines

Mes dédicaces vont aussi à :

*A ma collègue **Hiba** avec qui j'ai partagé les*

Bons et les durs moments.

*A mes collègues **Madjeda, Walid et Abederhmane***

*À tous qui aime **Ferial** et que j'aime....*

FERIAL

Sommaire

| | |
|-----------------------------|-----|
| Liste des abréviations..... | i |
| Liste des figures | iii |
| Liste des tableaux | vi |
| Liste des équations | xii |
| Introduction générale..... | 1 |

Chapitre I : Généralités et données bibliographiques

| | | |
|---------|---|----|
| 1 | Présentation botanique et géographique des deux familles Asteraceae et Géraniacée | 3 |
| 1.1 | Genre Ambrosia..... | 4 |
| 1.1.1 | Plante Ambrosia artemisiifolia :..... | 5 |
| 1.1.1.1 | Origine et distribution..... | 5 |
| 1.1.1.2 | Position systématique | 6 |
| 1.1.1.3 | Synonyme | 6 |
| 1.1.1.4 | Description botanique..... | 6 |
| 1.2 | Genre Erodium | 8 |
| 1.2.1 | Données pharmacologique sur le genre Erodium : | 8 |
| 1.2.2 | Espèce Erodium montanum | 9 |
| 1.2.2.1 | Distribution..... | 9 |
| 1.2.2.2 | Position systématique | 10 |
| 1.2.2.3 | Synonymes..... | 10 |
| 1.2.2.4 | Description morphologique | 11 |
| 2 | Stress oxydant | 12 |
| 2.1 | Définition..... | 12 |
| 2.2 | Effets du stress oxydant sur l'organisme humain..... | 12 |
| 2.3 | Les radicaux libres | 13 |
| 2.3.1 | Les types des radicaux libres | 13 |
| 2.3.2 | Sources des radicaux libres | 14 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.3.3 | Les espèces réactives de l'oxygène | 15 |
| 2.3.4 | Les espèces réactives de l'azote | 16 |
| 3 | L'activité antioxydante | 16 |
| 3.1 | Évaluation de l'activité antioxydante | 17 |
| 3.2 | Les composés phénoliques | 17 |
| 3.2.1 | Propriétés biologiques des composés phénoliques..... | 17 |
| 3.3 | Mécanismes d'action contre les radicaux libres | 18 |
| 3.4 | Activité antiradicalaire | 19 |
| 3.4.1 | Activité antiradicalaire au DPPH' | 19 |
| 3.4.2 | Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+} | 20 |
| 3.5 | Activité du pouvoir réducteur (FRAP) | 20 |
| 3.6 | Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne..... | 21 |
| 3.7 | Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline..... | 22 |
| 3.8 | Activité Nanoparticules d'argent SNP | 22 |
| 4 | Méthodes de séparation et de purification | 23 |
| 4.1 | Séparations chromatographiques..... | 23 |
| □ | Principe de chromatographie sur couche mince CCM..... | 23 |
| 4.2 | Les tests associant des techniques séparatives | 23 |
| 5 | Activité enzymatique | 24 |
| 5.1 | Evaluation de l'activité anticholinestérase | 24 |
| 5.1.1 | Inhibition de la butyrylcholinestérase | 25 |
| 5.2 | Evaluation de l'activité antidiabétique | 25 |
| 5.2.1 | Inhibition de L'α-amylase..... | 25 |
| 5.3 | Evaluation de l'activité anti-uréase | 26 |
| 5.3.1 | Inhibition de l'uréase..... | 26 |
| 6 | Activité anti-moisissures..... | 27 |
| 7 | Test de Cytotoxicité | 27 |
| 7.1 | Le ver de farine..... | 27 |
| 7.2 | Artemia salina..... | 29 |
| 7.2.1 | Description | 29 |

| | | |
|---------|---|----|
| 7.2.2 | Position systématique : | 31 |
| 7.2.3 | L'utilisation d'Artemia salina : | 31 |
| 8 | Les méthodes de caractérisation et d'identification..... | 32 |
| 8.1 | La spectroscopie infrarouge..... | 32 |
| 8.1.1 | La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) | 32 |
| 8.1.1.1 | Définition..... | 32 |
| 8.1.1.2 | Principe..... | 32 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Le Matériel biologique..... | 34 |
| 1.1 | Le Matériel végétal..... | 34 |
| 1.2 | Artemia salina et vers de farine | 34 |
| 2 | Méthode d'extraction | 34 |
| 2.1 | Macération et extraction | 34 |
| 2.2 | Préparation des dilutions des extraits d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium atlanticum | 36 |
| 3 | Activités biologiques | 37 |
| 3.1 | Activité antioxydante..... | 37 |
| 3.1.1 | Estimation du contenu total en polyphénols (TPC) | 37 |
| 3.1.2 | Piégeage du radical DPPH | 37 |
| 3.1.3 | Estimation de l'activité ABTS | 38 |
| 3.1.4 | Activité de réduction du complexe Cu ⁺² -Neocuproïne (CUPRAC) | 38 |
| 3.1.5 | Estimation de l'activité phénanthroline..... | 38 |
| 3.1.6 | Activité du pouvoir réducteur (FRAP)..... | 39 |
| 3.1.7 | Activité nanoparticule d'argent (SNP)..... | 39 |
| 3.2 | Bio-autographie sur couche mince | 39 |
| 3.3 | Activité inhibitrice des enzymes..... | 40 |
| 3.3.1 | Activité anti-Alzheimer via l'inhibition de la butyrylcholinestérase | 40 |
| 3.3.2 | Activité antidiabétique via l'inhibition de l' α -amylase..... | 41 |
| 3.3.3 | Evaluation de l'activité anti-uréase | 42 |

| | | |
|-----|---|----|
| 4 | Evaluation de l'activité Anti-moisissures | 42 |
| 4.1 | Test sur une sauce tomate | 42 |
| 5 | Evaluation de la cytotoxicité..... | 43 |
| 5.1 | Sur les larves de farine..... | 43 |
| 5.2 | Sur Artémia salina | 44 |
| 6 | Analyse statistique | 45 |

Chapitre III : Résultats et discussions

| | | |
|-----|---|------------|
| 1 | Activité antioxydante | 46 |
| 1.1 | Teneur en polyphénols totaux..... | 46 |
| 1.2 | Activité antiradicalaire au DPPH | 48 |
| 1.3 | Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+} | 51 |
| 1.4 | Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) :..... | 53 |
| 1.5 | Evaluation de l'activité phénanthroline | 56 |
| 1.6 | Activité du pouvoir réducteur (FRAP) | 58 |
| 1.7 | Activité nanoparticule d'argent SNP..... | 60 |
| 2 | La bio-autographie | 63 |
| 3 | Activité enzymatique | 68 |
| 3.1 | Activité anti Alzheimer via l'inhibition de la butyrylcholinestérase..... | 68 |
| 3.2 | Evaluation de l'activité antidiabétique | 70 |
| 3.3 | Activité anti-uréase :..... | 73 |
| 4 | Evaluation de l'activité Anti-moisissures | 75 |
| 5 | Evaluation de la cytotoxicité..... | 76 |
| 5.1 | Sur les larves de farine..... | 76 |
| 5.3 | Sur les larves Artémia salina | 78 |
| 6 | Analyse Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) | 80 |
| | Conclusion et perspectives..... | 84 |
| | Référence bibliographique | 85 |
| | Annexes | 102 |

Résumé

Liste des abréviations

- A_{0.5}** : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
- ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- AChE** : Acétylcholinestérase
- BChE** : Butyrylcholinestérase
- BHA** : Butylhydroxyanisole
- BHT** : Butylhydroxytoluène
- CCM** : chromatographie sur couche mince
- CI₅₀** : Concentration d'inhibition à 50%
- CL₅₀** : Concentration létale a 50 %
- CUPRAC** : Complexe cuivre- néocuproïne
- DPPH** : α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl
- DTNB** : Acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)
- EAG** : Équivalent de l'acide gallique
- ECAA** : extrait chloroformique de la plante ambrosia artemisiifolia
- ECEM** : extrait chloroformique de la plante erodium montanum
- EDTA** : Acide éthylènediaminetétraacétique
- EMAA** : extrait méthanolique de la plante Ambrosia artemisiifolia
- EMEA** : extrait méthanolique de la plante Erodium montanum
- ERA** : espèces réactive de l'azote
- ERO** : espèces réactive de l'oxygène
- EQ** : Équivalent de la quercétine
- FCR** : Folin-Ciocalteu
- FRAP** : Pouvoir réducteur
- FTIR** : La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- g** : Gramme
- HAT** : Transfer de l'atome d'hydrogène
- Kg** : Kilogramme
- MA** : Maladie d'Alzheimer
- mg** : Milligramme
- mm** : millimètre

min : Minute

ml : Millilitre

mmol : Millimole

pH: Potentiel hydrogène

SD : Standard de déviation

SNP : silver nanoparticule

SPR : résonance plasmonique de surface

TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity

TPC : Contenu total en polyphénols

Trolox : Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

UV : Ultraviolet

U : Unité

UV : Ultraviolet

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µmol : Micromole

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Cinq genres de la famille Géraniacée. (A) et (B) <i>Géranium</i> ; (C) <i>Erodium</i> ; (D) <i>Monsonia</i> , (E) <i>Pélargonium</i> ;(F) Hypseocharitaceae | 4 |
| Figure 2 : Carte de répartition des Géraniacées montre le nombre d'endémiques espèces pour chaque genre dans chaque zone.Genre: C : Californie, E : <i>Erodium</i> , G : <i>Géranium</i> , H : <i>Hypseocharis</i> , M : <i>Monsonia</i> , P : <i>Pelargonium</i> | 4 |
| Figure 3 : Répartition mondiale de l'espèce <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | 5 |
| Figure 4 : Photo de la plante <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | 7 |
| Figure 5 : (a) les feuille, (b) les fleurs male, (c) les fleurs femelles d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | 7 |
| Figure 6 : Répartition de l'espèce <i>Erodium montanum</i> | 9 |
| Figure 7 : comparaison entre <i>E.trifolium</i> et <i>E.montanum</i> | 11 |
| Figure 8 : Comparaison des méricarpes | 11 |
| Figure 9 : l'espèce de <i>Erodium montanum</i> | 11 |
| Figure 10 : Photo de la plante <i>Erodium montanum</i> | 12 |
| Figure 11 : Sites de production intracellulaire des ERO..... | 15 |
| Figure 12 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées | 16 |
| Figure 13 : Transformation du radical DPPH• en DPPHH..... | 19 |
| Figure 14 : Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•] | 20 |
| Figure 15 : Mécanisme réactionnel du test FRAP | 21 |
| Figure 16 : Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc ₂ | 21 |
| Figure 17 : Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline..... | 22 |
| Figure 18 : Réduction d'Ag ⁺ en nanoparticules (SNP) | 22 |
| Figure 19 : Les composants d'une cuve chromatographique | 23 |
| Figure 20 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman et al., (1961) | 25 |
| Figure 21 : Formation de NH ₃ et CO ₂ par l'hydrolyse de l'urée | 27 |
| Figure 22 : photos de (A) l'adulte de <i>Tenebrio molitor</i> , (B) <i>Tenebrio molitor</i> | 28 |
| Figure 23 : Image d' <i>Artemia salina</i> | 29 |
| Figure 24 : Des individus d' <i>Artemia salina</i> | 30 |
| Figure 25 : Caractéristiques anatomiques des nauplies d' <i>Artemia salina</i> | 30 |
| Figure 26 : Composant de base du spectromètre infrarouge à transformée de Fourier | 33 |
| Figure 27 : Schéma récapitulatif du mode d'extraction des deux plantes <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 35 |

| | |
|--|----|
| Figure 28 : Schéma de la préparation des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 36 |
| Figure 29 : Mode d'organisation de la microplaque | 36 |
| Figure 30 : La préparation de la plaque pour le test de bioautographie | 40 |
| Figure 31 : Image de la préparation de la plaque pour l'activité Anti-moisissures | 43 |
| Figure 32 : Mode opératoire de test de toxicité..... | 44 |
| Figure 33 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique | 46 |
| Figure 34 : Teneur des polyphénols totaux des extraits des espèces <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 47 |
| Figure 35 : La plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 49 |
| Figure 36 : Valeurs des CI_{50} du test DPPH pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 50 |
| Figure 37 : Les plaques de dosage de l'activité du piégeage du cation radical $ABTS^{\bullet+}$ des extraits d' <i>Ambrosia Artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 51 |
| Figure 38 : Valeurs des CI_{50} du test ABTS pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 52 |
| Figure 39 : La plaque de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 54 |
| Figure 40 : Valeurs des $A_{0,5}$ du test CUPRAC pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 55 |
| Figure 41 : La plaque de dosage de l'activité phénanthroline des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 56 |
| Figure 42 : Valeurs des $A_{0,5}$ dans le test phénanthroline..... | 57 |
| Figure 43 : La plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 58 |
| Figure 44 : Valeurs des $A_{0,5}$ du test pouvoir réducteur pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 59 |
| Figure 45 : La plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur nanoparticule d'argent pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 61 |
| Figure 46 : Valeurs des Valeurs des $A_{0,5}$ du test SNP des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 62 |
| Figure 47 : Plaque CCM pulvériser par une solution ABTS | 65 |
| Figure 48 : Plaque CCM pulvériser par une solution DPPH | 65 |

| | |
|--|----|
| Figure 49 : Plaque CCM pulvériser par une solution de phénanthroline | 65 |
| Figure 50 : plaque CCM pulvériser par une solution de FRAP | 65 |
| Figure 51 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 68 |
| Figure 52 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 69 |
| Figure 53 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 71 |
| Figure 54 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l' α -amylase pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 72 |
| Figure 55 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 73 |
| Figure 56 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'uréase pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 74 |
| Figure 57 : Image de la plaque de l'activité anti-moisissures | 75 |
| Figure 58 : Les vers de farine morte | 76 |
| Figure 59 : Nombre de mortalité de ténébrion Molitor pendant 10 jours | 77 |
| Figure 60 : Pourcentage de mortalité d' <i>Artémia salina</i> | 79 |
| Figure 61 : Spectre infrarouge des extrait d' <i>Erodium montanum</i> et <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | 82 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Arbre taxonomique d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | 6 |
| Tableau 2 : Utilisation ethno pharmacologique des espèces d' <i>Erodium</i> | 8 |
| Tableau 3 : Principales activités des espèces d' <i>Erodium</i> | 9 |
| Tableau 4 : Arbre taxonomique d' <i>Erodium montanum</i> | 10 |
| Tableau 5 : Principale effet du stress oxydant sur l'organisme | 13 |
| Tableau 6 : Type des radicaux libre | 14 |
| Tableau 7 : source et origine des radicaux libres | 14 |
| Tableau 8 : Les composes phénolique et leur propriétés biologique | 18 |
| Tableau 9 : Position systématique de l'espèce tenebrio molitor | 28 |
| Tableau 10 : Position systématique de l'espace <i>Artemia salina</i> | 31 |
| Tableau 11 : L'emplacement des solutions dans la microplaque pour le test α -amylase | 41 |
| Tableau 12 : Mode de remplissage de la plaque pour l'activité Anti-moisissures | 43 |
| Tableau 13 : Les différentes solutions a injectées | 44 |
| Tableau 14 : Le contenu total en polyphénols des extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 47 |
| Tableau 15 : Inhibition du radicale DPPH par les extrais d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 49 |
| Tableau 16 : Inhibition du cation radical ABTS ^{•+} par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 52 |
| Tableau 17 : La capacité antioxydante de réduction du cuivre d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 54 |
| Tableau 18 : Absorbance du pouvoir réducteur par la formation du complexe Fe ²⁺ -phénantroline d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 57 |
| Tableau 19 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 59 |
| Tableau 20 : Absorbance du pouvoir réducteur de nanoparticule d'argent pour les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 61 |
| Tableau 21 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 69 |
| Tableau 22 : Inhibition de l' α -amylase par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 71 |

| | |
|--|----|
| Tableau 23 : Inhibition de l'uréase par les extraits d' <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 74 |
| Tableau 24 : Le taux d'infection des échantillons de la tomate traité par les extraits des deux plantes <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> | 75 |
| Tableau 25 : Nombre de mortalité de ténébrion <i>Molitor</i> pendant 10 jours..... | 77 |
| Tableau 26 : Pourcentage de mortalité d' <i>Artémia salina</i> | 79 |
| Tableau 27 : Les bandes caractéristiques du spectre des extraits <i>d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | 80 |

Liste des équations

| | |
|---|----|
| Équation 1 : Pourcentage d'inhibition du DPPH..... | 37 |
| Équation 2 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS..... | 38 |
| Équation 3 : Pourcentage d'inhibition de BChE. | 41 |
| Équation 4 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase. | 41 |
| Équation 5 : Pourcentage d'inhibition de l'uréase..... | 42 |
| Équation 6 : Pourcentage d'infection de la sauce tomate..... | 42 |
| Équation 7 : Pourcentage de mortalité d' <i>Artémia salina</i> | 45 |

Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'homme n'a cessé de chercher à subvenir de ses besoins en puisant dans la nature qui lui assure non seulement ses besoins nutritionnels et vestimentaires mais également médicamenteux. **(boutaghane, 2013)**.

La phytothérapie est l'une des vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressant pour traiter et soigner sans crée de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours ces deux type de médication se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante **(Shu, 1998)**.

Les avancées de la médecine ont permis de mieux comprendre la physiologie du corps humain et les réactions chimiques permettant son bon fonctionnement. Dès lors, bon nombre de pathologies ont vu leurs mécanismes de survenue identifiés. L'oxydation, si elle est nécessaire à la vie, peut aussi avoir un effet délétère : le stress oxydant peut causer de sévères dommages cellulaires. Pour se protéger de ce type d'agression, notre organisme produit ou fait appel à une source exogène d'antioxydants. **(Thomas, 2016)**.

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est fortement impliqué dans l'initiation du stress oxydant caractérisé par un déséquilibre entre la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité du corps à les neutraliser **(Sy et al., 2018)**.

Les ERO regroupant les radicaux libres comme l'ion superoxyde, l'ion hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène, est produites normalement dans les cellules durant le métabolisme, sont des molécules hautement réactives, toxiques et responsables de nombreux dommages vis-à-vis des constituants cellulaires de l'organisme **(Govindarajan et al., 2005)**. En raison de l'implication des radicaux libres dans l'étiologie de diverses pathologies notamment le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les rhumatismes, le vieillissement **(Thayyil et al., 2016)**, Pour diminuer ces effets, l'apport d'antioxydants dans des quantités adéquates par le biais de l'alimentation ou de compléments enrichis constitue, en plus des molécule de source naturelles. **(Hadj Salem, 2009)**.

Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils peuvent être hydrophobes ou hydrophiles. **(MECHERNENE, 2014)**.

La capacité antioxydante est liée à des composés capables de protéger un système biologique contre l'effet potentiellement nocif de processus ou de réactions impliquant des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS et RNS). **(Karadag et al., 2009)**

Les composés phénoliques sont parmi les produits secondaires végétaux les plus largement distribués et se trouvent dans de nombreuses plantes utilisées comme aliments pour l'homme et les animaux. Récemment, la capacité des composés phénoliques à servir d'antioxydants a été reconnue. **(Hagerman et al., 1998)**

Ces effets protecteurs des antioxydants ont reçu une attention croissante dans les domaines biologiques, médicaux, nutritionnels et agrochimiques et ont entraîné l'exigence de méthodes de détermination de la capacité antioxydante simples, pratiques et fiables. **(Karadag et al., 2009)**

Ce travail de mémoire de master a pour objectif principal, l'extraction chimique et l'évaluation du pouvoir biologique de deux espèces de plantes médicinales *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*. Ainsi que ce manuscrit est subdivisé en trois parties :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités bibliographiques sur les deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* et leur utilisation en tant que bioconservateur ainsi que sur l'utilisation la spectroscopie infrarouge et des généralités sur les activités antioxydante, anticholinestérase, et antidiabétique.
- Le second chapitre concerne la description du matériel végétal et les méthodes d'extractions, d'évaluation des activités antioxydantes, anticholinestérase, antidiabétique. Ainsi que l'analyse spectroscopique infrarouge des extraits et les tests de cytotoxicité et la propriété bioconservateur.
- Le troisième chapitre comprend les résultats et discussion des activités antioxydantes, anticholinestérase, antidiabétique. Ainsi que les résultats de l'analyse des extraits par la spectroscopie infrarouge, les tests de cytotoxicité et de phytotoxicité

**Généralités
&
données bibliographiques**

1 Présentation botanique et géographique des deux familles

Asteraceae et Géraniacée

➤ La famille des Asteraceae

Les astéracées ou la famille du tournesol est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, comprenant plus de 1600 genres et 25 000 espèces dans le monde. (Rolnik & Olas, 2021). Les Asteraceae connaissent une distribution géographique mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. (boutaghane, 2013).

La majorité des membres de la famille des *Astéracées* ont des applications thérapeutiques et ont une longue histoire en médecine traditionnelle : certains membres sont cultivés depuis plus de 3000 ans à des fins alimentaires et médicales. (Rolnik & Olas, 2021).

➤ La famille des Géraniacée

Géraniacée dans l'ordre des Géraniales, est une famille de plante à fleurs dicotylédones, composée de 5 à 7 genres avec environ 830 espèces (figure 1), largement distribué dans les régions tempérées, subtropicales et tropicales (figure 2). (Albers & Van der Walt, 2007)

- **Les plantes** sont des herbes annuelles ou vivaces ou des sous arbustes
- **Les feuilles** sont simples ou composées, alterne ou opposer, divisées palmées ou pennées
- **Les fleurs** sont généralement bisexuées, actinomorphes, solitaires ou disposées en cymes et en pseudo ombelles
- **Les graines** sont pendantes, généralement avec peu d'endosperme ou exalbuminées
- **Les fruits** schizocarpiques est formé à partir de cinq carpelles accolés et attachés à la capsule enveloppant la graine à la base du fruit. (Albers & Van der Walt, 2007). À maturité, les carpelles se séparent de manière élastique autour d'un axe central (nommé le bec). (Abraham & Elbaum, 2013)



Figure 1 : Cinq genres de la famille Géraniacée. (A) et (B) *Géranium*; (C) *Erodium* ; (D) *Monsonia*, (E) *Pélargonium* ;(F) Hypseocharitaceae (**Julius et al., 2017**)

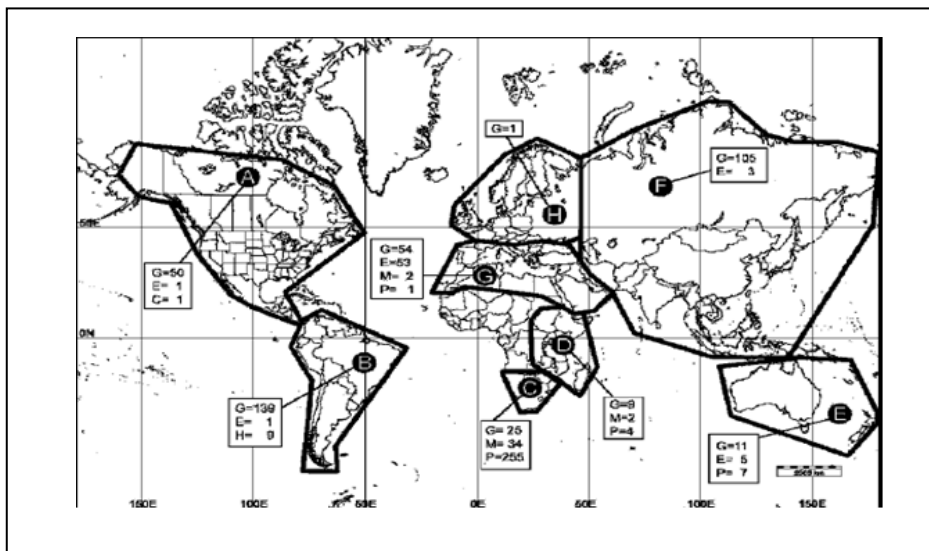


Figure 2 : Carte de répartition des Géraniacées montre le nombre d'endémiques espèces pour chaque genre dans chaque zone. Genre: C : Californie, E : *Erodium*, G : *Géranium*, H : *Hypseocharis*, M : *Monsonia*, P : *Pelargonium* (**Fiz et al., 2008**)

1.1 Genre *Ambrosia*

Phylogénétiquement, le genre *Ambrosia* est proche des genres *Hymenoclea*, *Franseria* (= *Ambrosia*) et dans une moindre mesure aux genres *Iva* et *Xanthium*. Le genre *Ambrosia* est présent depuis de nombreuses décennies sur tous les continents et plus particulièrement entre les latitudes 45° et 30° nord et sud. (**Fumanal, 2007**).

L'ambrosie contiendrait entre 21 et 41 espèces dans le monde qui sont des plantes annuelles ou vivaces de courte durée de la famille des Asteraceae. Toutes les espèces du genre *Ambrosia* sont natives du continent américain à l'exception d'*Ambrosia maritima* L. qui est originaire de la région méditerranéenne (Gerber et al., 2011).

1.1.1 Plante *Ambrosia artemisiifolia* :

1.1.1.1 Origine et distribution

Ambrosia artemisiifolia est originaire d'Amérique du Nord, comme l'indique le pollen fossile trouvé dans les sédiments interglaciaires canadiens datant de 60 000 ans. Cette espèce aurait colonisé le Nord du Canada lors des périodes postglaciaires puis plus récemment lors de l'anthropisation des milieux et les habitats nouvellement ouverts qui lui ont fourni une niche écologique favorable à sa dispersion. Elle semble être devenue plus abondante au cours des deux derniers siècles avec les activités des Indiens d'Amérique et des colons européens. L'ambrosie a été introduite à la fin du 19^{ème} siècle et au cours du 20^{ème} siècle dans de nombreuses régions du monde (Fumanal, 2007).

Elle est aujourd'hui répertoriée en Amérique du Sud, en Australie, en Europe et en Asie. Sa colonisation mondiale fut surtout causée par le transport de semences contaminées. L'habitat d'*ambrosia artemisiifolia* est très varié, elle peut croître dans divers milieux tels que les terrains abandonnés, les bordures de voies ferrées, les terrains résidentiels et les terres agricoles. (Lambelet et al., 2005)

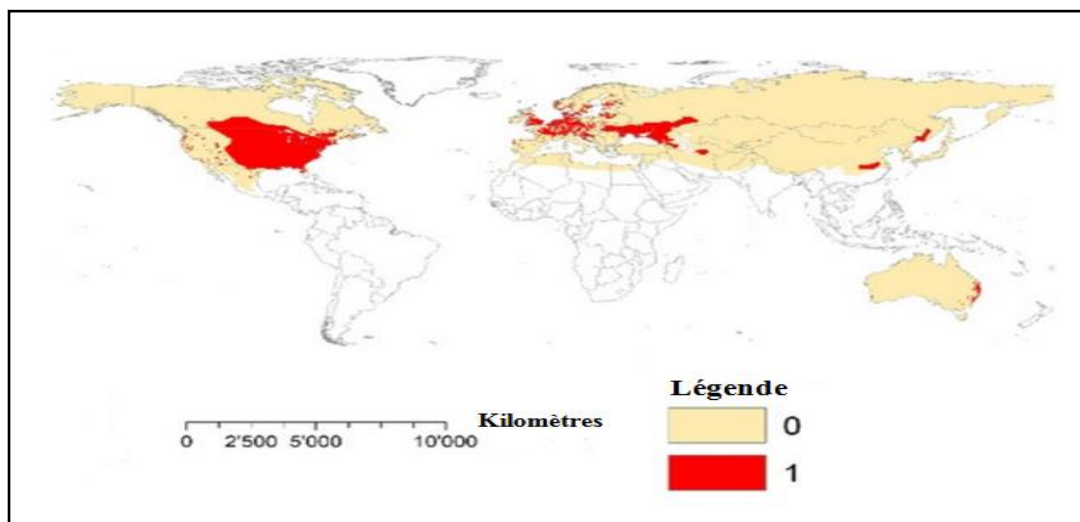


Figure 3 : Répartition mondiale de l'espèce *Ambrosia artemisiifolia* (Essl et al., 2015)

1.1.1.2 Position systématique

Tableau 1 : Arbre taxonomique d'*Ambrosia artemisiifolia* (**Ambrosia artemisiifolia L., s. d.**)

| | |
|----------------------|-------------------------|
| Domaine | Eucaryote |
| Royaume | Plantae |
| Embranchement | Spermatophyte |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Astérales |
| famille | Astéracées |
| Genre | Ambrosia L. |
| Espèce | Ambrosia artemisiifolia |

1.1.1.3 Synonyme

Ambrosia artemisiifolia L. ou elatior L. Nom courant : Ambroisie à feuilles d'armoise ou Ambroisie élevée. (**Giroud, 2007**)

- *Autres noms :*

Anglais : herbe à poux annuelle ; amertume; herbe noire; mauvaise herbe de carotte; rhume des foins; herbe à foin; Berce du Caucase; petite herbe à poux; absinthe romaine; petite herbe à poux; petite herbe à poux; bête; tanaïsie sauvage

Espagnol : altamisa ; amargosa; ambrosia de hojas de ajeno; armoise de terre; domaine

Français : absinthe du Canada ; ambrosie aux feuilles d'armoise ; l'ambroisie ; petite herbe à poux.

1.1.1.4 Description botanique

L'Ambroisie à feuilles d'armoise est une plante herbacée, annuelle. Sa taille moyenne est de 20-90 cm. Sur un sol fertile, elle se développe plus rapidement et de manière plus importante. Elle peut donc prendre une forme buissonnante, et atteindre une hauteur de 2 mètres. Sur un sol plus sec, elle sera plus petite. Sa racine est pivotante. Elle forme un chevelu grêle (**Giroud, 2007**).

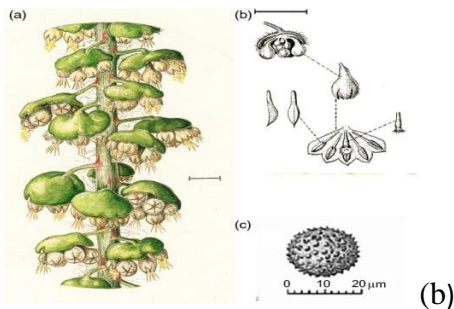


Figure 4 : Photo de la plante *Ambrosia artemisiifolia* (Nakahara et al., 2018)



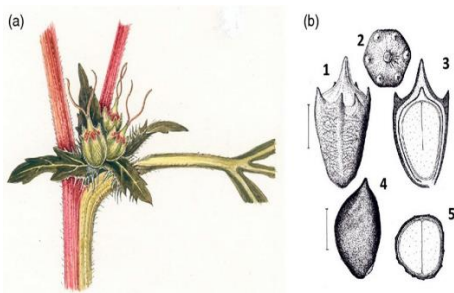
(a)

Ses feuilles sont pennatiséquées. Elles sont à poils courts, triangulaires à ovales dans leur contour, vertes sur les deux faces, et les plus grandes divisions sont encore une fois divisées ou dentées. En haut de la plante, elles deviennent alternes.



(b)

Les fleurs mâles, regroupées à l'extrémité de l'épi, en constituent l'essentiel. En forme de cupule renversée, les capitules vert jaunâtre (de 4-5 mm de largeur), rattachés à l'épi par un pétiole, renferment ces fleurs mâles. Un épi comprend de 20 à 50 capitules.



(c)

Les fleurs femelles, verdâtres, sont très discrètes, insérées à l'aisselle des feuilles à la base des épis sous forme de glomérules sessiles, isolées ou groupées par deux. (Giroud, 2007)

Figure 5 : (a) les feuille, (b) les fleurs male, (c) les fleurs femelles d'*Ambrosia artemisiifolia* (Essl et al., 2015)

1.2 Genre *Erodium*

Le genre *Erodium* a été décrit en 1789 par Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. ; Ce genre cosmopolite compte plus de 63 espèces. Sa distribution est basée autour de la mer méditerranée mais s'étend à travers l'Asie jusque en Chine et a également présente en Australie, en Amérique du sud et en Amérique du nord (Fiz-Palacios et al., 2010).

1.2.1 Données pharmacologique sur le genre *Erodium* :

Les espèces d'*Erodium* sont utilisées en médecine traditionnelle dans plusieurs pays comme agent thérapeutique pour traiter plusieurs maladies (indigestion, inflammations urinaires, diabète, constipation, eczémas, gastro-intestinale, hémorragie et anasarque) (Munekata et al., 2019).

Une étude récente indique qu'*Erodium* spp comme source pertinente de composés ayant des effets antioxydants, antimicrobiens et autres effets sur la santé (Ljoljić Bilić et al., 2020).

Tableau 2 : Utilisation ethno pharmacologique des espèces d'*Erodium* (Munekata et al., 2019)

| Espèce | Usage thérapeutique |
|------------------------|---|
| <i>E. absinthoides</i> | Indigestion et inflammations urinaire |
| <i>E. gruinum</i> | Diabète et comme carminatif |
| <i>E. cicutarium</i> | Saignement utérin et traitement Anasarque |
| <i>E. malacoides</i> | Maladies du système circulatoire, problèmes de peau, perte de cheveux et brûlures |

Tableau 3: Principales activités des espèces d'*Erodium* (Munekata et al., 2019)

| Espèce | Activité biologique |
|---|---------------------|
| <i>E. petraeum</i> | Antioxydant |
| <i>E. botrys</i> | |
| <i>E. gruinum</i> | |
| <i>E. glaucophyllum</i> | Anti inflammatoire |
| <i>E. cicutarium</i> | |
| <i>E. absinthoide</i> , <i>E. ciconium</i> <i>E. cicutarium</i> | Anti microbienne |
| <i>E. Cicutarium</i> | Anti virale |

1.2.2 Espèce *Erodium montanum*

1.2.2.1 Distribution

Endémique au Algérie et Tunisie dans les fentes des petites falaises : roches de montagnes.

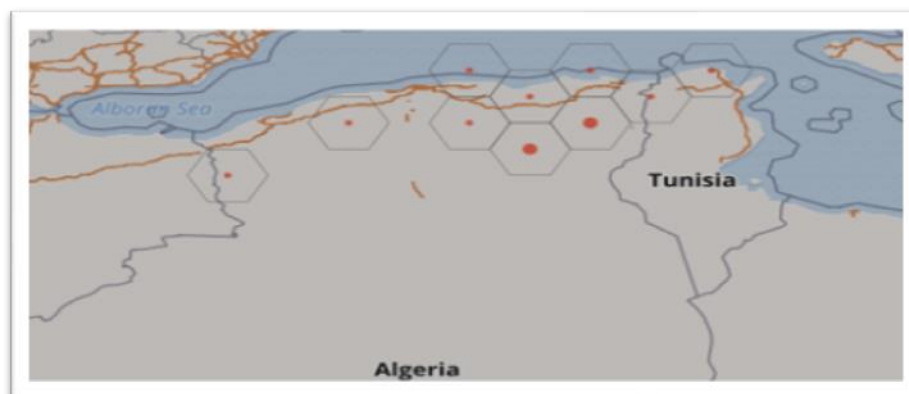


Figure 6 : Répartition de l'espèce *Erodium montanum*

1.2.2.2 Position systématique

Tableau 4 : Arbre taxonomique d'*Erodium montanum*

| Règne | Plantae |
|------------------|--|
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Geraniales |
| Famille | Geraniaceae |
| Genre | Erodium |
| Espèce | <i>Erodium montanum</i> Coss. & Durieu |
| Nom générique | Érodion |
| Nom scientifique | <i>Erodium montanum</i> Coss. & Durieu |

1.2.2.3 Synonymes

Erodium trifolium (Cav.) Cav. (*Eroduim montanum*, 1856)



E. trifolium (Cav.) Cav. Falaises de Constantine 630 m d'alt.



E. montanum Coss. & Dur. Monts du Belezma (Alg.) 1500 m d'alt.

Figure 7 : comparaison entre *E.trifolium* et *E.montanum* (Guittonneau, s. d.)

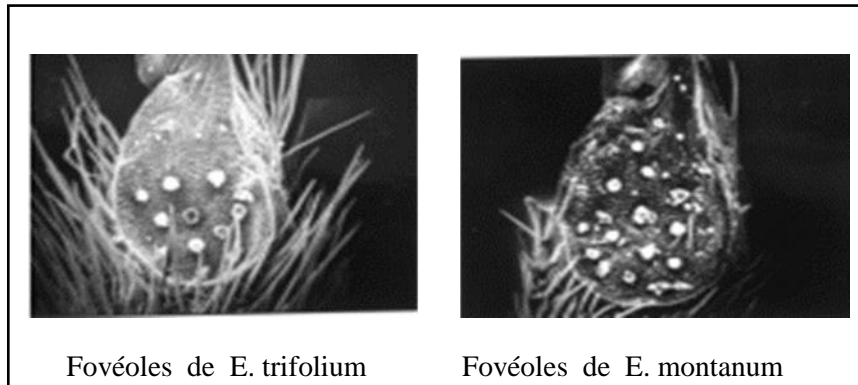


Figure 8 : Comparaison des méricarpes (Guittonneau, s. d.)

1.2.2.4 Description morphologique

C'est une plante à feuilles divisées jusqu'au 2/ en 3 lobes arrondis crénelés. Elle est en général courtement caulescente. Fleurs rose foncé. Filet des étamines bidenté. (K. Rebbas, 2020) .



Figure 9 : L'espèce de *Erodium montanum* (H. parraudière, 1853)



Figure 10 : Photo de la plante *Erodium montanum* (Balansa, 1853)

2 Stress oxydant

2.1 Définition

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages cellulaires oxydatifs. (Sy et al., 2018)

Il peut être d'origine accidentelle comme un état d'inflammation, une exposition à des radiations ou à des xénobiotiques prooxydants. Il peut être aussi d'origine génétique comme un déficit dans l'expression d'enzymes de défense antioxydants.

Ce déséquilibre a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Robert Barouki, 2006).

2.2 Effets du stress oxydant sur l'organisme humain

Les radicaux libres de l'oxygène réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui entraîne certaines modifications de ces dernières. Elles perdent alors leur activité au sein de la cellule et cela a un impact sur le fonctionnement cellulaire physiologique (Tableau 5).

Tableau 5 : Principale effet du stress oxydant sur l'organisme

| Effet | Effets sur l'organisme | Référence |
|------------------------------------|---|---|
| Effets moléculaires | Altération des membranes lipidiques Altération de l'ADN Altération des protéines | (Valko et al., 2006) |
| Effets sur le système immunitaire | Inflammation Phagocytose | (Zbadi et al., 2018) (Russo-Marie F, 1998) |
| Affections liées au stress oxydant | Athérosclérose Cancers Diabète de type 2 Maladies neurodégénératives Maladies rhumatismales | (DELATTRE et al., 2007) |

2.3 Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont considérés comme les molécules qui, dans leur structure atomique, ont un électron non apparié ou impair dans l'orbite externe, ce qui lui confère une configuration spatiale qui génère une forte instabilité. C'est une entité chimique qui, contrairement à la tendance spontanée normale des électrons situés dans les atomes et les molécules à former des paires, est non appariée. Cela le rend très instable, extraordinairement réactif, avec une énorme capacité à se combiner de manière non spécifique dans la plupart des cas, ainsi qu'avec la diversité des molécules qui composent la structure cellulaire : glucides, lipides, protéines, acides nucléiques et dérivés de chacun d'eux. (Rodríguez Perón et al., 2001)

2.3.1 Les types des radicaux libres :

Les radicaux libres qui interviennent ont soit un électron célibataire centré sur un atome d'oxygène, ce qui leur confère la dénomination d'espèces oxygénées réactives (EOR), soit centré sur un atome d'azote, d'où l'appellation d'espèces azotées réactives (EAR) (Choteau-Mary, 2011)

Tableau 6 : type des radicaux libre (Halliwell, 1996)

| | <i>Espèces radicalaires</i> | <i>Espèces non radicalaires</i> |
|------------|---|--|
| ERO | Alkoxyde RO ⁻ Anion superoxide O ₂ ⁻ Hydroxyle OH ⁻ Hydroperoxyde HO ₂ Peroxyde RO ₂ ⁻ | Acide hypochloreux HOCl Oxygène singulet ¹ O ₂ Ozone O ₃ Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ |
| ERA | Dioxyde d'azote NO ₂ ⁻ Oxyde nitrique NO [·] | Acide nitreux HNO ₂ Acide peroxy nitreux ONOOH Alkyl peroxy nitrites ROONO Cation nitronium NO ₂ ⁺ Peroxyde d'azote N ₂ O ₄ Peroxy nitrite ONOO ⁻ Trioxycide d'azote N ₂ O ₃ |

2.3.2 Sources des radicaux libres

Dans l'organisme, les radicaux libres peuvent être formés à partir des substances endogènes et exogènes.

Tableau 7 : source et origine des radicaux libres

| Source | Origine | référence |
|--|---|-----------------------------|
| Production intracellulaire (Endogène) | <ul style="list-style-type: none"> • NAD(P) H • oxydase membranaire • Mitochondrie • Les cytochromes P450 • Xanthine oxydase • Métabolisme de l'acide arachidonique • les cellules phagocytaires • le mécanisme leucocytaire. | (Valko et al., 2006) |

| | | |
|--|--|---|
| <p>Production extracellulaire (Exogène)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Les rayonnements UV • Tabagisme. radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels consommation d'alcool | <p>(D.-J. Gambini, 2013)</p> <p>(Mena et al., 2009)</p> |
|--|--|---|

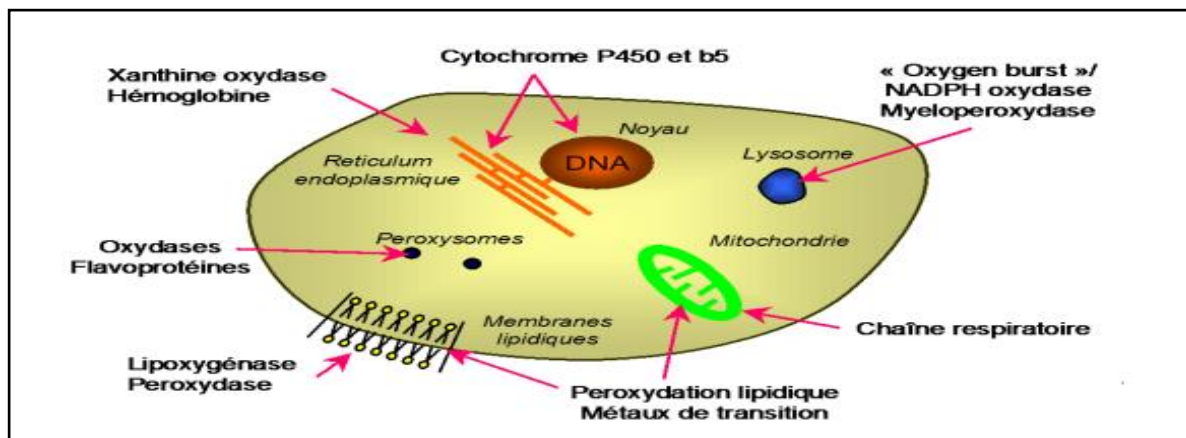


Figure 11 : Sites de production intracellulaire des ERO (L J Machlin & A Bendich, 1987)

2.3.3 Les espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) qui sont particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire, en particulier dans les mitochondries des cellules. Les espèces réactives de l'oxygène ont un rôle très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique (comme messagers secondaires) ou un effet toxique en agissant avec l'environnement chimique y compris une gamme de substrats biologiques importants (lipides, protéines, ADN, sucres, etc.). comme ils peuvent activer indirectement des gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies. (Haleng et al., 2007).

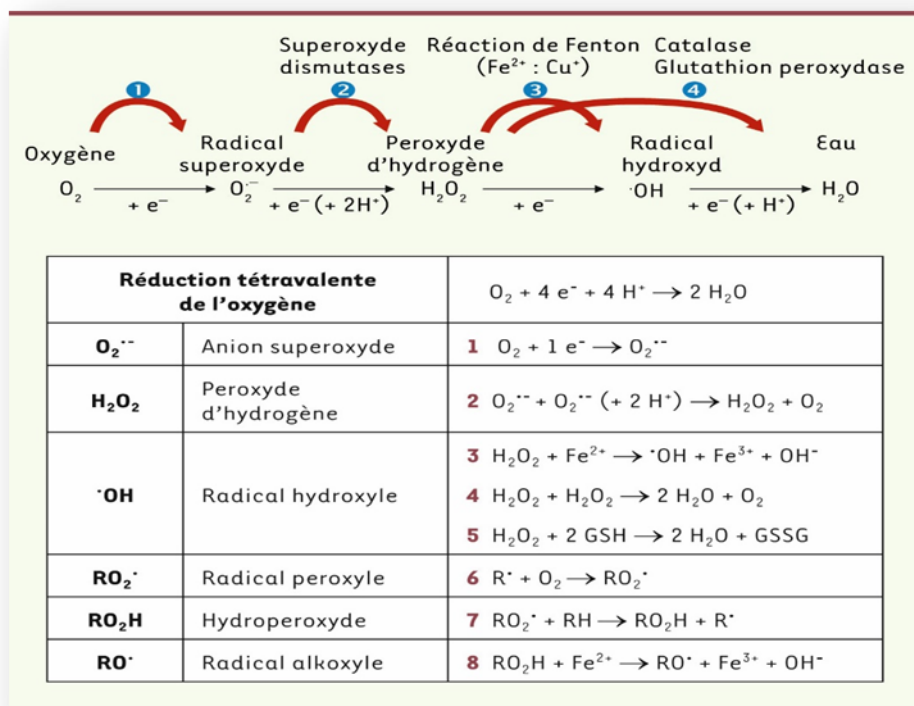


Figure 12 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal & Serres, 2011)

2.3.4 Les espèces réactives de l'azote :

Les espèces réactives de l'azote proviennent de la réaction des ROS avec le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . Ces réactions sont catalysées par la NO synthase dont il existe trois (03) types : neuronale, endothéliale ou inducible. Dans des conditions physiologiques, l'oxyde d'azote est faiblement réactif. C'est l'action de l'anion superoxyde sur l'oxyde d'azote qui entraîne la formation de réactifs ayant une réactivité élevée (Thomas, 2016)



3 L'activité antioxydante

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies sont disponibles, permettant d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. (Thomas, 2016)

3.1 Évaluation de l'activité antioxydante

Il existe de très nombreuses techniques pour évaluer l'activité antioxydante de substances ou d'extraits naturels. Etant donné la multitude de mécanismes d'oxydation et leur complexité, ces méthodes sont très difficiles à standardiser et il n'existe pas de test idéal. Afin d'avoir une indication précise du potentiel antioxydant d'un échantillon, une possibilité est de combiner plusieurs méthodes. Les méthodes sont basées sur l'utilisation de radicaux libres (TEAC, DPPH, TRAP) ou d'ions métalliques (Folin-Ciocalteu, FRAP) (MERCK, 2017).

3.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires. Ils sont très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation. Nous les consomons sous forme de fruits ou de légumes par exemple. Leur structure comporte un ou plusieurs groupes phénoliques. Leur étude a été croissante ces dernières décennies en raison de leurs bienfaits sur la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant mais aussi dans la prévention ou le traitement de nombreuses pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives ; Ils sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique ou dans l'industrie pharmaceutique comme additifs (McCall & Frei, 1999)

3.2.1 Propriétés biologiques des composés phénoliques

En plus de leur capacité antioxydante, les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines industriels.

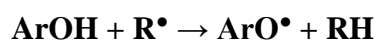
Tableau 8 : Les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques

| Composé phénolique | Activité biologique | référence |
|---|--|------------------------------------|
| les flavonoïdes. | Antioxydant | (Xia et al., 2010) |
| l'acide gallique les flavanols les tanins | antimicrobiennes | (Nassiri-Asl & Hosseinzadeh, 2009) |
| Acides phénoliques | antibactérienne, antivirale | (Cheng et al., 2008) |
| Phénols | antibactérienne, antifongique antivirale | (Xia et al., 2010) |

3.3 Mécanismes d'action contre les radicaux libres

Le mécanisme de piégeage des radicaux libres par les polyphénols se fait par :

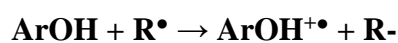
- le transfert de l'atome d'hydrogène (H-atom transfer ou HAT). Le radical libre est réduit par transfert de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant (ArO-H) vers le radical (R•).



❖ 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
- par réaction avec un autre radical libre (Thomas, 2016)

- le transfert d'électron (SET, *Single Electron Transfer*): (Apak et al., 2016)



Les polyphénols jouent un rôle important, ils sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre.(Moran et al., 1997).

3.4 Activité antiradicalaire

Cette activité traduit la capacité des composés antioxydants à empêcher l'action d'un radical libre sur une cible, en les piégeant directement ou en protégeant la cible par des mécanismes de transfert d'électron(ET) ou transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) (Apak et al., 2016) (Ak & Gülçin, 2008).

3.4.1 Activité antiradicalaire au DPPH•

Cette méthode a été développée par (Blois, 1958) dont l'objectif est de déterminer l'activité antioxydante en employant un radical libre stable l' α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl.(Contreras-Guzmán & Strong III, 1982).

Le test DPPH est simple et l'une des méthodes les plus largement utilisées. Il est basé sur la réduction du radical violet DPPH par l'antioxydant via un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène pour provoquer un changement de couleur en molécules DPPH jaune pâle stable. Le radical violet DPPH restant est mesuré par spectrophotomètre UV-Vis à environ 515-250 nm pour déterminer l'activité antioxydante. Ce test fournit des informations utiles sur la capacité antioxydante à donner des atomes d'hydrogène, sur la capacité réductrice de la réaction et sur le mécanisme entre le radical libre et l'antioxydant. Le test est aussi simple puisqu'il n'est associé qu'au réactif radicalaire DPPH et à l'antioxydant. (Sirivibulkovit et al., 2018).

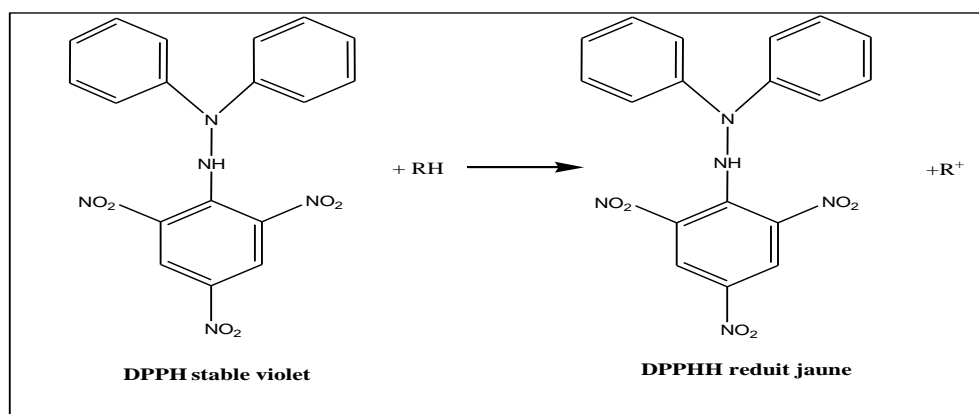


Figure 13 : Transformation du radical DPPH• en DPPHH (Gülçin, 2012)

3.4.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Le test TEAC est largement utilisé pour tester la capacité antioxydante des échantillons alimentaires. L'ABTS est un substrat de la peroxydase qui, lorsqu'il est oxydé par des radicaux peroxyde ou d'autres oxydants en présence de H₂O₂ génère un radical métastable cation ABTS^{•+} qui est intensément coloré et peut être surveillé par spectrophotométrie dans la gamme de 600–750 nm. La capacité antioxydante des composés est mesurée pour déterminer la diminution de la couleur réagissant directement avec l'ABTS^{•+} radical et elle est exprimé par rapport au Trolox (Karadag et al., 2009).

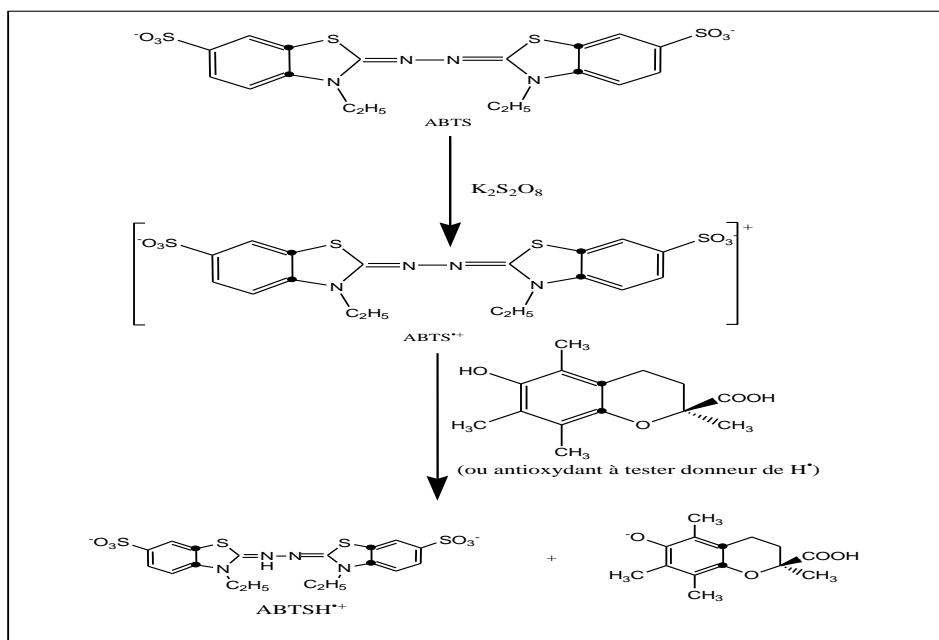


Figure 14 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Gülçin, 2012)

3.5 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe⁺³) présent dans le ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) en fer ferreux (Fe⁺²) et la formation de ferricyanure de potassium (K₄[Fe(CN)₆]). (Pellegrini et al., 2003)

Ceci se traduit par le changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) vert une couleur bleu verte (Chou et al., 2003)

Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant, de par la nature de la réaction de réduction, l'antioxydant doit présenter une capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm (Thomas, 2016).

Le test FRAP est peu coûteux, les réactifs sont simples à préparer, les résultats sont hautement reproductibles et la procédure est simple et rapide. (Benzie & Strain, 1996).

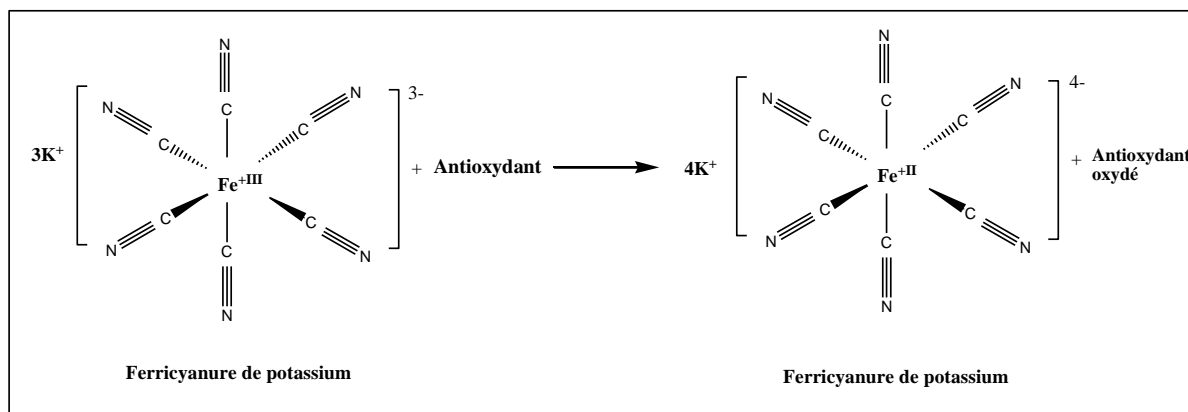


Figure 15 : Mécanisme réactionnel du test FRAP (Gülçin, 2012)

3.6 Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne

La méthode CUPRAC est basée sur la mesure l'absorbance du complexe cuivre-néocuproïne $[Cu^{2+}-Nc_2]$ formé en raison de la réaction redox entre un antioxydant et le complexe cuivre-néocuproïne. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^+-Nc , cette réaction est quantifiée à une longueur d'onde de 450 nm. (Karadag et al., 2009).

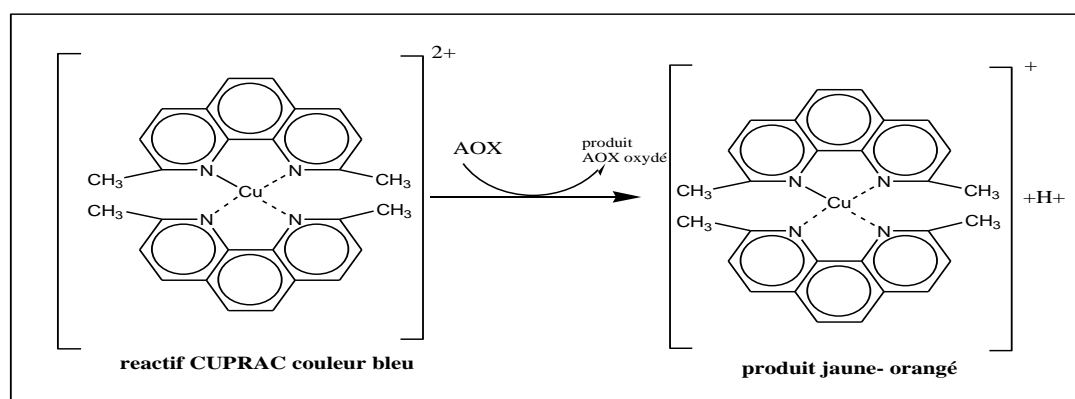


Figure 16 : Réduction du complexe chromogène de $Cu^{2+}-Nc_2$ (Özyürek et al., 2011)

3.7 Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} - phénanthroline

La 1,10-phénanthroline (o-phen) est utilisée pour caractériser l'ion ferreux Fe^{2+} en formant le tris (1,10-phénanthroline) $\text{Fe}(\text{II})$ appelé ferroïne : $[\text{Fe}(\text{o-phen})_3]^{2+}$, complexe rouge orangé. Ce dernier, peut aussi être oxydé en tris (1,10-phénanthroline) $\text{Fe}(\text{III})$ ou ferroïne : $[\text{Fe}(\text{o-phen})_3]^{3+}$, complexe de couleur bleue. (Bergounhou, 1996).

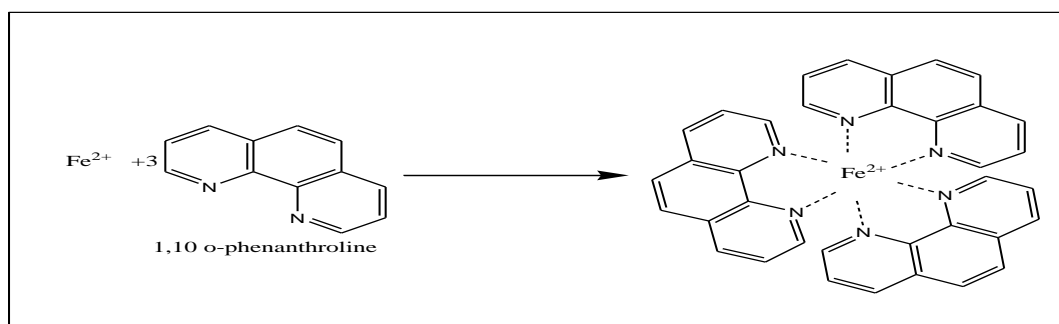


Figure 17 : Formation du complexe Fe^{2+} -phénanthroline (Agustina et al., 2015)

3.8 Activité Nanoparticules d'argent SNP

Cette méthode est basée sur la réduction des ions Ag^+ par les antioxydants en présence de graines d'argent stabilisées au citrate. La réduction de l' Ag^+ aux nanoparticules d'argent sphériques (SNP) par des antioxydants produit une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface (SPR) très intense de SNP à 423 nm. (Özyürek et al., 2012).

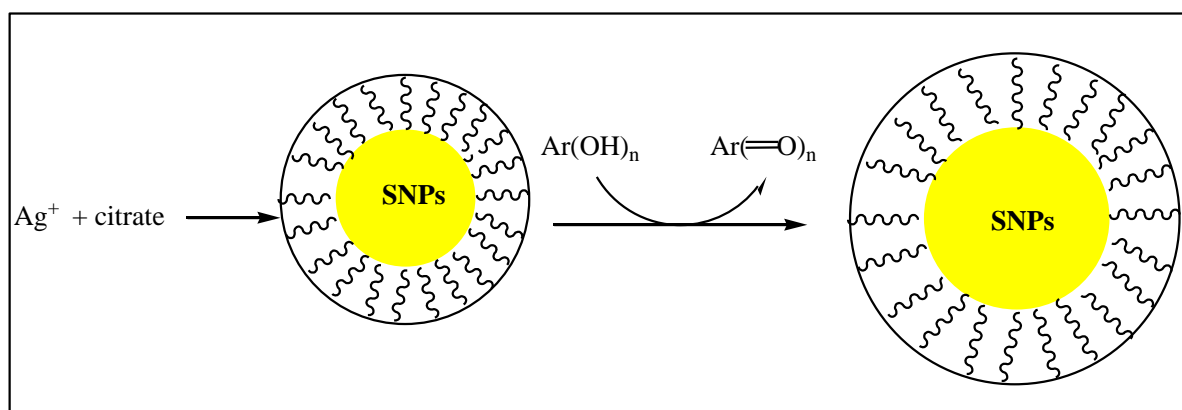


Figure 18 : Réduction d' Ag^+ en nanoparticules (SNP) (Özyürek et al., 2012)

4 Méthodes de séparation et de purification

4.1 Séparations chromatographiques

La chromatographie est la science qui étudie la séparation des molécules en fonction de leurs différences structurales pour analyser, identifier, purifier et/ou quantifier des composés. La séparation des composantes de l'échantillon se fait en fonction des interactions (plus ou moins fortes) que ces derniers créent avec deux phases non miscibles (stationnaires et mobiles). Ainsi, les composés migrent à des vitesses différentes de sorte que même des molécules chimiquement proches peuvent être séparées les unes des autres (**Debenedetti, 2009**).

➤ Principe de chromatographie sur couche mince CCM

Les analyses chromatographiques sont effectuées sur plaque de CCM gel de silice F254 (Merck) la phase mobile est constituée d'un mélange de solvants située au fond de la cuve. Les plaques sont observées sous UV à 254 nm et à 365 nm au visible. (**chaib, 2018**)

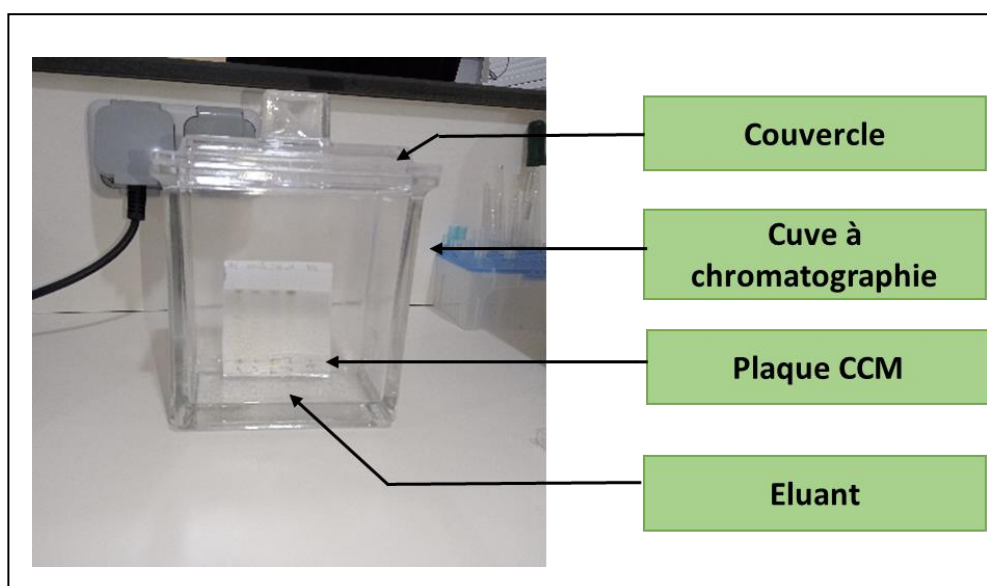


Figure 19 : Les composants d'une cuve chromatographique

4.2 Les tests associant des techniques séparatives

➤ La bioautographie

La mise en évidence des différents composés chimiques dans les extraits s'est faite par chromatographie sur couche mince (CCM). Cette méthode permet la mise en évidence de

plusieurs groupes de métabolites secondaires par des colorations spécifiques soit dans le visible ou à une longueur d'onde donnée (**Kouadio et al., 2015**).

5 Activité enzymatique

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui sont un composant indispensable des réactions biologiques. Ces derniers sont hautement spécifiques et catalysent les réactions plus rapidement que les catalyseurs chimiques. Les enzymes sont maintenant utilisées dans divers secteurs de l'industrie. Ils sont utilisés dans les détergents, l'industrie du papier, l'industrie textile, l'industrie alimentaire et dans de nombreuses autres applications industrielles (**Sundarram & Murthy, 2014**).

5.1 Evaluation de l'activité anticholinestérase

Les médicaments actuels (tacrine, rivastigmine et donépézil) ayant une activité inhibitrice de l'AChE ont des effets secondaires et ne sont efficaces que dans les formes bénignes de la maladie d'Alzheimer. Il est donc impératif de développer de nouveaux médicaments contre la MA. L'histoire de la découverte de médicaments montre que les plantes sont une ressource très riche pour la recherche de nouveaux composés actifs, et ils sont devenus un défi pour l'industrie pharmaceutique moderne. De nombreux médicaments de synthèse proviennent de la médecine complémentaire à base de plantes. (**Orhan et al., 2004**).

La maladie d'Alzheimer (MA) est un trouble neurologique chronique caractérisé par des troubles de la mémoire, un dysfonctionnement cognitif, des troubles du comportement et des déficits dans les activités de la vie quotidienne. La MA s'est avérée être associée à un déficit cholinergique dans le cerveau post-mortem caractérisé par une diminution significative de la quantité d'acétylcholine. La MA est devenue un problème majeur, en particulier dans les pays développés en raison de l'augmentation de la population âgée avec une qualité de vie élevée. L'acétylcholine est un neurotransmetteur inhibé principalement par l'acétylcholinestérase (AChE) et ensuite par la butyrylcholinestérase (BChE), considéré comme jouant un rôle dans la pathologie de la MA. Les deux enzymes sont présentes dans le cerveau et sont détectées parmi les enchevêtrements neurofibrillaires et les plaques neuritiques. Malgré l'étiologie inconnue de la MA, l'élévation de la quantité d'acétylcholine par l'inhibition de l'enzyme AChE a été acceptée comme la stratégie de traitement la plus efficace contre la MA. Par conséquent, les inhibiteurs de l'AChE et de la BChE sont devenus des alternatives remarquables dans le traitement de la MA. (**Orhan et al., 2004**).

5.1.1 Inhibition de la butyrylcholinestérase

L'inhibition de la butyrylcholinestérase va engendrer une augmentation de la concentration de la butyrylcholine, ce qui est considéré comme un traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer. (Orhan et al., 2004) Cette inhibition peut être évaluée *in vitro* selon la méthode d'Ellman et al., (1961).

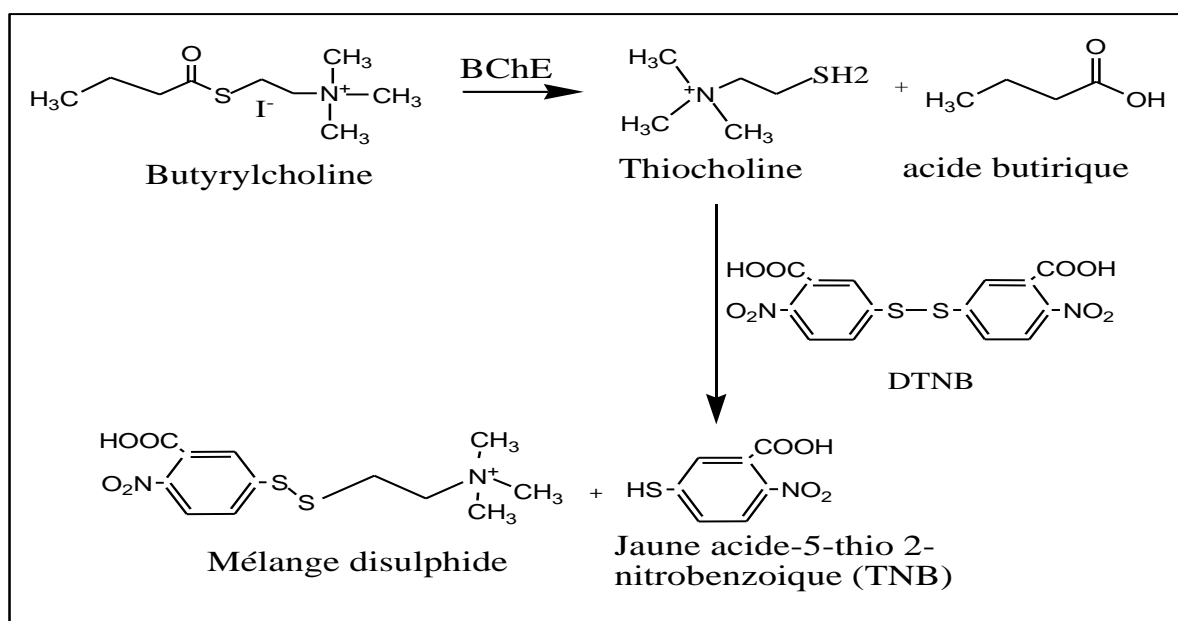


Figure 20 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman et al., (1961)

5.2 Evaluation de l'activité antidiabétique

Parmi les nombreuses enzymes largement utilisées, l' α -amylase est de plus en plus demandée en raison de son rôle crucial dans l'hydrolyse de l'amidon et des applications de cette action hydrolytique. L' α -amylase est devenue une enzyme d'une importance cruciale dans la réduction de la glycémie postprandiale chez les personnes diabétiques de type 2 (Sundarram & Murthy, 2014).

5.2.1 Inhibition de L' α -amylase

L' α -amylase (E.C.3.2.1.1) est une enzyme hydrolase qui catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1, 4-glycosidiques internes dans l'amidon pour donner des produits comme le glucose et le maltose. C'est un métallo enzyme calcique qui dépend de la présence d'un cofacteur métallique pour son activité. La composition d'hydrolysats obtenue après hydrolyse

de l'amidon est fortement dépendante de l'effet de la température, des conditions d'hydrolyse et de l'origine de l'enzyme. On trouve que le pH optimal pour l'activité est de 7,0.

5.3 Evaluation de l'activité anti-uréase

La recherche des médicaments inhibiteurs de l'uréase est une cible importante dans le contrôle des infections causées par des bactéries. Ces inhibiteurs jouent un rôle important dans le contrôle des micro-organismes uréolytiques, et également aider à explorer et comprendre de nouveaux aspects du mécanisme d'action des uréases. L'acide anthranilique a une longue histoire en tant que précurseur chimique de nombreux composés bioactifs organiques; par exemple : des diurétiques, des antioxydants, des agents antiprolifératifs et antiallergiques (El-Zahabi et al., 2019).

5.3.1 Inhibition de l'uréase

L'uréase (urée amidohydrolases, EC (3.5.1.5) est une métalloenzyme à base de nickel qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac. Les uréase sont largement présentes dans divers organismes, notamment les bactéries, les champignons et les plantes. Des concentrations élevées d'ammoniac résultant de ces réactions, ainsi que l'élévation du pH qui l'accompagne, est responsable de complications néfastes dans les domaines de la santé. La recherche de médicaments inhibiteurs de l'uréase est une cible importante dans le contrôle des infections causées par la production d'uréase bactériennes

De nombreux inhibiteurs d'uréase ont été étudiés, mais la plupart de ces composés sont trop toxiques ou instables pour permettre leur utilisation in vivo. Ainsi, la recherche est toujours en cours pour de nouveaux inhibiteurs d'uréase avec des niveaux d'activité prometteurs. (El-Zahabi et al., 2019).

La mesure de cette activité est considérée comme une mesure du potentiel de dégradation de la matière organique et de l'émission d'ammoniac par les flores bactériennes. La mesure de l'activité uréase est basée sur la quantification de l'ammoniac libéré qui en milieu alcalin va oxyder le réactif coloré (salicylate + cyanurate) créant ainsi un composé bleu vert. (Gulczinski, 2010).

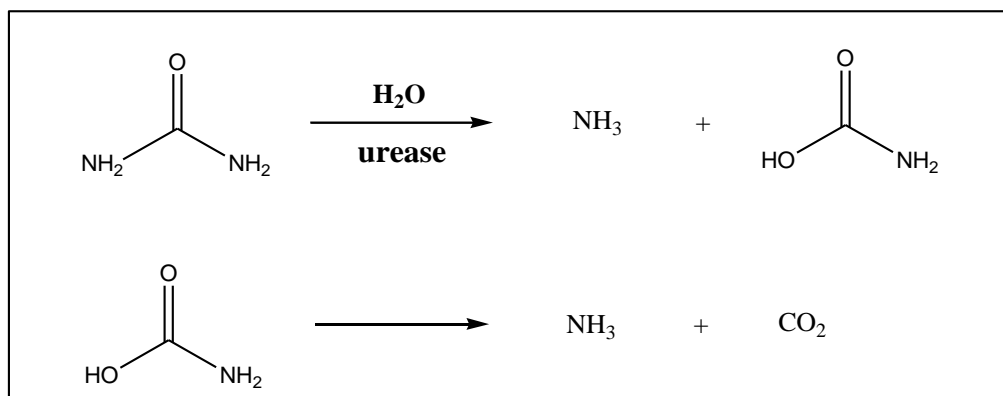


Figure 21 : Formation de NH_3 et CO_2 par l'hydrolyse de l'urée

6 Activité anti-moisissures

De manière générale, les composés antioxydants peuvent piéger les radicaux libres et augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutiques pendant le traitement et le stockage. (Ak & Gülçin, 2008)

Les aliments sont exposés à la détérioration par les bactéries et les moisissures et subissent des modifications du goût, de leur couleur et par conséquent la perte de la quantité des nutriments et de la sécurité de ces aliments. L'utilisation des produits chimiques constitue la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles.

Cependant en raison des nombreux dangers que ces substances causent, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a interdit l'usage de certains fongicides chimiques, c'est pour ça l'utilisation des plantes comme source naturelle des substances anti-moisissures pourraient être une alternative naturelle aux conservateurs artificiels. (Himed et al., 2020)

7 Test de Cytotoxicité

7.1 Le ver de farine

- Le ver de farine, ou ténébrion meunier (**Tenebrio molitor** LINNAEUS, 1758) (Saeizad & Makhan, 2013) est un coléoptère de la famille des Ténébrionidés
- Molitor - Latin pour 'miller' ; le nom commun fait référence à la coloration des larves.
- Nom vernaculaire anglais : Mealworm.
- Nom vernaculaire: Ver de farine, ténébrion meunier (Thomas, 2015)

➤ **Position systématique**

Tableau 9 : position systématique de l'espèce *Tenebrio molitor* (Thomas, 2015)

| | |
|--------------------|--|
| Règne | Animalia |
| Embranchement | Arthropoda |
| Sous-embranchement | Hexapoda |
| Classe | Insecta |
| Ordre | Coleoptera |
| Famille | Tenebrionidae |
| Genre | Tenebrio |
| Espèce | <i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758) |



(A)

L'adulte est brun foncé ou noir (plus rarement brun clair), Cette espèce est l'un des plus grands coléoptères des produits entreposés (longueur du corps adulte entre 12 et 20 mm) (Hagstrum, 2017)



(B)

La larve est de forme grossièrement cylindrique, d'abord blanchâtre puis d'un jaune rouille vif au fur et à mesure de sa croissance. il peut atteindre 30-32 mm et 130-160 mg de poids. De même, la puppe est également blanche au début et jaunit avec le temps (Thomas, 2015)

Figure 22 : photos de (A) l'adulte de *Tenebrio molitor*, (B) *Tenebrio molitor* (Thomas, 2015)

Il faut dire aussi que les larves de cet animal sont élevées et vendues (souvent vivantes, mais aussi séchées ou réduites en poudre) en grande quantité comme nourriture pour oiseaux, reptiles, amphibiens et poissons, ainsi que comme appât pour la pêche. Dans certaines régions

du monde (Chine , Asie du Sud-Est), ils sont également consommés comme aliments par l'homme.(**Baek et al., 2019**) .

Mais Après une expérimentation préliminaire avec plusieurs modèles d'arthropodes, les larves de vers de farine ont été sélectionnées pour tester la toxicité des molécules car ils sont facilement disponibles, robustes et relativement petits.(**van der Valk & van der Meijden, 2014**)

7.2 *Artemia salina*

Artemia salina (L.) est un arthropode aquatique primitif (lacs salés) de la famille des Artemiidae âgé d'environ 100 millions d'années.(**MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011**)



Figure 23 : Image d'*Artemia salina* (**MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011**)

7.2.1 Description

Le corps est composé de trois segments : la tête, le thorax et l'abdomen. L'espèce présente un dimorphisme sexuel, les principales différences morphologiques entre mâles et femelles ont été observées dans la distance maximale entre les yeux composés, la longueur de la première antenne, la largeur du troisième segment abdominal, la longueur totale, le diamètre de l'œil composé, la longueur de l'abdomen. Le mâle adulte atteint 8 à 10 mm de long et la femelle 10 à 12 mm. Les adultes ont trois yeux et 11 paires de pattes (**MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011**).



Figure 24 : Des individus *d'Artemia salina* (MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011)

Le test de cytotoxicité a été effectué sur les Nauplie. Les larves n'ont qu'un seul œil (photorécepteur). Plus tard, il développe deux yeux, mais l'œil initial reste, ce qui donne trois yeux. Les nauplies sont phototactiques, contrairement aux adultes. Ils nagent dans la colonne d'eau (phototaxis) à l'aide d'antennes. Les mandibules sont utilisées pour filtrer l'eau et le phytoplancton.

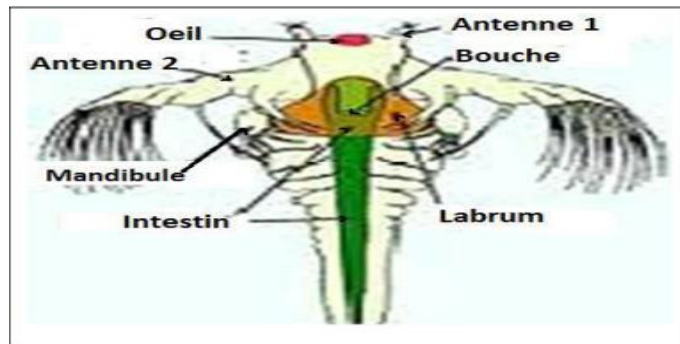


Figure 25 : Caractéristiques anatomiques des nauplies *d'Artemia salina* (MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011)

7.2.2 Position systématique :

Tableau 10 : Position systématique de l'espace *Artemia salina* (MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011)

| | |
|---------------------------|-----------------------|
| Royaume | Animalia |
| Embranchement | Arthropodes |
| Sous-embranchement | Crustacés |
| Classe | Branchiopodes |
| Ordre | Anostraca |
| Famille | Artémiidés |
| Genre | <i>Artemia</i> |
| Espèce | <i>Artemia salina</i> |

7.2.3 L'utilisation d'*Artemia salina* :

Les individus de l'espèce *Artemia salina*, en particulier au stade nauplie, sont utilisés en aquaculture comme aliments vivants pour la croissance commerciale (dans des incubateurs) de nombreuses espèces de poissons et de crustacés. La résilience de ces animaux les rend idéales pour tester des échantillons dans les expériences. *Artemia salina* est l'un des organismes utilisés régulièrement pour les tests de toxicité de divers produits chimiques. Avec d'autres corps formés par la décomposition de la boue du fond du lac salé utilisée pour traiter diverses maladies rhumatismales, gynécologiques, endocriniennes, etc. (MUNTEANU & DUMITRAȘCU, 2011).

➤ Utilisation pour le test de cytotoxicité

Artemia salina, la crevette de saumure, peut être utilisée dans un essai biologique pratique en laboratoire, et les résultats de la détermination des valeurs de CL₅₀ ont été publiés pour une série de toxines et d'extraits de plantes connus.

Le test *Artemia* est généralement réalisé comme un test de survie de 24 heures dans de l'eau de mer artificielle, c'est-à-dire dans du "milieu *Artemia*". Le degré de toxicité d'un composé peut cependant varier selon le milieu d'incubation utilisé. (Lewan et al., 1992).

8 Les méthodes de caractérisation et d'identification

8.1 La spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est utilisée depuis une centaine d'année pour identifier et quantifier les différents composés présents dans l'atmosphère. (Stephens, 1958) c'est une technique basée sur les vibrations des atomes d'une molécule. Elle permet d'identifier un grand nombre d'espèces chimiques de façon non ambiguë car tous les composés chimiques, sauf les atomes et les molécules diatomiques symétriques, possèdent un spectre vibrationnel qui leur est propre.

L'avantage de la technique infrarouge est qu'elle peut être non destructive, nécessite une quantité relativement faible d'échantillon, est rapide et précise. La technique infrarouge ne nécessite pas de réactif, cette méthode est donc plus écologique. Il s'est avéré être un puissant outil d'analyse utilisé dans de nombreux domaines (Wulandari et al., 2016).

8.1.1 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

8.1.1.1 Définition

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique utilisée pour obtenir le spectre infrarouge d'absorption, d'émission et de photoconductivité des solides, des liquides et des gaz. (Sindhu et al., 2015). L'instrument qui détermine le spectre d'absorption d'un composé s'appelle un spectrophotomètre. Le spectrophotomètre à transformée de Fourier fournit le spectre IR beaucoup plus rapidement que le spectrophotomètre traditionnel (Mohamed et al., 2017).

8.1.1.2 Principe

La spectroscopie infrarouge est basée sur les vibrations atomiques de molécules qui n'absorbent que le rayonnement infrarouge de fréquences et d'énergies spécifiques. La FTIR peut détecter et classer les molécules car différentes molécules ont des spectres infrarouges différents. Les spectromètres FTIR utilisent essentiellement un interféromètre pour mesurer l'énergie délivrée à l'échantillon. Le rayonnement infrarouge émis par le corps noir atteint l'interféromètre où se produit le codage spectral des signaux. Le signal d'interférogramme résultant est transmis ou rebondit sur la surface de l'échantillon, où des longueurs d'onde d'énergie spécifiques sont absorbées. Le faisceau passe finalement à travers le détecteur et est ensuite transmis à un ordinateur de traitement, où le signal d'énergie est transformé par Fourier. (Undavalli et al., 2021)

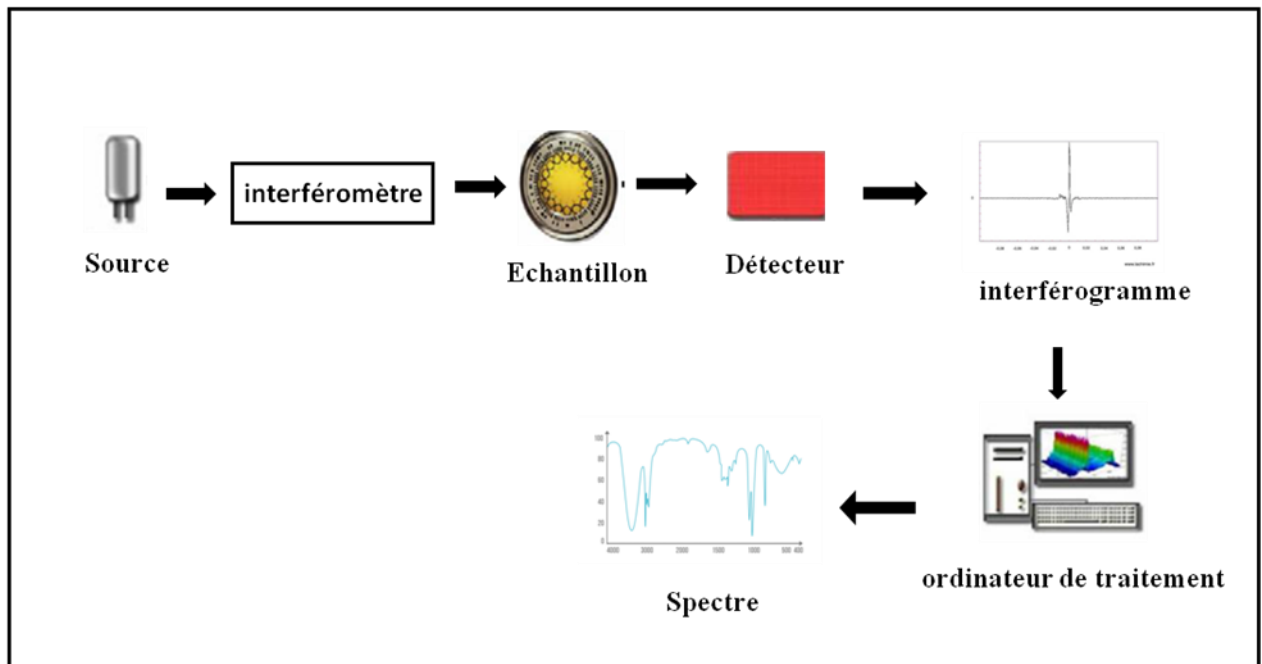


Figure 26 : Composant de base du spectromètre infrarouge à transformée de Fourier

Matériels & Méthodes

1 Le Matériel biologique

1.1 Le Matériel végétal

Les deux plantes sur lesquelles nous avons basé nos recherches *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* ont été récoltés de deux régions, Bejaia et Sétif respectivement.

➤ *Ambrosia artemisiifolia*

Les parties aériennes ont été récoltées en 2018 dans la région de Bejaia, située au nord-est de l'Algérie. Un spécimen de référence (Numéro N° KR0011) a été identifié par le Pr. K. Rebbas du Département des sciences naturelles et de la vie, Université de M'Sila, Algérie, est déposé dans l'herbier personnel de K. Rebbas (Université de M'Sila, Algérie).

➤ *Erodium montanum*

Les parties aériennes d'*Erodium montanum* ont été récoltées en 2020 dans la région de Sétif, située au nord-est de l'Algérie. Un spécimen de référence (Numéro N° KR0044) a été identifié par le Pr. K. Rebbas du Département des sciences naturelles et de la vie, Université de M'Sila, Algérie, est déposé dans l'herbier personnel de K. Rebbas (Université de M'Sila, Algérie).

1.2 Artemia salina et vers de farine

Le test de cytotoxicité a été réalisée sur :

- Des vers de farine (mealworm), dont le poids varie entre 130 mg et 170 mg. Ces vers de farine sont obtenus du marché d'oiseaux du Ritaj Molle de Constantine. Les vers de farine ont été placés dans des boîtes à température ambiante (20-25°C) où ils ont accès libre à l'alimentation.
- Des nauplies d'*Artemia salina* obtenus du marché d'oiseaux du Ritaj Molle de Constantine, ont été conservé dans un frigo à une température +4 C°.

2 Méthode d'extraction

2.1 Macération et extraction

Afin d'étudier les propriétés biologiques *in vivo* et *in vitro* d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* la préparation suivante a été réalisé :

Deux quantités de dix (10 g) de la poudre végétale de chaque plante ont été mises à une extraction par macération dans 100 ml de méthanol et du chloroforme. Après 72 heures de macération, les quatre solutions sont filtrées avec un papier filtre afin de récupérer le filtrat, ce dernier a été séché dans un Rotavapeur

A la fin de cette étape un extrait méthanolique et un extrait chloroformique ont été obtenus pour chaque plante : EMAA, ECAA, EMEM, ECEM.

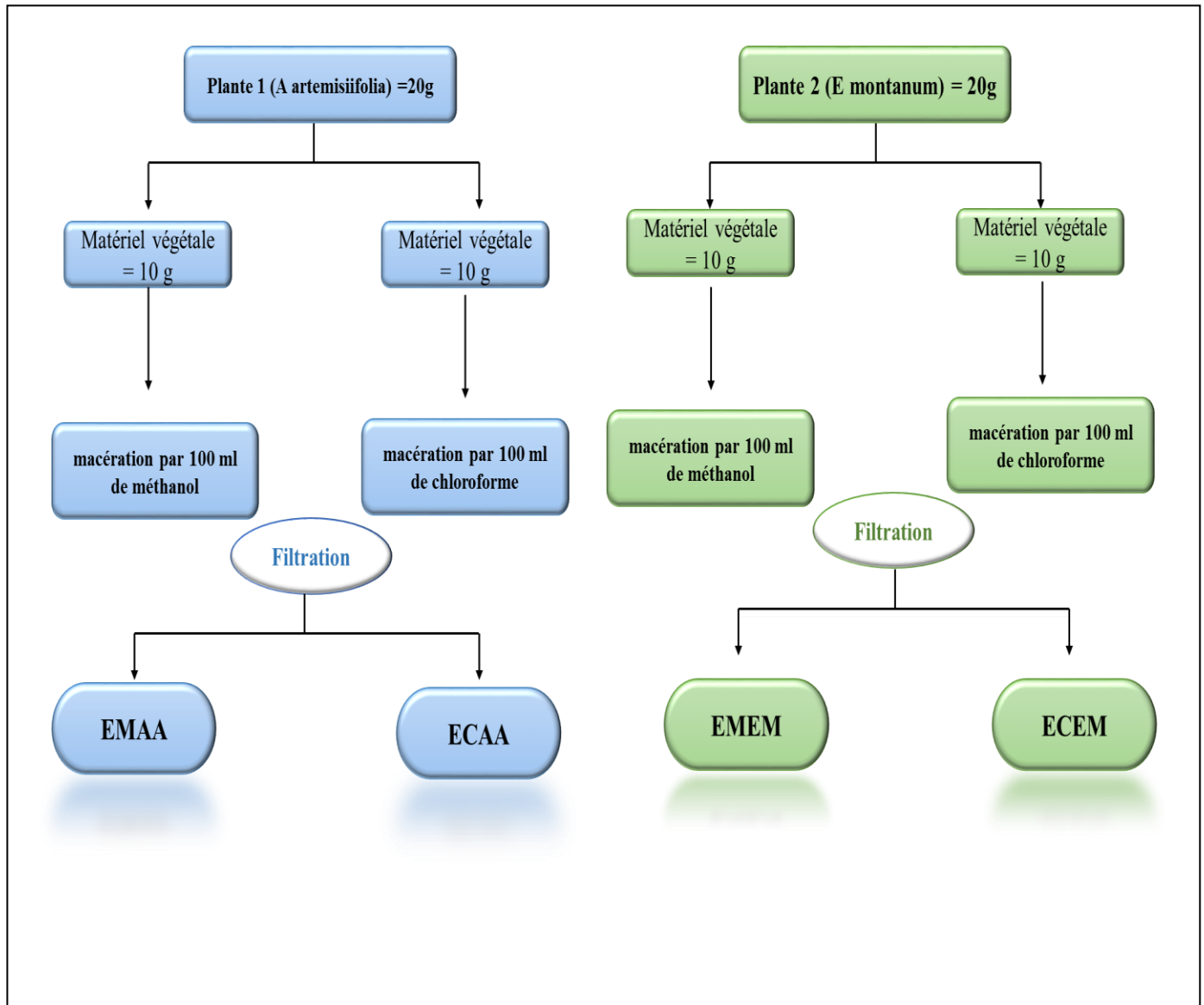


Figure 27 : Schéma récapitulatif du mode d'extraction des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

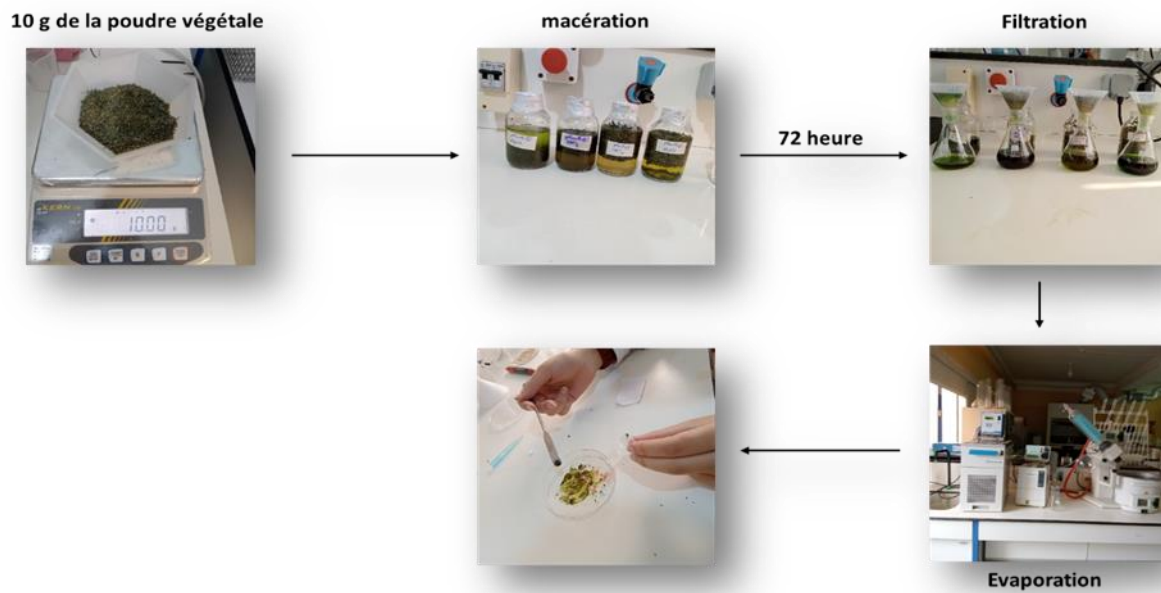


Figure 28 : Schéma de la préparation des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

2.2 Préparation des dilutions des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum* ont été dissous dans le méthanol pour préparer les différentes concentrations, sachant que la concentration de la solution mère d'extrait est de 4mg/ml.

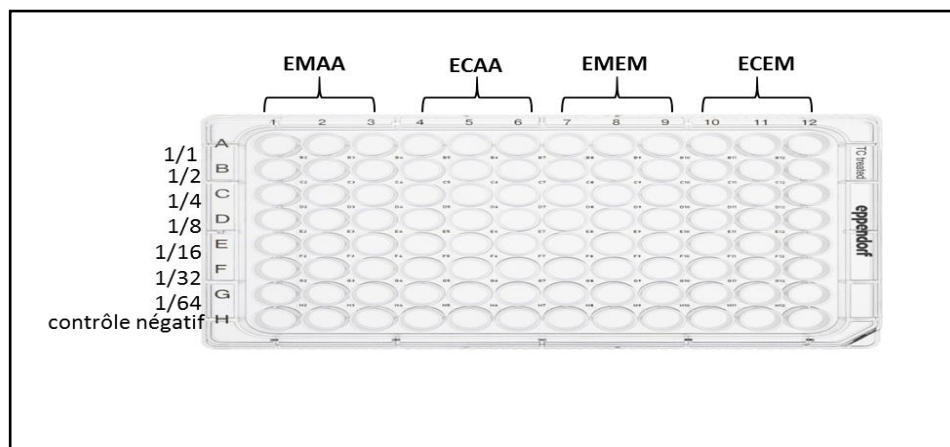


Figure 29 : Mode d'organisation de la microplaque

3 Activités biologiques

Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire au niveau du laboratoire de Contrôle de qualité au C.R.Bt de Constantine.

3.1 Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits : EMAA, ECAA, EMEM, ECEM a été réalisée par l'utilisation de six méthodes complémentaires.

3.1.1 Estimation du contenu total en polyphénols (TPC)

La teneur en phénols totaux a été estimée par la méthode de (Singleton et al., 1999) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Sur une microplaque de 96 puits un volume de 100 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté à 25 µL d'extrait, 75 µL de la solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (7,5%) sont ajoutés. Le mélange est incubé 2h à l'obscurité à température ambiante.

L'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un blanc sans extrait. La concentration des composés phénoliques dans l'extrait a été exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg GAE/mg) grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations d'acide gallique (contrôle positif).

3.1.2 Piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire au DPPH est déterminée selon la méthode décrite par (Blois, 1958). Le mélange contient 160 µl d'une solution du DPPH[•] et 40 µl de différentes concentrations de l'extrait sur une microplaque à 96 puits. Le contrôle a été préparé de la même manière, sauf que le solvant d'extraction (méthanol) a été utilisé à la place de l'extrait. Le mélange a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHA, le BHT et α-Tocopherol ont été utilisés comme standards. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} * 100$$

Équation 1 : Pourcentage d'inhibition du DPPH

- $A_{\text{contrôle}}$: absorbance du contrôle
- A_{extrait} : absorbance de l'extrait

3.1.3 Estimation de l'activité ABTS

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al., (1999)**, Sur une microplaque à 96 puits, 160 μl de la solution d'ABTS⁺⁺ a été mélangé avec 40 μl d'extrait à différentes concentrations. Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction (le méthanol). Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards.

Les résultats exprimés en pourcentage d'inhibition à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} * 100$$

Équation 2 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS

3.1.4 Activité de réduction du complexe Cu^{+2} -Neocuproïne (CUPRAC)

L'activité CUPRAC a été déterminée selon la méthode décrite par (**Apak et al., 2004**). Un mélange réactionnel contenant 60 μl d'acétate d'ammonium, 50 μl de chlorure de cuivre, 50 μl de néocuproïne et 40 μl d'extrait en différentes concentrations a été introduit dans une microplaque à 96 puits. Ensuite le mélange est incubé pendant une heure, l'absorbance a été mesurée à 450 nm. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards. Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,5}$.

3.1.5 Estimation de l'activité phénanthroline

L'activité phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniak et al., (2008)**. Un mélange réactionnel contenant 10 μl de l'extrait à différentes concentrations, 50 μl de chlorure de fer (FeCl_2) (0,2%), 30 μl de phénanthroline (0,5%) et 110 μl de méthanol a été déposé dans chacun des 96 puits de la microplaque. Les absorbances ont été mesurées à 734 nm après une incubation de 20 minutes à l'étuve à 30°C. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards. Les résultats ont été donnés comme $A_{0,50}$, qui correspond à la concentration produisant 0.500 absorbance

3.1.6 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode d'**Oyaizu (1986)**. Le mélange réactionnelle contient les solutions suivantes : 10 µl de l'extrait, 40 µl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50 µl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%). L'ensemble a été incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 50 µl d'acide trichloroacétique (10%), 40 µl H₂O, 10 µl ferric chloride FeCl₃ (0.1%) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm contre un blanc qui été préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol. L'acide ascorbique et l'αtocophérol ont été utilisés comme standards. Les résultats ont été calculés à titre de A_{0,50} (µg/ml).

3.1.7 Activité nanoparticule d'argent (SNP)

L'activité nanoparticule d'argent (SNP) est déterminée selon la méthode de (**Mustafa Özyürek et al., 2012**). Dans une microplaque de 96 puits un volume de 130 µL de (solution SNP) a été ajouté à 20 µl d'extrait dilué à plusieurs concentrations ; 50 µl d'H₂O ont été additionnée. Le mélange obtenu a été incubé dans l'étuve à 25°C pendant 30 min et l'absorbance est mesurée à 423 nm. Le Trolox est utilisés comme standards. Les résultats ont été donnés comme A_{0,50}, qui correspond à la concentration produisant 0.500 absorbance.

3.2 Bio-autographie sur couche mince

➤ Principe :

La bio-autographie des extraits est faite sur plaque de couche mince. Les plaques CCM ont été préparées en premier temps pour avoir un diamètre de (7/5 cm)

- **La phase stationnaire** : la phase stationnaire est constituée du gel de silice
- **La phase mobile** : constituée du système de solvant suivant : chloroforme méthanol (9/1).
- **Le dépôt** : le dépôt a été fait avec une pipette pasteur d'une façon perpendiculaire et linéaire. Les échantillons déposée été de 4 mg/ml de concentration. Pour concentrer l'analyte plusieurs dépôts successifs ont été effectués
- **Développement de la plaque** : chaque plaque est déposée en position verticale dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant. Le développement des extraits se fait par l'effet de capillarité.

A la fin de la séparation les plaques ont été sécher et on a procédés à des observations à principalement par :

- **Révélation aux UV** : qui permet de mettre en évidence sous forme des taches des substances qui absorbent les UV entre 254 nm et 365 nm.
- **Révélation par des méthodes chimiques** : ces méthodes consistent à pulvériser la plaque avec les révélateurs suivant :
 - ✓ Une solution de DPPH
 - ✓ Une solution d'ABTS
 - ✓ Un ensemble des solutions de phénanthroline
 - ✓ Un ensemble des solutions de FRAP

Dans cette étude le BHA et l'acide ascorbique ont été utilisés comme témoins.

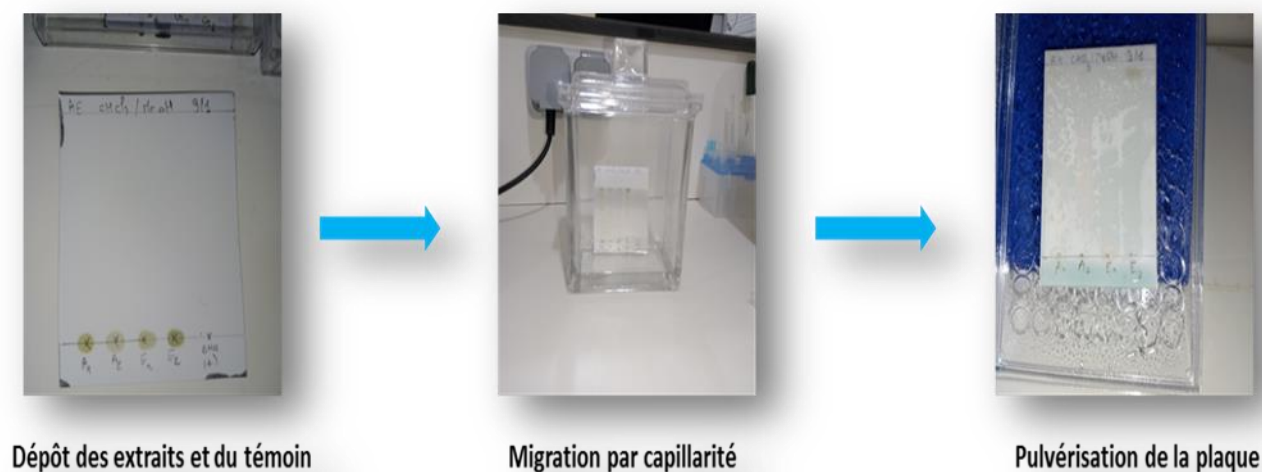


Figure 30 : La préparation de la plaque pour le test de bioautographie

3.3 Activité inhibitrice des enzymes

3.3.1 Activité anti-Alzheimer via l'inhibition de la butyrylcholinestérase

L'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) a été déterminée selon la d' **Ellman et al., (1961)**. Un mélange réactionnel contenant 150 μl (pH 8) (100 mM) de tampon phosphate de sodium a été ajouté à 10 μl d'extrait et 20 μl d'enzyme BChE ($6,85 \times 10^{-3}$ U) et incubé à 37 °C pendant 15 minutes. , suivi de l'ajout de 10 μl de DTNB (acide 5,5'-dithiobis (2nitrobenzoïque)) (0,5 mM). Ensuite, la réaction a été démarrée en ajoutant 10 μl de chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). L'absorbance a été mesurée à 412 nm pendant 0 min, suivie d'une seconde incubation à 37°C pendant 15 min, suivie d'une seconde lecture à 412 nm. La galanthamine a été utilisée comme standard.

$$(\%) \text{ d'inhibition de BChE} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

Équation 3 : Pourcentage d'inhibition de BChE.

- 'E' est l'activité de l'enzyme sans extrait.
- 'S', est l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

3.3.2 Activité antidiabétique via l'inhibition de l' α -amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été déterminée selon la méthode décrite par **Zengin et al., (2014)**. Le mélange réactionnel contient 25 μ l d'extrait de différentes concentrations avec 50 μ l d'une solution d' α -amylase (1U), ce mélange est incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50 μ l d'amidon (0,1%) ont été additionnés. Après incubation, 25 μ l d'acide hypochlorique (1M) et 100 μ l d'iodure de potassium iode ont été ajoutés. La lecture de l'absorbance a été faite à 630 nm. L'Acarbose a été utilisé comme standard.

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

$$\% \text{ inhibition} = 1 - \left[\frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)} \right]$$

Équation 4 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase.

Tableau 11 : L'emplacement des solutions dans la microplaque pour le test α -amylase

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---------|---|---|------------------|---------|---|----|------------------|---------|----|----|------------------|
| A | EMAA As | | | Blanc extrait 01 | ECAA As | | | Blanc extrait 02 | EMEM As | | | Blanc extrait 03 |
| B | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| D | | | | | | | | | | | | |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | | | | | | | | | | | | |
| H | Ae | | | | | | Ac | | | | | |

- Ac = Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de tsolvant d'extrait+vol deTampon enzyme]
- Ae = Absorbance [Enzyme+ Amidon+ IKI+ HCL+ vol de solvant d'extrait]
- As = Absorbance [Enzyme +Extrait +Amidon +IKI +HCl]
- Ab = Absorbance [Extrait +IKI+125 µl de tampon]

3.3.3 Evaluation de l'activité anti-uréase

Cette méthode déterminée par (Muhammad Taha et al., 2018) avec quelques modifications. Dans des plaques de 96 puits, le mélange réactionnel, comprenant 10 µl extrait, 25 µl d'enzyme Urease, 50 µl Urée, 45 µl du réactif de phénol ont été incubés avec 70 µl du réactif de basique à 30° C à l'étuve pendant 50 min. La lecture d'absorbance est réalisée à 630 nm. La thiourée a été utilisé comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'uréase a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} * 100$$

Équation 5 : Pourcentage d'inhibition de l'uréase

4 Evaluation de l'activité Anti-moisissures

4.1 Test sur une sauce tomate

L'évaluation de l'activité Anti-moisissures a été déterminée selon la méthode de (Akroum & Rouibah, 2020). Une solution de sauce tomate a été préparé à partir de 10 g de tomate concentrée ajouté à 20 ml d'eau. Dans une microplaque à 96 puis 160 µl de la sauce tomate a ont été additionnée à 40 µl de différente solution d'extrait.

Chaque deux rangées de la microplaque contient une solution différente avec plusieurs concentrations. Les solutions de cuivre et l'huile végétale sont utilisé comme standard et la dernière rangée verticalement contient du méthanol au lieu des extraits étudiés comme l'indique (Tableau 12). Les résultats ont été mesurés en calculant :

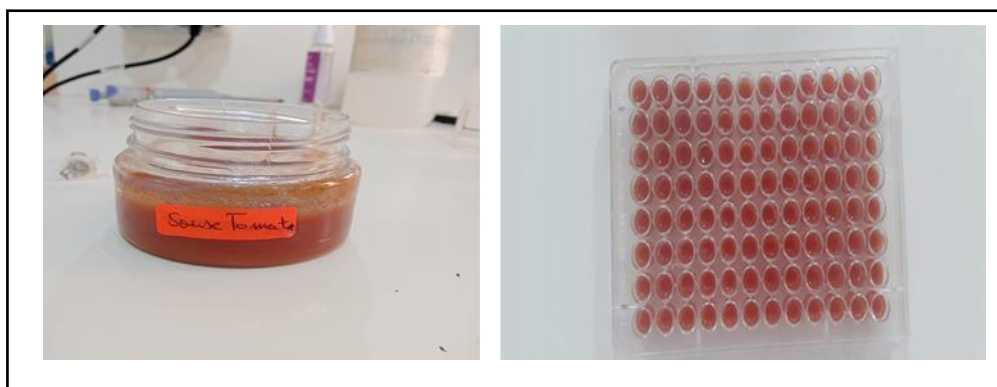
$$\text{Pourcentage d'infection} = \frac{\text{Nombre total de puits pour un extrait}}{\text{Nombre de puits infectés pour un extrait}} * 100$$

Équation 6 : Pourcentage d'infection de la sauce tomate

Tableau 12 : Mode de remplissage de la plaque pour l'activité Anti-moisissures

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|---------------------------------|----|--|----|
| A | Sauce tomate + EMAA | | Sauce tomate + ECAA | | Sauce tomate + EMEM | | Sauce tomate + ECEM | | Sauce tomate + L'huile végétale | | Sauce tomate + solution de CuSO ₄ | |
| B | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| D | | | | | | | | | | | | |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | | | | | | | | | | | | |
| H | Sauce tomate + méthanol | | | | | | | | | | | |

La plaque ensuite est incubée pendant 10 jours dans un réfrigérateur.

**Figure 31** : Image de la préparation de la plaque pour l'activité Anti-moisissures

5 Evaluation de la cytotoxicité

5.1 Sur les larves de farine

Le test de cytotoxicité a été déterminée selon la méthode développée par (**van der Valk & van der Meijden, 2014**). Les vers de farine ont été sélectionnés pour cette expérience car elles sont facilement disponibles, robustes et relativement petites. Huit lots de vers ont été préparés, chaque lot contient cinq vers de poids proche. Une solution de concentration de 4mg/ml de volume 3 µl a été injecté aux larves à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 ml (Hamilton, Bonaduz, Suisse) (**tableau 13**). Les injections ont été faites caudalement dans la face ventrale des larves, latéralement à la ligne médiane, car cela évite les systèmes d'organes les plus essentiels. Les larves ont ensuite été incubées à température ambiante pendant 10 jours supplémentaires. La mortalité a été évaluée par la décoloration des larves.

Les vers ont été injectés par des différentes solutions comme suivant :

Tableau 13 : Les différentes solutions a injectées

| Lot 01 | Lot 02 | Lot 03 | Lot 04 | Lot 05 | Lot 06 | Lot 07 | Lot 08 |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|--------|------------------|----------|
| EMAA (4 mg/ml) | ECAA (4 mg/ml) | EMEM (4 mg/ml) | ECEM (4 mg/ml) | Acide ascorbique | Aire | Témoin native | Méthanol |

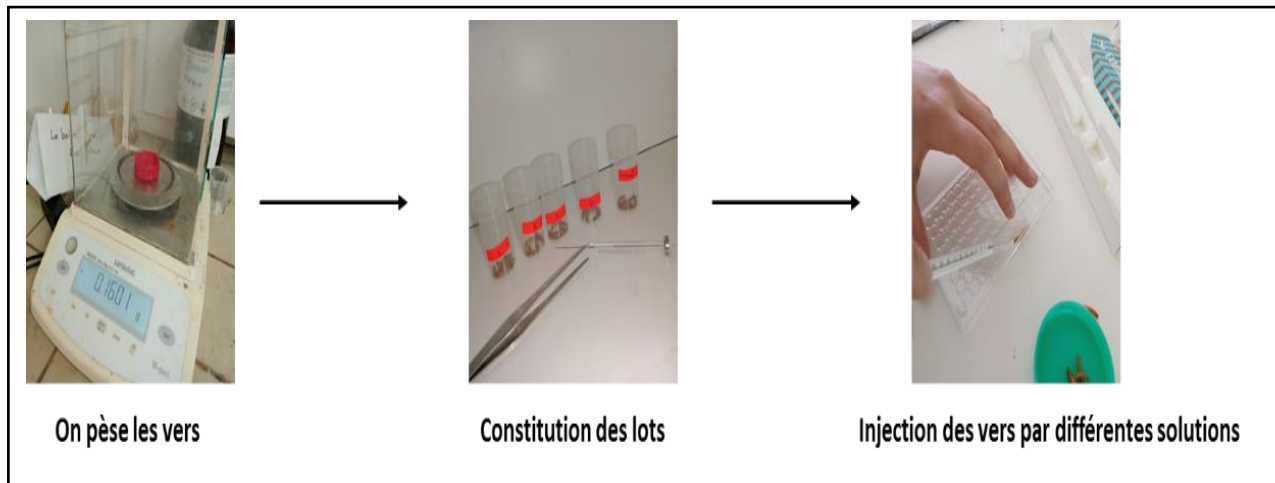


Figure 32 : Mode opératoire de test de toxicité

5.2 Sur *Artémia salina*

Cette méthode déterminée par (Meyer et al., 1982) avec quelques modifications. Des œufs / cystes *d'Artémia salina* ont éclos dans de l'eau de mer stérile après incubation durant 24-48 heures sous illumination, à température ambiante.

Les nauplii éclos ont été collectés en utilisant une micro pipette. 20 nauplii ont été mis dans les puits de microplaque pour chaque extrait (20 μ l) à des concentrations de 400 μ l/ml. Le test pour chaque extrait a été effectué en 2 puits. En parallèle, des témoins sont préparés avec uniquement du méthanol.

Le nombre de nauplii morts et vivants a été enregistré après 24 heures. Ils étaient considérés comme morts si aucun mouvement interne ou externe n'a été observé dans les 30 secondes.

$$\% \text{ de mortalité} = \frac{(\text{Contrôle} - \text{Survivants})}{\text{Contrôle}} * 100$$

Équation 7 : Pourcentage de mortalité d'*Artémia salina*

- **Contrôle** : nombre des larves dans le contrôle (20 larves)
- **Survivants** : nombre des larves survivants dans chaque dilution.

6 Analyse statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD avec trois répétitions Pour chaque essai. Les valeurs de CI_{50} (Concentration d'inhibition à 50%) et de $A_{0,50}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes

- [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI_{50}
- [Absorbance= f (concentrations)] pour la $A_{0,50}$

Résultats & discussion

1 Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits : EMAA, ECAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* et des extraits EMEM, ECEM de la plante *Erodium montanum*, a été réalisé par l'utilisation de six méthodes.

1.1 Teneur en polyphénols totaux

Dans le but de déterminer la teneur totale des polyphénols des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* un dosage a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

Les résultats sont présentés dans le tableau 2 et la figure 5 et sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg.extrait.}$) (Fig.5).

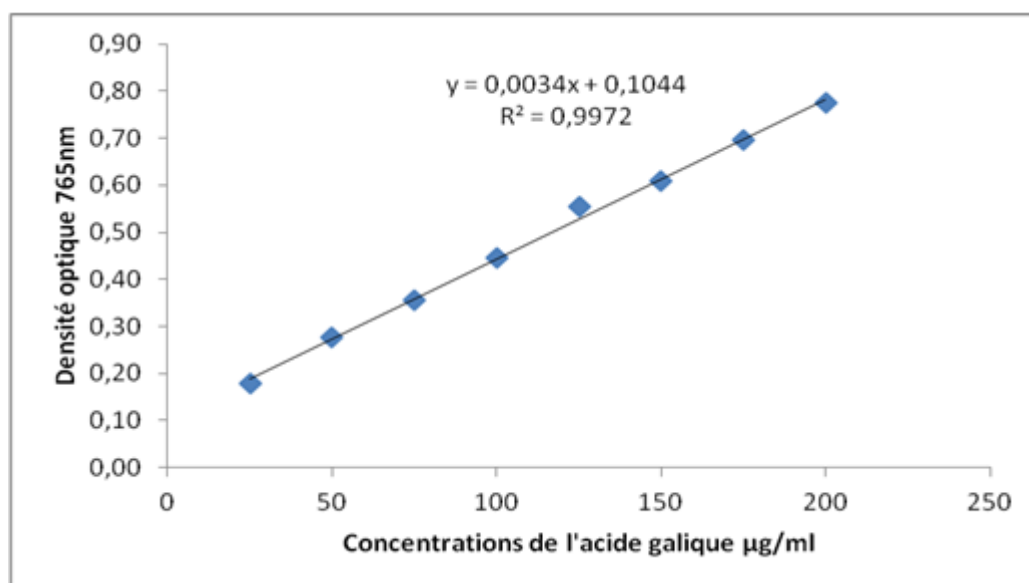


Figure 33 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 14 : Le contenu total en polyphénols des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

| Extraits | Contenu total de composés phénoliques (μg EAG/ mg d'extrait) |
|----------|--|
| EMAA | $58,01 \pm 5,19$ |
| ECAA | $28,01 \pm 0,67$ |
| EMEM | $22,43 \pm 6,19$ |
| ECEM | ND |

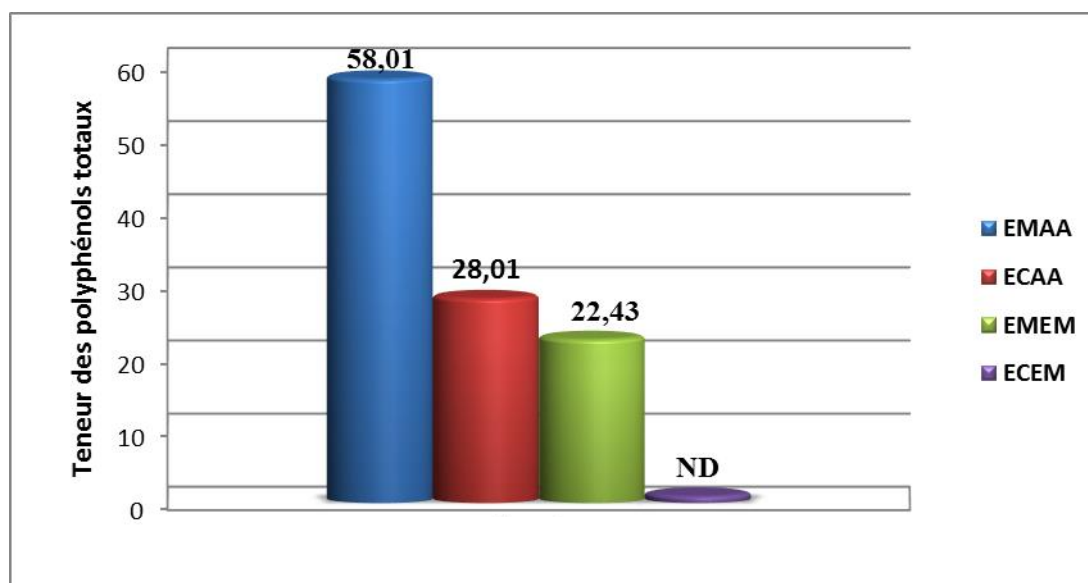


Figure 34 : Teneur des polyphénols totaux des extraits des espèces *Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique EMAA est le plus riche en polyphénols avec une teneur de ($58.01 \pm 5.19 \mu\text{g}$ EAG/mg), suivi par l'extrait chloroformique ECAA ($28.01 \pm 0.64 \mu\text{g}$ EAG/mg), alors que l'extrait EMEM a montré la teneur la plus faible des polyphénols ($22.43 \pm 6.19 \mu\text{g}$ EAG/mg), cependant ECEM possède une très faible teneur en polyphénols.

Pour la plante *Ambrosia artemisiifolia* d'autres expériences ont été effectuées par (Maksimović, 2008) qui a dosé la teneur en polyphénols d'un extrait acétonique aqueux de cette plante et une teneur de $(4,35 \pm 0,1 \%)$ des polyphénols totaux a été déterminés dans le matériel végétal étudié. Ce résultat est proche de celui obtenu dans notre étude et donc comme (Maksimović, 2008) a observé cette plante contient des niveaux remarquables de constituants potentiellement pertinents pour l'activité antioxydante.

Dans les études menées sur les espèces d'*Erodium*, les quantités de substances phénoliques rapportées étaient de $(25,40 \pm 2,07 \text{ mg GAE/g})$ dans *Erodium bryoniifolium* (El-Hela et al., 2013) qui est plus élevée à celle trouvée dans nos échantillons. $(10,8 \text{ mg GAE/g})$ a été enregistré dans *Erodium bryoniifolium* Boiss (Alali et al., 2007) et $(124 \pm 6 \text{ mg GAE/ml}, 180 \pm 4,02 \text{ mg GAE/ml}$ et $248,08 \pm 2 \text{ mg GAE/ml})$ pour *Erodium guttatum*, *Erodium hirtum* et *Erodium glaucophyllum*, respectivement (Hamza et al., 2018) qui contenait des niveaux élevés de polyphénols plus que notre extrait *Erodium montanum*.

D'après ces résultats on peut dire que le méthanol est le solvant qui a pu extraire le maximum des polyphénols pour les deux plantes car les extraits méthanoliques ont manifesté la plus grande teneur en polyphénols par rapport aux extraits chloroformiques.

Cette différence de teneur en polyphénols des extraits bruts dans l'espèce peut être expliquée par la différence de polarité des solvants organiques utilisés pour l'extraction, le temps et la température d'extraction, le rapport solide-liquide d'extraction ainsi que les propriétés chimiques et physiques des échantillons (Dai & Mumper, 2010).

La différence de teneur en polyphénol des extraits des deux plantes provenait de la différence des espèces végétales (facteur génétique) ou des zones de croissance éloignées (aspect géographique) (Konieczynski et al., 2016).

1.2 Activité antiradicalaire au DPPH

Le test DPPH est largement utilisé pour mesurer la capacité des antioxydants naturels à transférer les protons de l'hydrogène aux radicaux libres. Dans cette étude, l'activité antiradicalaire de différents extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a été évaluée en déterminant la concentration inhibitrice à 50% (CI_{50}) ; par rapport à trois standards (BHA, BHT et α -tocophérol), Les résultats sont présentés au-dessous :

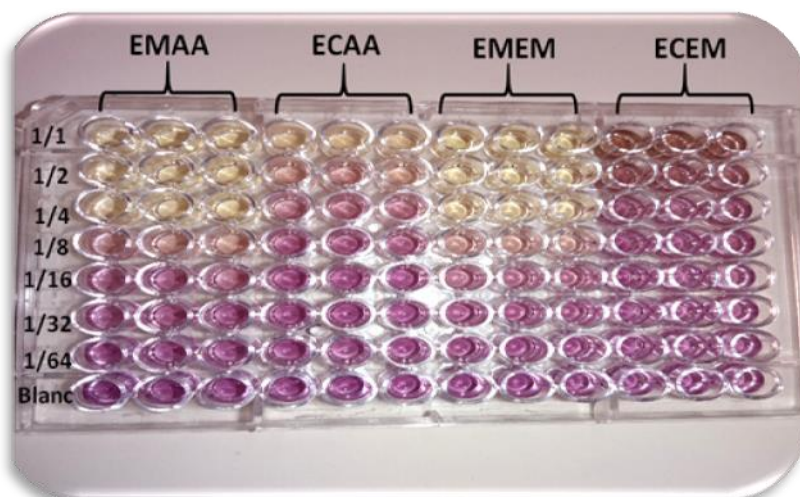


Figure 35 : La plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Tableau 15 : Inhibition du radicale DPPH par les extrais *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards | % d'inhibition | | | | | | | CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--|
| | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 | |
| EMAA | 7,34 \pm 2,10 | 19,58 \pm 2,54 | 24,39 \pm 3,55 | 62,46 \pm 2,23 | 86,24 \pm 0,79 | 86,29 \pm 0,63 | NA | 83.64 \pm 1.74 |
| ECAA | NA | NA | 8,40 \pm 0,41 | 19,52 \pm 2,59 | 30,48 \pm 2,33 | 57,24 \pm 2,23 | 63,04 \pm 0,20 | 346.57 \pm 11.62 |
| EMEM | 7,22 \pm 1,07 | 15,95 \pm 1,42 | 31,94 \pm 0,37 | 61,40 \pm 2,29 | 85,88 \pm 1,07 | 87,06 \pm 0,10 | NA | 80.86 \pm 250. |
| ECEM | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | >800 |
| BHA^b | 76,55 \pm 0,48 | 79,89 \pm 0,26 | 81,73 \pm 0,10 | 84,18 \pm 0,10 | 87,13 \pm 0,17 | 89,36 \pm 0,19 | 90,14 \pm 0,00 | 6.14 \pm 0.41 |
| BHT^b | 49,09 \pm 0,76 | 72,63 \pm 2,06 | 88,73 \pm 0,89 | 94,00 \pm 0,31 | 94,97 \pm 0,08 | 95,38 \pm 0,41 | 95,02 \pm 0,23 | 12.99 \pm 0.41 |
| α-Tocopherol^b | 37,21 \pm 1,82 | 81,53 \pm 1,51 | 89,23 \pm 0,12 | 89,38 \pm 0,19 | 89,45 \pm 0,22 | 89,99 \pm 0,23 | 89,52 \pm 0,33 | 13.02 \pm 5,17 |

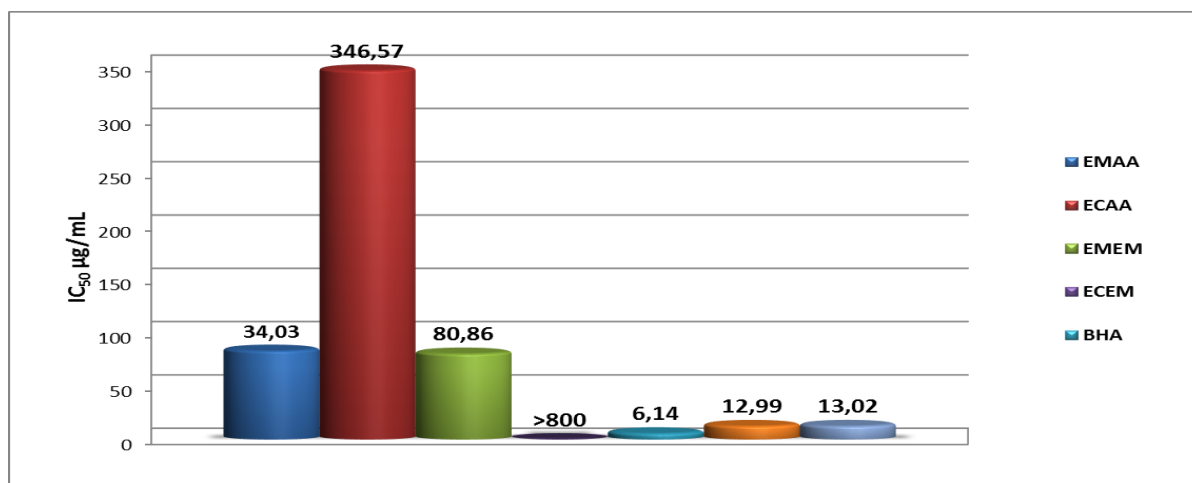


Figure 36 : Valeurs des CI₅₀ du test DPPH pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

D'après les résultats obtenus on peut dire que EMAA et EMEM ont manifesté la meilleure activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits (CI₅₀= 83.64±1.74 µg/ml), (CI₅₀= 80.86±250 µg/ml) respectivement. Cette activité est treize fois plus faible que celle du BHA (CI₅₀= 6.14±0.41 µg/ml), et six fois plus faible que le BHT (CI₅₀= 12.99±0.41 µg/ml) et celle de α-Tocopherol (CI₅₀= 13.02±5,17 µg/ml).

ECEM avec une valeur égale à (CI₅₀= 346.57±11.62) a montré une faible activité incomparable avec celle de BHA (CI₅₀= 6.14±0.41 µg/ml), et du BHT (CI₅₀= 12.99±0.41 µg/ml) ainsi que celle de l'α-Tocopherol (CI₅₀= 13.02±5,17 µg/ml). Tandis qu'ECEM a présenté la plus faible activité avec un CI₅₀ (>800 µg/ml)

En comparant les résultats obtenus pour la plante *Ambrosia artemisiifolia* on peut remarquer que l'extrait méthanolique de cette plante a manifesté une activité antiradicalaire beaucoup plus meilleure que celle de l'extrait chloroformique de la même plante. L'extrait acétonique-aqueux de la même plante qui a été testé par (Maksimović, 2008) a manifesté une valeur de CI₅₀ égale à (27.60 µg/ml) meilleure que celle obtenue dans notre étude. Cette différence des résultats de l'activité antiradicalaire de la même plante est peut-être due à la méthode et le type de solvant utilisé dans l'extraction.

Selon la bibliographie, aucune étude n'a été effectuée sur cette espèce *Erodium montanum* mais dans des études similaires, la valeur de CI₅₀ était de (20,29 ± 2,64 µg/mL)

dans *E. glaucophyllum*, et de $(49,1 \pm 3,6 \mu\text{g/mL})$ dans *E. hirtum* et de $(56,9 \pm 3,3 \mu\text{g/mL})$ pour *E. guttatum*. (Hamza et al., 2018). Qui ont des activités antioxydantes de (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) élevées et incomparable avec notre extrait.

1.3 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) pour former le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction du radical ABTS^{•+} en ABTS. L'activité antioxydante est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition. L'absorbance a été mesurée à 734 nm, en comparaison avec les standards, le Trolox et l'acide ascorbique, Les résultats sont présentés au-dessous :

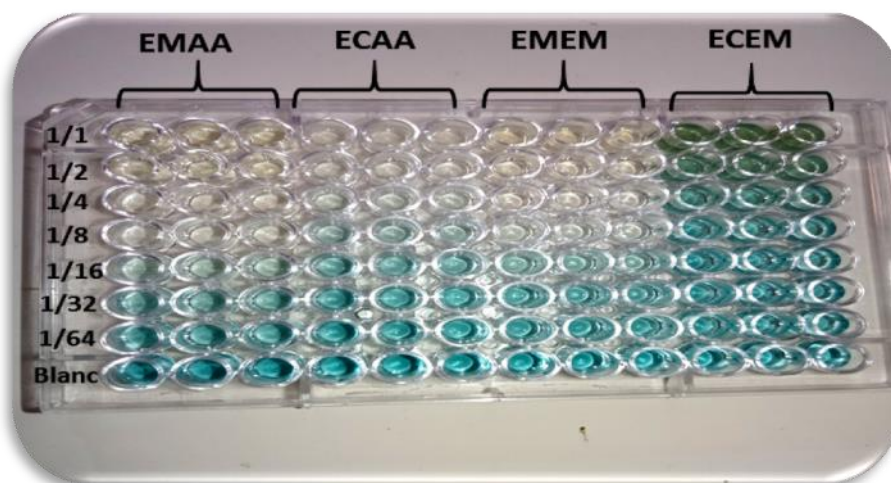


Figure 37 : Les plaques de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+} des extraits d'*Ambrosia Artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Tableau 16 : Inhibition du cation radical ABTS^{•+} par les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration (µg/ml) Extrait et standard | % Inhibition in ABTS assay | | | | | | | CI ₅₀ (µg/mL) |
|--|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------------------------|
| | 12.5 µg | 25 µg | 50 µg | 100 µg | 200 µg | 400 µg | 800 µg | |
| EMAA | 26,67±2,45 | 41,38±2,44 | 64,26±1,35 | 86,64±1,89 | 89,73±1,62 | SAT | SAT | 34,03±3,50 |
| ECAA | 16,34±2,00 | 26,02±2,03 | 41,54±0,61 | 59,55±2,44 | 74,91±0,57 | 79,88±0,81 | SAT | 76,07±3,31 |
| EMEM | 19,91±1,69 | 32,68±2,11 | 52,68±1,69 | 80,75±0,09 | 92,05±0,00 | SAT | SAT | 46,56±2,15 |
| ECEM | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 14,02±1,62 | >200 |
| 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 |

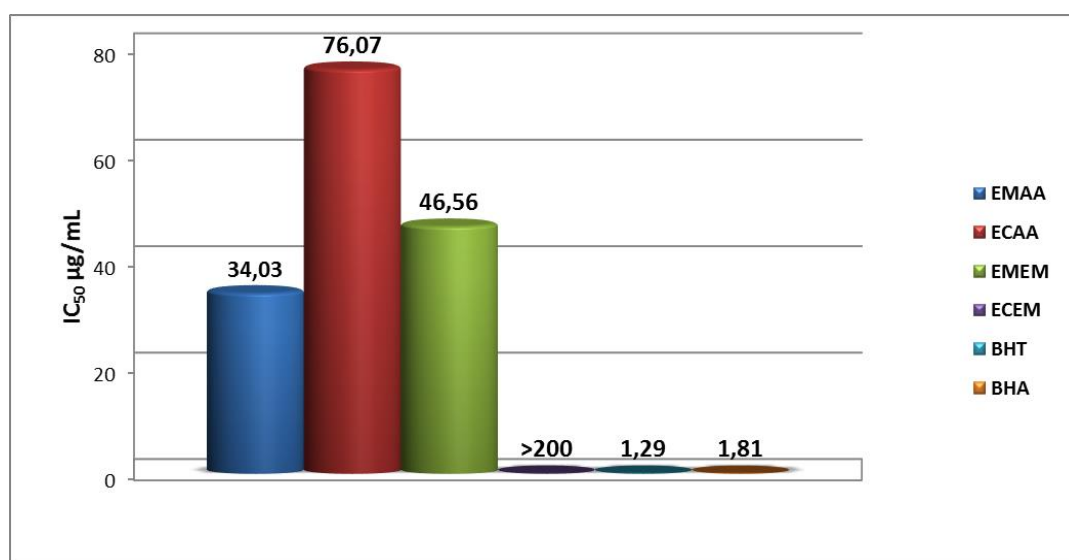


Figure 38 : Valeurs des CI₅₀ du test ABTS pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Les résultats de test d'inhibition de l'absorbance du radical ABTS^{•+}, par les Extraits de, sont présentés dans le (Tableau 17).

La capacité de piégeage du radical libre ABTS^{•+} est variable entre les extraits. Les extraits méthanoliques EMAA, EMEM, présentent une activité faible avec des CI₅₀ de l'ordre de (34,03±3,50 ; 46,56±2,15 respectivement) par rapport aux standards BHT et BHA (CI₅₀= 1.29±0.03 µg/ml et 1.81 ±0.10 µg/ml). Mais cette activité reste la meilleure par rapport aux autres extraits chloroformiques. Tandis que l'extrait ECAA possède l'activité la plus faible avec une CI₅₀ = 76,07±3,31µg/ml et l'extrait ECEM était inactif.

Pour la plante *Ambrosia artemisiifolia* une autre étude effectuée par (Mihajlovic et al., 2015) sur un extrait de pollen d'ambrosie a montré une activité équivalente à (5,9 ±0,2 IM) de quercétine. Ces résultats sont inférieurs à celle obtenue dans notre étude.

En comparaison aux travaux réalisés par (Alali et al., 2007), l'extrait méthanolique de l'espèce *E.bryoniifolium boiss* a présenté une activité supérieure (25.4 µmol TE/g) à celle trouvée dans nos échantillons.

On peut expliquer les résultats obtenus dans les deux tests précédents par le fait qu'il y'a une corrélation significative entre les dosages DPPH, ABTS et le contenu phénolique total déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'extrait EMAA riches en polyphénols a manifesté la meilleure activité antiradicalaire suivi par l'ECAA, L'EMEM et l'ECEM. Ces résultats indiquent que la présence de composés phénoliques dans les extraits de plantes contribue de manière significative à leur potentiel antioxydant.(Dudonné et al., 2009).

1.4 Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) :

La méthode (CUPRAC) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm de la réduction en présence d'un antioxydant du complexe stable Neocuproinecuivre (II) de couleur bleu en complexe stable Neocuproïne-cuivre (I) de couleur orange. le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs A_{0,50} des extraits d'*ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* et des standards BHA et BHT mentionnées ci-dessous:

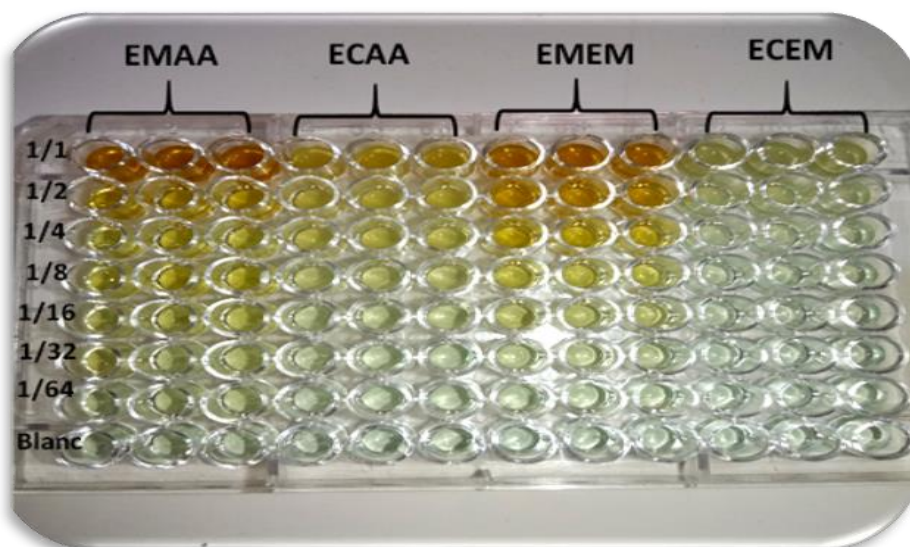


Figure 39 : La plaque de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne des extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Tableau 17 : La capacité antioxydante de réduction du complexe cuivre-néocuproïne d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbance | | | | | | | $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) |
|---------------------------------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | 800 μg | |
| EMAA | 0,24 \pm 0,01 | 0,33 \pm 0,08 | 0,39 \pm 0,02 | 0,61 \pm 0,05 | 0,63 \pm 0,06 | 0,97 \pm 0,05 | 2,90 \pm 0,19 | 71,24 \pm 2,14 |
| ECAA | 0,17 \pm 0,04 | 0,22 \pm 0,04 | 0,24 \pm 0,01 | 0,32 \pm 0,01 | 0,47 \pm 0,02 | 0,61 \pm 0,02 | 1,17 \pm 0,03 | 268,00 \pm 2,60 |
| EMEM | 0,17 \pm 0,00 | 0,21 \pm 0,00 | 0,32 \pm 0,00 | 0,49 \pm 0,01 | 0,88 \pm 0,03 | 1,53 \pm 0,04 | 2,25 \pm 0,05 | 101,54 \pm 1,79 |
| ECEM | 0,14 \pm 0,00 | 0,15 \pm 0,01 | 0,18 \pm 0,01 | 0,24 \pm 0,02 | 0,34 \pm 0,01 | 0,55 \pm 0,02 | 0,91 \pm 0,02 | 365,67 \pm 1,15 |
| BHA^b | 1,12 \pm 0,05 | 1,95 \pm 0,31 | 3,14 \pm 0,46 | 3,58 \pm 0,42 | 3,35 \pm 0,20 | 3,77 \pm 0,19 | 3,92 \pm 0,13 | 5,35 \pm 0,71 |
| BHT^b | 1,41 \pm 0,03 | 2,22 \pm 0,05 | 2,42 \pm 0,02 | 2,50 \pm 0,01 | 2,56 \pm 0,05 | 2,86 \pm 0,07 | 3,38 \pm 0,13 | 8,97 \pm 3,94 |

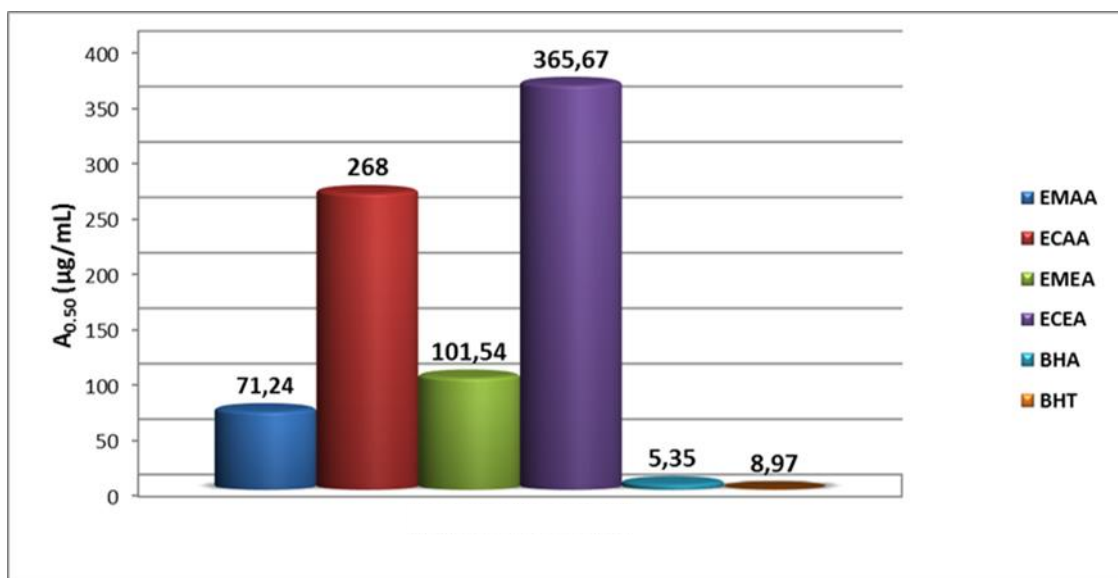


Figure 40 : Valeurs des $A_{0,5}$ du test CUPRAC pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

D'après les résultats, l'EMAA exerce la meilleure activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne par rapport aux autres extraits avec une valeur de ($A_{0,5} = 71,24 \pm 2,14$ µg/ml), suivis par les extraits ECAA et EMEA avec les valeurs ($A_{0,5} = 101,54 \pm 1,79$ µg/ml), ($A_{0,5} = 268,00 \pm 2,60$ µg/ml) respectivement. L'activité de l'EMAA est quatorze fois plus faible que celle du BHA ($A_{0,5} = 5,35 \pm 0,71$ µg/ml) et huit fois plus faible que celle du BHT ($A_{0,5} = 8,97 \pm 3,94$ µg/ml). Cependant l'ECAA a montré la plus faible activité avec une valeur d' $A_{0,5}$ égale à ($365,67 \pm 1,15$ µg/ml).

Cette étude nous a permis de confirmer que l'EMAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* est l'extrait qui possède la meilleure réduction du complexe cuivre-néocuproïne. (Tableau figure)

Comparativement avec le travail de (Cengiz Sarikurkcu et al., 2017) sur l'espèce *E. cicutarium*, le résultat du pouvoir réducteur avec la valeur de ($130,44 \pm 4,26$ mg ETs/g) est similaire aux résultats obtenus dans cette étude pour l'extrait méthanolique.

Les capacités antioxydantes les plus élevées dans la méthode CUPRAC ont été observées pour les extraits méthanoliques de *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*.

1.5 Evaluation de l'activité phénanthroline

La phénanthroline réagit avec le fer (Fe^{+2}) en donnant un complexe de couleur rouge absorbant à la longueur d'onde 510 nm. le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs $A_{0,50}$

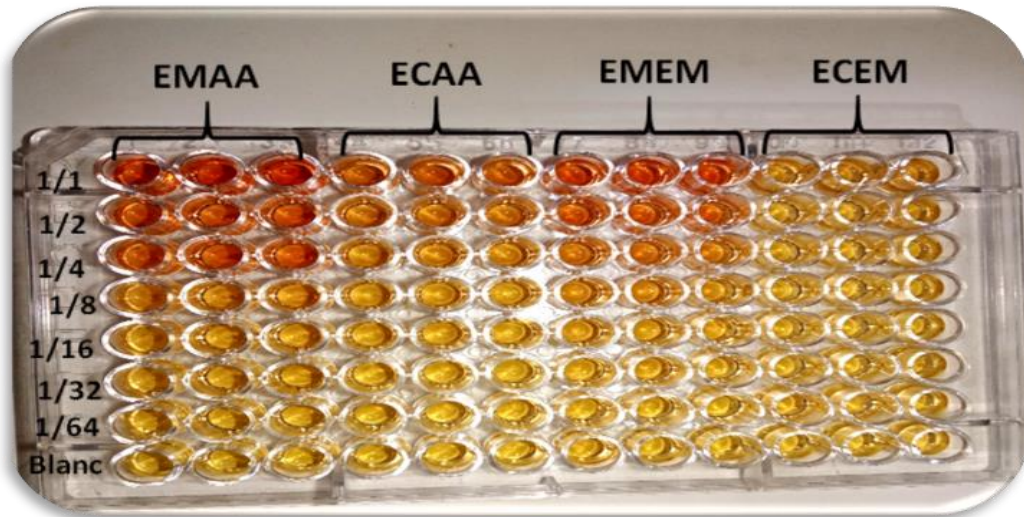


Figure 41 : La plaque de dosage de l'activité phénanthroline des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Tableau 18 : Absorbance du pouvoir réducteur par la formation du complexe Fe⁺²-phénantroline d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration | | Absorbances in phenanthroline assay | | | | | | |
|-----------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | | | |
| Extraits et standards | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/mL}$) |
| EMAA | 0,27 \pm 0,01 | 0,30 \pm 0,02 | 0,33 \pm 0,01 | 0,41 \pm 0,02 | 0,82 \pm 0,06 | 0,83 \pm 0,03 | 1,40 \pm 0,16 | 30.54 \pm 0.17 |
| ECAA | 0,25 \pm 0,01 | 0,26 \pm 0,00 | 0,28 \pm 0,01 | 0,32 \pm 0,02 | 0,40 \pm 0,01 | 0,49 \pm 0,01 | 0,72 \pm 0,08 | 100.67 \pm 0.58 |
| EMEM | 0,27 \pm 0,01 | 0,29 \pm 0,02 | 0,33 \pm 0,01 | 0,40 \pm 0,03 | 0,53 \pm 0,04 | 0,80 \pm 0,01 | 1,18 \pm 0,06 | 49.18 \pm 0.38 |
| ECEM | 0,29 \pm 0,02 | 0,26 \pm 0,00 | 0,28 \pm 0,01 | 0,29 \pm 0,02 | 0,30 \pm 0,01 | 0,32 \pm 0,02 | 0,46 \pm 0,02 | NA |
| | 0.78125 | 1.5625 | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/mL}$) |
| BHA | 0,49 \pm 0,01 | 0,59 \pm 0,01 | 0,73 \pm 0,02 | 0,93 \pm 0,01 | 1,25 \pm 0,04 | 2,10 \pm 0,05 | 4,89 \pm 0,06 | 0,93 \pm 0,07 |
| BHT | 0,47 \pm 0,01 | 0,47 \pm 0,01 | 0,53 \pm 0,03 | 1,23 \pm 0,02 | 1,84 \pm 0,01 | 3,48 \pm 0,03 | 4,84 \pm 0,01 | 2,24 \pm 0,17 |

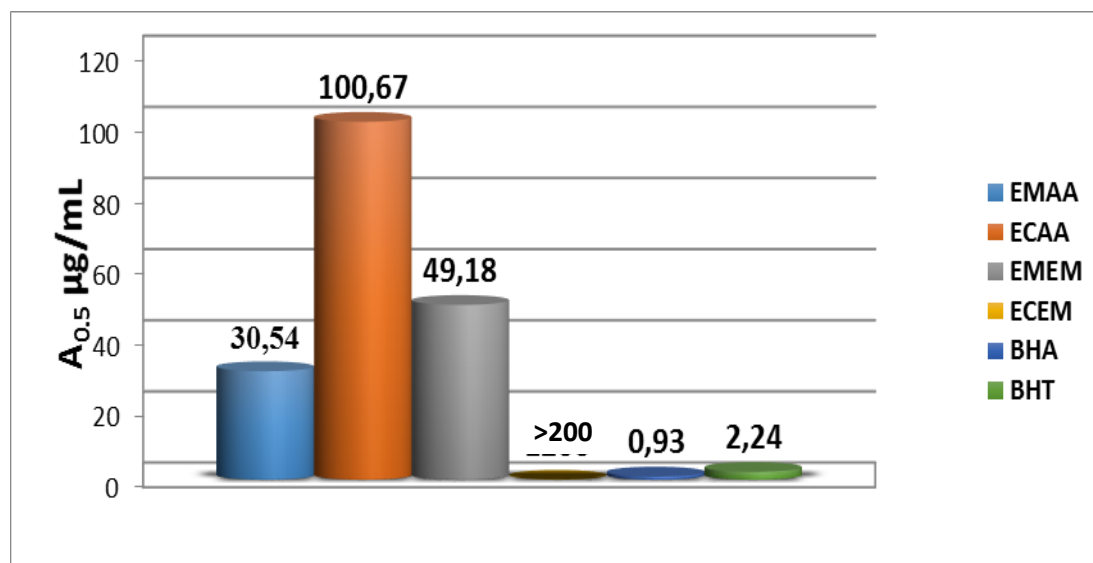


Figure 42 : Valeurs des $A_{0.5}$ dans le test phénanthroline

D'après les résultats, l'EMAA exerce la meilleure activité de réduction du fer par rapport aux autres extraits avec une valeur de ($A_{0,5} = 30.54 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$). Suivis de extraits EMEM avec des valeurs ($A_{0,5} = 49.18 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}$). L'activité de l'EMAA est trente fois plus faible que celle de BHA ($A_{0,5} = 0.93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) et treize fois plus faible que celle de BHT ($A_{0,5} = 2.24 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$). Cependant l'ECAA a montré la plus faible activité avec une valeur de $A_{0,50}$ égale à ($100,67 \pm 0,58 \mu\text{g/ml}$) qui est incomparable aux résultats des standards BHA et BHT. Tendez que l'extrait ECEM inactif.

1.6 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test FRAP mesure la capacité de réduction du fer dans le complexe en présence d'un agent antioxydant. le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs d' $A_{0,50}$ des extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* et des standards, l'acide ascorbique et l' α -Tocopherol mentionnées ci-dessous:

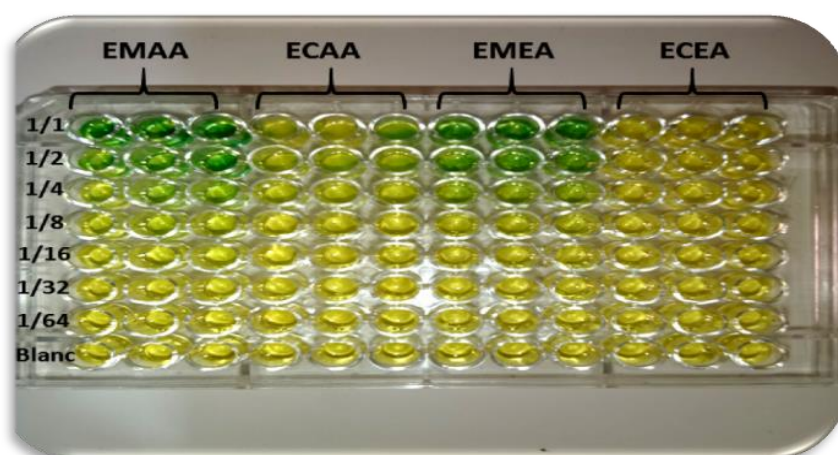


Figure 43 : La plaque de dosage de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Tableau 19 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards | Absorbance | | | | | | | $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) |
|---|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | |
| EMAA | 0,07 \pm 0,00 | 0,09 \pm 0,01 | 0,12 \pm 0,01 | 0,18 \pm 0,02 | 0,26 \pm 0,26 | 0,45 \pm 0,01 | 0,81 \pm 0,05 | 114,06 \pm 1,87 |
| ECAA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | >200 |
| EMEM | 0,06 \pm 0,00 | 0,07 \pm 0,00 | 0,09 \pm 0,00 | 0,15 \pm 0,01 | 0,27 \pm 0,01 | 0,51 \pm 0,01 | 0,64 \pm 0,05 | 98,52 \pm 2,18 |
| ECEM | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | >200 |
| Acide ascorbique | 0,35 \pm 0,05 | 0,46 \pm 0,03 | 0,84 \pm 0,12 | 0,93 \pm 0,30 | 1,18 \pm 0,34 | 1,37 \pm 0,20 | 1,44 \pm 0,21 | 6,77 \pm 1,15 |
| α-Tocopherol | 0,11 \pm 0,00 | 0,16 \pm 0,00 | 0,21 \pm 0,03 | 0,35 \pm 0,03 | 0,73 \pm 0,03 | 1,37 \pm 0,08 | 1,81 \pm 0,09 | 34,93 \pm 2,38 |

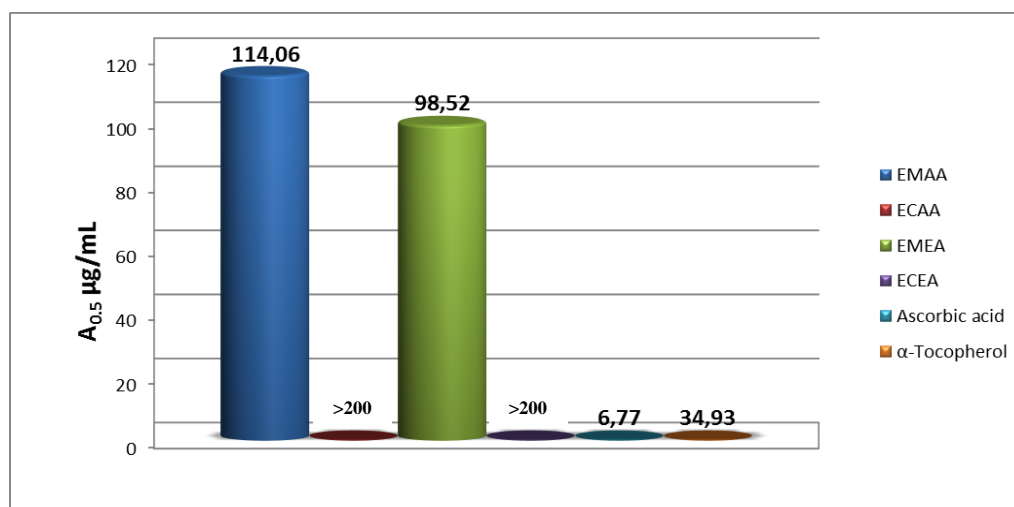


Figure 44 : Valeurs des $A_{0.5}$ du test pouvoir réducteur pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Les résultats obtenus montrent que la plupart des extraits ont une faible capacité de réduire le fer en complexe. Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'EMEM avec une valeur de ($A_{0.50} = 98,52 \pm 2,18 \mu\text{g/ml}$), cette valeur est seize fois plus faible que celle de l'acide ascorbique ($A_{0.50} = 6,77 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$) et deux fois plus faible que celle de l' α -Tocopherol

($A_{0.50} = 34.93 \pm 2.38 \mu\text{g/ml}$). Ensuite, cette activité est suivie par l'extrait EMAA avec une valeur de $A_{0.50}$ égale à ($114,06 \pm 1,87 \mu\text{g/ml}$) qui est dix-neuf fois plus faible que celle de l'acide ascorbique ($A_{0.50} = 6.77 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$) et trois fois plus faible que celle de l' α -Tocopherol ($A_{0.50} = 34.93 \pm 2.38 \mu\text{g/ml}$). Tandis que les extraits ECAA et ECEM ont montré le pouvoir réducteur le plus faible ($A_{0,50} > 200 \mu\text{g/ml}$).

Une étude faite par (**Maksimović, 2008**) sur l'extrait acétonique aqueux de la plante *Ambrosia artemisiifolia* a présenté une activité chélatrice du fer égale à ($2.37 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$), qui est plus élevée que le résultats obtenue dans notre étude et qui montre que l'extraits acétonique aqueux de cette plante a une capacité significative à réduire le Fe^{3+} , et donc la capacité à donner des électrons.

Dans l'étude menée par (**Hamza et al., 2018**) sur l'espèce du même genre *Erodium glaucophyllum*, le meilleure pouvoir réducteur a été de valeur égale à ($14.98 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$) meilleur que celle enregistré dans notre étude.

Le test du pouvoir réducteur de frappe sur les extraits méthanoliques de *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a permet de montrer que ces derniers possèdent une activité de réduction moyennement faible en comparaison avec celui de l'acide ascorbique par contre les deux extraits chloroformique sont inactives.

1.7 Activité nanoparticule d'argent SNP

C'est une méthode colorimétrique sensible basé sur le mécanisme de transfert des électrons entre les ions d'argent et les molécules antioxydant, en présence des grains d'argent stabiliser au citrate (**Özyürek et al., 2011**)

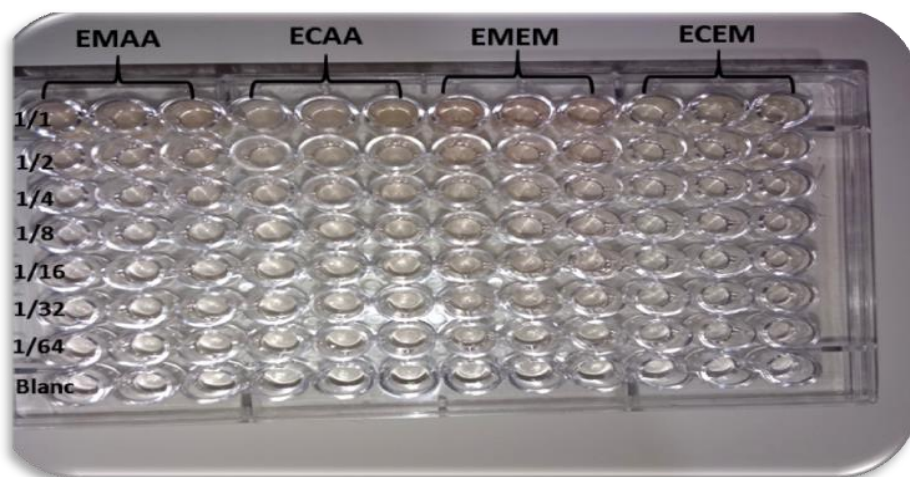


Figure 45 : La plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur nanoparticule d'argent pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Tableau 20 : Absorbance du pouvoir réducteur de nanoparticule d'argent pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbance | | | | | | | |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | $A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$) |
| Extraits | | | | | | | | |
| Et standards | | | | | | | | |
| EMAA | 0.10 \pm 0.00 | 0.11 \pm 0.00 | 0.13 \pm 0.00 | 0.17 \pm 0.01 | 0.22 \pm 0.01 | 0.32 \pm 0.02 | 0.54 \pm 0.01 | 357.38 \pm 1.07 |
| ECAA | 0.10 \pm 0.01 | 0.11 \pm 0.01 | 0.13 \pm 0.01 | 0.17 \pm 0.01 | 0.23 \pm 0.01 | 0.39 \pm 0.01 | 0.66 \pm 0.02 | 277.33 \pm 2.31 |
| EMEM | 0.11 \pm 0.00 | 0.11 \pm 0.00 | 0.12 \pm 0.01 | 0.13 \pm 0.01 | 0.18 \pm 0.02 | 0.26 \pm 0.01 | 0.35 \pm 0.08 | NA |
| ECEM | 0.09 \pm 0.01 | 0.09 \pm 0.00 | 0.11 \pm 0.00 | 0.15 \pm 0.01 | 0.18 \pm 0.03 | 0.28 \pm 0.01 | 0.30 \pm 0.06 | NA |
| | 1.5625 μg | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | $A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$) |
| Acide ascorbique | 0.24 \pm 0.00 | 0.32 \pm 0.01 | 0.45 \pm 0.01 | 0.75 \pm 0.01 | 1.22 \pm 0.02 | 1.90 \pm 0.03 | 2.35 \pm 0.01 | 7.14 \pm 0.05 |
| Trolox | 0.17 \pm 0.00 | 0.20 \pm 0.01 | 0.23 \pm 0.00 | 0.30 \pm 0.01 | 0.43 \pm 0.01 | 0.64 \pm 0.03 | 1.04 \pm 0.01 | 34.17 \pm 1.23 |

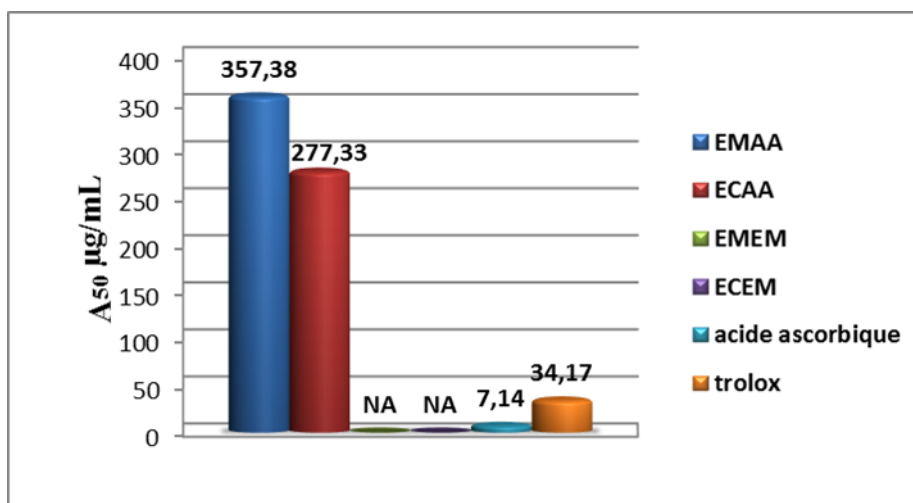


Figure 46 : Valeurs des Valeurs des A_{0,5} du test SNP des extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Les résultats obtenus par cette activité montrent que l'extrait ECAA a présenté la meilleure activité par rapport aux autres extraits avec une valeur de (A_{0,5}= 277.33±2.31µg/ml). Ce dernier est huit fois plus faible que le Trolox (A_{0,5}=34.17±1.23µg/ml) et quarante fois plus faible que l'acide ascorbique (A_{0,5}=7.14±0.05µg/ml). Cette activité est suivie par l'extrait EMAA (A_{0,5}=357.38±1.07). Par contre les extraits EMEM, ECEM était inactif.

➤ Conclusion

Dans notre étude on a utilisé plusieurs types de mesure de la capacité antioxydante pour prendre en compte les différents modes d'action des antioxydants car aucune méthode unique n'est suffisante.

En conclusion et d'après les résultats obtenue, il apparait que l'extrait méthanolique de la plante *Ambrosia artemisiifolia* a montré la meilleure activité antioxydante pour les six méthodes utilisées : l'activité antiradicalaire au DPPH, l'activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC), l'activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}, l'activité du pouvoir réducteur (FRAP), l'activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phenanthroline, et l'activité nanoparticule d'argent SNP. D'après les résultats on remarque que la plante *Ambrosia artemisiifolia* qui est considéré comme une mauvaise herbe à manifester une activité antiradicalaire meilleure que les extraits de la plante *Erodium montanum* et selon (Maksimović, 2008) cette mauvaise herbe pourrait devenir

potentiellement intéressante comme matière première pour l'industrie pharmaceutique et chimique.


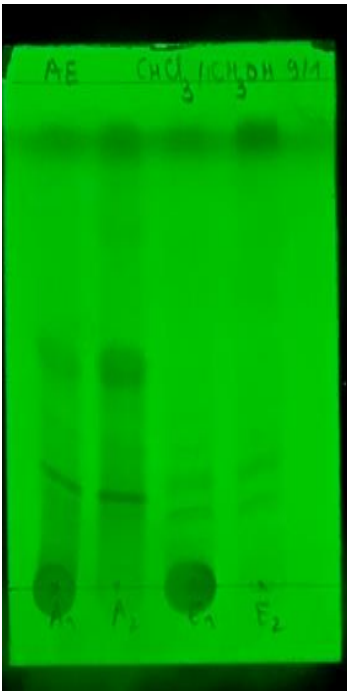

Il est à noter que l'ordre d'efficacité des extraits étudiés était presque le même dans les six méthodes, ce qui confirme la corrélation entre les méthodes étudiées et la bonne pratique expérimentale.

2 La bio-autographie

Pour déterminer l'activité antioxydante par bio-autographie des extraits *d'ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*, une chromatographie sur couche mince a été effectuée dont la phase stationnaire est le gel de silice et la phase mobile est un mélange de chloroforme et de méthanol (9/1) (v/v).

Pour la révélation des plaques les spots ont été visualisés sous la lampe UV à deux longueurs d'ondes 254 nm (révèle les taches non fluorescentes et visible) et 365 nm (révèle les taches fluorescentes).

Après le développement par le système et la révélation des plaques par différentes solutions, on a obtenus les chromatogrammes suivant.

| Plantes | <i>Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum</i> | | |
|--|--|---|--|
| Les extraits | A1 (EMAA) ; A2 (ECAA) ; E1 (EMEM) ; E2 (ECEM) | | |
| Révélateurs | Visible | UV à 254 nm | UV à 365nm |
| Système chloroforme et méthanol (9/1) |  |  |  |

Les résultats de cette chromatographie sont représentés dans le tableau. Pour les deux extraits de la plante *ambrosia artemisiifolia* (EMAA, ECAA), les deux extraits ont manifesté les mêmes taches. On peut remarquer à l'œil nu deux taches de couleur vert clair et marron au milieu de la plaque tandis que la plaque sous UV à 365 nm d'autres tâches très claires ont été identifiées.

Cette migration indique que ces taches contiennent des molécules de polarité proche à celle de la phase stationnaire, c'est pourquoi ces derniers ont bien diffusé le long de cette phase.



Figure 47 : plaque CCM pulvériser par une solution ABTS

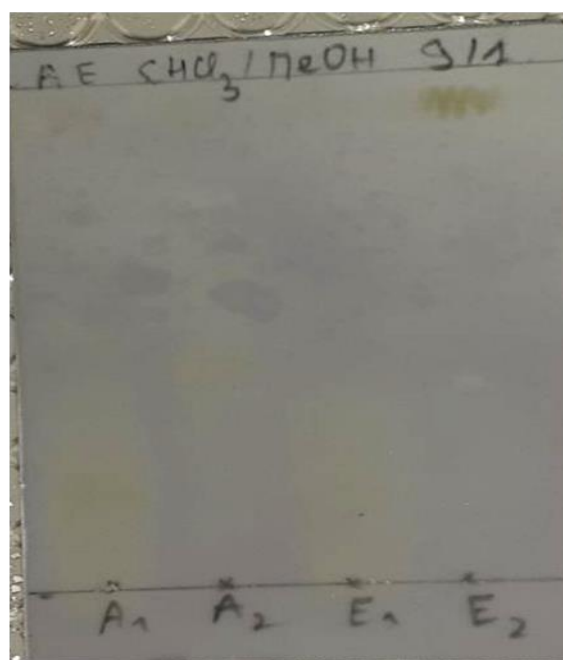


Figure 48 : plaque CCM pulvériser par une solution DPPH

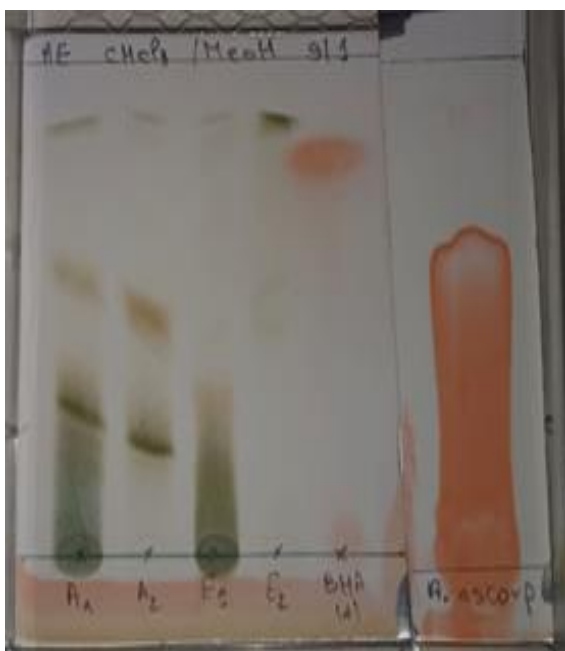


Figure 49 : Plaque CCM pulvériser par une solution de phénanthroline



Figure 50 : plaque CCM pulvériser par une solution de FRAP

Les deux extraits de l'espèce *Erodium montanum* ont présenté des taches qui ne sont pas visible à l'œil nu mais a 245 nm deux tache claire et proche du dépôt ont été observés et le reste de la phase mobile à migrer jusqu'au fond de la plaque.

On peut expliquer cette diffusion des extraits par le fait que le système de solvant utilisé possède une grande polarité tandis que les constituants des extraits étudié sont des substances moins polaires donc il n'ont pas d'affinité pour la phase stationnaire et par conséquent l'éluant va entraîner les composés avec lui.

Après le développement par le système et la révélation des plaques par différentes solutions, les chromatogrammes qu'on a obtenus font apparaître de très nombreuses taches, diversement colorées, voire figure

➤ Estimation de l'activité ABTS sur plaque CCM

Après pulvérisation de la plaque par la solution d'ABTS de coloration bleu toute la plaque a été coloré par cette couleur. Après un moment on a remarqué une décoloration au niveau des deux spots de l'extrait EMAA et ECAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* se qui indique leur capacité de réduire le radicale ABTS.

Par contre les extraits de la plante *Erodium montanum* la décoloration été très faible. Cela peut être expliqué par la faible teneur de composés antioxydant de cette plante.

➤ Activité antiradicalaire au DPPH sur plaque CCM

La bio-autographie par chromatographiques sur couche mince a permet de montrer que, les extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* possèdent une activité antioxydante par le test au DPPH, l'intensité de cette activité varie d'un extrait à un autre. La pulvérisation des spots de ces extraits par la solution DPPH a permet d'observé des taches positives qui apparaissent à l'œil nu sous forme de bandes jaunes- claire, ce qui indique la présence de substances actives capables de réduire le radical DPPH.

Plus la coloration violette initiale du DPPH va disparaître, plus la substance est antioxydante, donc on peut dire que les deux extraits de cette plante ont une activité antioxydante moyennement faible.

Cependant les extraits d'*Erodium montanum* non manifesté aucune décoloration envers le test DPPH se qui confirme sa faible activité.

➤ **Activité du pouvoir réducteur (FRAP) sur plaque CCM**

Dans ce test le BHA qui est utilisé comme standard à manifester une grande tache de couleur bleu qui indique sa forte activité réductrice du fer.

Les deux spots de l'extrait ECAA après leur migration par le système de solvant ont pris une coloration sombre sur un fond vert dès leur contact avec la solution de FRAP, cette couleur est proche à celle du BHA. Pour l'extrait ECAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* on remarque que sa coloration a changée mais d'une intensité moins que celle de l'extrait méthanolique de la même plante. Cependant, la pulvérisation des extraits d'*Erodium montanum* par la solution FRAP n'a pas permis d'observer des taches colorées, ce qui reflète leur faible activité réductrice.

Ces résultats confirment la faible activité antioxydante des deux plantes réalisés sur microplaque de 96 puits.

Il est à noter que la valeur du pouvoir antioxydant (FRAP) peut varier considérablement en fonction de la variabilité chimique et la concentration de ces molécules antioxydant contenue dans l'échantillon.

➤ **Estimation de l'activité phénanthroline sur plaque CCM**

Pour l'activité phénanthroline, l'acide ascorbique et le BHA qui ont été utilisés comme témoin ont manifesté une excellente capacité antioxydante et cela est confirmé par la forte coloration orange observé, l'intensité de cette coloration varie d'un extrait à un autre selon son activité.

Les deux extraits de la plante *Ambrosia artemisiifolia* ont montré deux spots, le premier est de couleur verte et le deuxième est de couleur orange claire proche à celle du BHA

L'extrait EMEM, a présenté une tache de couleur marron claire un peu proche à celle du BHA, cependant aucun changement de couleur n'a été observé pour l'extrait ECEM. Ces résultats confirment la faible activité phénanthroline des deux plantes réalisés sur microplaque de 96 puits.

➤ Conclusion

La variété de l'activité antioxydante d'un extrait à un autre au sein de la même espèce peut être due à plusieurs facteurs dont principalement le solvant d'extraction utilisé car la différence de polarité des solvants utilisés permet l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaires (GREEN, 2004). Dans la présente étude l'extrait méthanolique de la plante *Ambrosia artemisiifolia* (EMAA) à manifester la meilleure activité antioxydante par rapport aux autres extraits étudiés.

3 Activité enzymatique

L'évaluation de l'activité enzymatique des extraits : EMAA, ECAA, EMEM, ECEM a été réalisée par l'inhibition de trois enzymes.

3.1 Activité anti Alzheimer via l'inhibition de la butyrylcholinestérase

L'activité inhibitrice de cette enzyme par les extraits des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a été évalué en déterminant les concentrations inhibitrice CI_{50} par rapport au standard la galantamine. Les résultats sont présentés au-dessous



Figure 51 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase par les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia et Erodium montanum*

Tableau 21 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*.

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits Et standard | % d'inhibition | | | | | | | |
|--|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------------|
| | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) |
| EMAA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 13,63 \pm 4,66 | >200 |
| ECAA | NA | NA | NA | NA | NA | 22,12 \pm 0,85 | 39,92 \pm 2,31 | >200 |
| EMEM | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| ECEM | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| Galantamine^b | 3,26 \pm 0,62 | 6,93 \pm 0,62 | 24,03 \pm 2,94 | 45,13 \pm 2,60 | 63,87 \pm 2,85 | 73,57 \pm 0,77 | 78,95 \pm 0,58 | 34.75 \pm 1.99 |

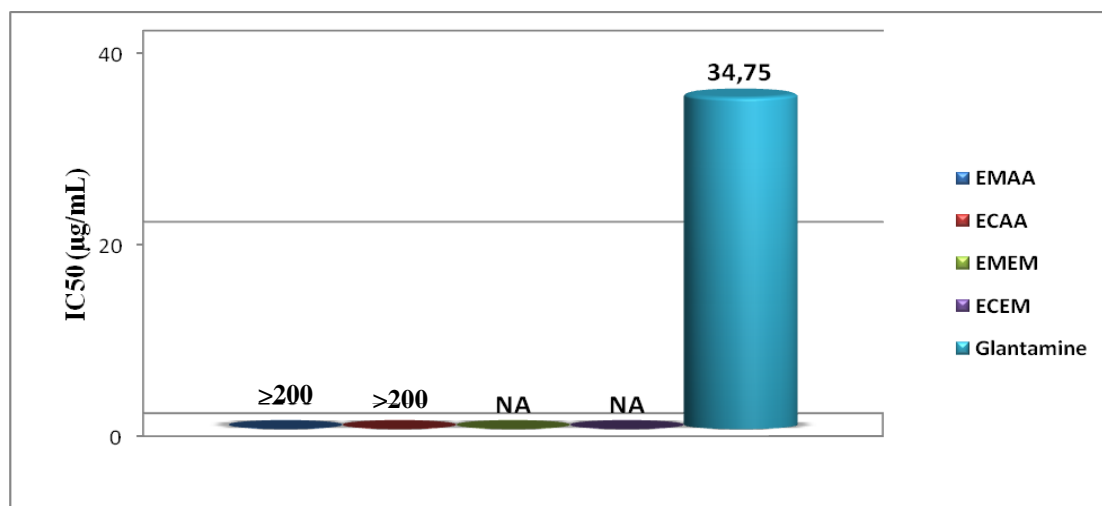


Figure 52 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

D'après les résultats de la Figure , qui présente le pourcentage d'inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits d'*Erodium montanum* et *Ambrosia artemisiifolia*, a la concentration 200 µg/ml, on remarque que l'extrait ECAA a faiblement inhibé l'activité de l'BChE, avec un pourcentage d'inhibition de $(39,92 \pm 2,31)$ qui est deux fois plus faible que celui de la galantamine $(78,95 \pm 0,58)$.

Cependant l'extrait EMAA avec un pourcentage d'inhibition $(13,63 \pm 4,66)$ est dix fois plus faible que la galantamine $(78,95 \pm 0,58)$, donc il est loin d'être comparé à cette dernière. Par contre les extraits EMEM et ECEM étaient inactif pour les différentes concentrations.

Des travaux sur l'espèce *E. cicutarium* (Cengiz Sarikurkeu et al., 2017) du même genre, montrent que le dosage inhibiteur de la BChE est de $(20,08 \pm 1,84$ mg GALAEs/g extract) qui est plus loin de le comparer au résultat obtenus dans notre mémoire.

3.2 Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité enzymatique des différents extraits des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a été évaluée en mesurant leurs capacités à inhiber l'enzyme alpha-amylase.

➤ Inhibition de l'alpha amylase :

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase des différents extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a été évaluée par la détermination de la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme et en la comparant au standard l'Acarbose.



Figure 53 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Tableau 22 : Inhibition de l' α -amylase par les extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards | % d'inhibition | | | | | | | CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) |
|---|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|
| | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | |
| EMAA | 32,19 \pm 1,81 | 37,42 \pm 2,81 | 45,17 \pm 3,44 | 45,14 \pm 0,11 | 53,39 \pm 0,92 | 60,59 \pm 3,57 | 75,00 \pm 3,72 | 79,66 \pm 3,23 |
| ECAA | 34,22 \pm 1,14 | 38,51 \pm 0,53 | 44,74 \pm 4,02 | 47,26 \pm 2,07 | 56,72 \pm 2,00 | 60,40 \pm 3,40 | 70,55 \pm 3,45 | 69,22 \pm 4,58 |
| EMEA | NA | NA | NA | NA | NA | 40,75 \pm 1,83 | 41,69 \pm 1,08 | >400 |
| ECEA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | >400 |
| | 62,5 μg | 125 μg | 250 μg | 500 μg | 1000 μg | 2000 μg | 4000 μg | CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) |
| Acarbose | 7,76 \pm 0,17 | 8,08 \pm 0,30 | 9,46 \pm 0,11 | 10,70 \pm 0,96 | 31,81 \pm 2,89 | 37,21 \pm 3,54 | 53,05 \pm 1,59 | 3650,93 \pm 10,70 |

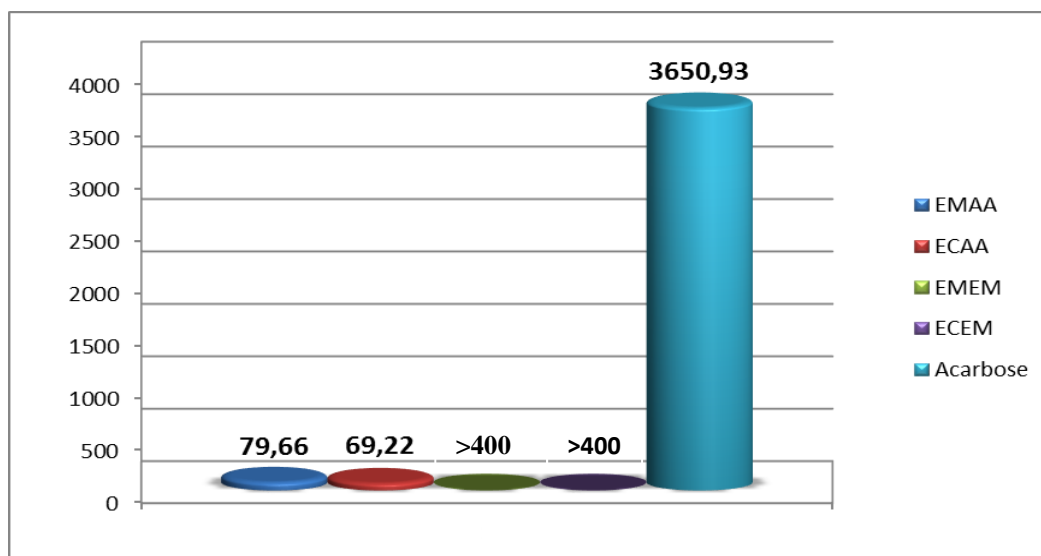


Figure 54 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l' α -amylase pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*.

D'après les résultats obtenus (**Tableau 22**), on remarque que les extraits ont montré une faible activité de l' α -amylase.

Les extraits EMAA et ECAA ont exhibé une faible activité ($CI_{50} = 79,66 \pm 3,23 \mu\text{g/ml}$) et ($CI_{50} = 69,22 \pm 4,58 \mu\text{g/ml}$) respectivement loin d'être comparé avec l'Acarbose. Tandis que les extraits EMEM et ECEM ont montré la plus faible activité par rapport aux autres extraits ($CI_{50} > 400$).

Bien que les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* possédant une faible activité d'inhibition de l' α -amylase mais elle reste quand même plus forte que celle des extraits de la plante *Erodium montanum*.

Dans l'étude menée par (**Cengiz Sarikurkcu et al., 2017**) sur l'espèce du même genre *E. cicutarium* a montré une de l' α -amylase égale à ($0,58 \pm 0,01 \text{ mmol ACES/g extract}$), qui est plus forte que nos extraits.

On peut expliquer cette faible activité inhibitrice de l' α -amylase malgré la présence des polyphénols dans les extraits EMAA et ECAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* et l'extrait EMEM de la plante *Erodium montanum* par la carence d'une classe spécifique de composés phénoliques qui est la classe des tanins. Les tanins sont des inhibiteurs non spécifiques de plusieurs enzymes hydrolytiques comme les α -amylases.

3.3 Activité anti-uréase :

Dans cette étude l'activité inhibitrice l'uréase a été évalué en se basant sur la capacité des extraits des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* à inhiber cette enzyme. Le Thiourée est utilisé comme standard. Les résultats sont présentés au-dessous :

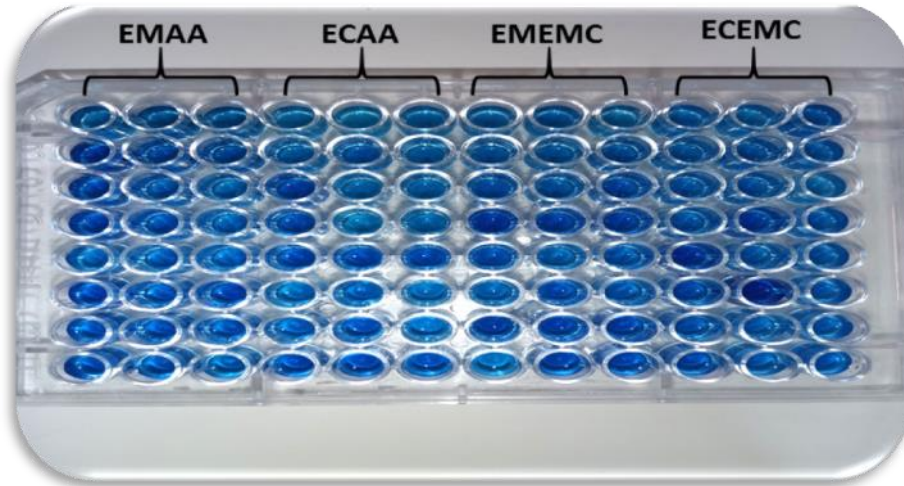


Figure 55 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase pour les extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

Tableau 23 : Inhibition de l'uréase par les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards | % d'inhibition | | | | | | | CI ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|---|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--|
| | 3.125 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 200 | |
| EMAA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 12,61 \pm 2,75 | >200 |
| ECAA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 22,96 \pm 1,58 | >200 |
| EMEMC | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| ECEMC | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| Thiourea | 4,49 \pm 0,78 | 19,85 \pm 2,74 | 55,64 \pm 4,24 | 94,17 \pm 0,15 | 98,42 \pm 0,19 | 98,49 \pm 0,41 | 98,90 \pm 0,05 | 11.57 \pm 0.68 |

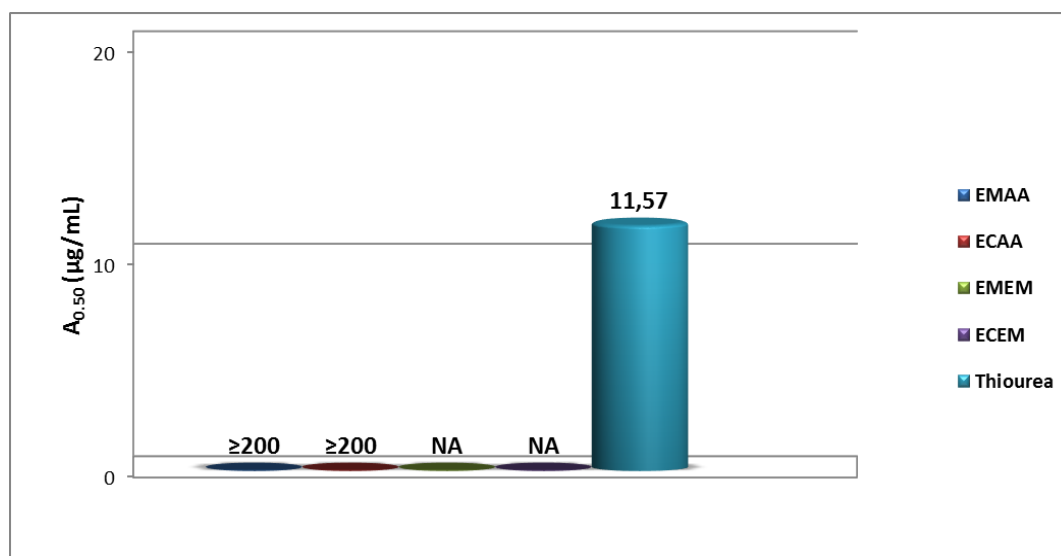


Figure 56 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'uréase pour les extraits *d'Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

D'après les résultats, les extraits EMAA et ECAA a la concentration de 200 µg/ml ont inhibé l'uréase avec un pourcentage d'inhibition de (12,61±2,75 %) et (22,96±1,58 %) respectivement qui est un pourcentage faible par rapport au standard le Thiourea ($CI_{50} = 11.57 \pm 0.68$ µg/ml). tandis que les extraits EMEM et ECEM de la plante *Erodium montanum* étaient inactif pour les différentes concentrations.

4 Evaluation de l'activité Anti-moisissures

Ce test a été effectué dans le but d'évaluer l'activité antifongique des extraits étudié. Après l'application des extraits étudiés (EMAA, ECAA, EMEM, ECEM) sur le concentré de tomate et l'observation visuelle pendant une période de un mois, les résultats sont présentés au-dessous :

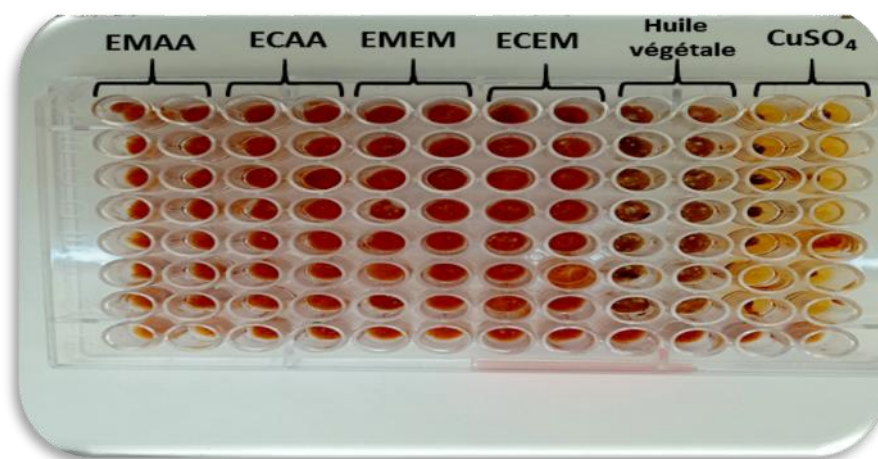


Figure 57 : Image de la plaque de l'activité anti-moisissures

Tableau 24 : le taux d'infection des échantillons de la tomate traité par les extraits des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| EMAA | ECAA | EMEM | ECEM | L'huile végétale | Solution CuSo4 |
|-------|-------|--------|---------|------------------|----------------|
| 7.14% | 7.14% | 14.28% | 14.28 % | 100 % | 0 % |

Les résultats montrent qu'il n'y a aucun changement au niveau des échantillons sur lesquels les extraits EMAA, ECAA sont appliqués, et donc tous les extraits de la plante *Ambrosia artemisiifolia* et le témoin positif (la solution de cuivre) ont manifesté une excellente activité anti-moisissures avec un pourcentage de contamination égale à (7.14%). Alors que les extraits EMEM et ECEM de la plante *Erodium montanum* ont présenté un pourcentage de contamination égale a (14.28 %) qui est aussi un résultat très intéressant. Pour le témoin négatif (l'huile végétale) il a présenté un pourcentage de contamination de 100 %.

On peut conclure que les extraits qu'on a appliqués ont lutté contre toute contamination de moisissures donc probablement ses extraits contient des composants ayant une activité anti-moisissures. Cette excellente activité anti-moisissures avec le faible pourcentage de toxicité des extraits étudié peut être très utile dans l'industrie de la conservation alimentaire pour la fabrication des produire bio-conservateurs.

5 Evaluation de la cytotoxicité

5.1 Sur les larves de farine

La toxicité a été réalisée sur le modèle de vers de farine connu scientifiquement par le nom de *tenebrio molitor*. Les résultats sont présentés au-dessous :



Figure 58 : Les vers de farine morte

Tableau 25 : Nombre de mortalité de ténébrion Molitor pendant 10 jours

| Solutions \ jours | Jour 1 | Jour 2 | Jour 3 | Jour 4 | Jour 5 | Jour 6 | Jour 7 | Jour 8 | Jour 9 | Jour 10 |
|-------------------|--------|--------|--------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| EMAA | 0 | 0 | 0 | 0 1 pulpe | 0 1 pulpe | 0 2 pulpes | 0 2 pulpes | 0 2 pulpes | 0 2 pulpes | 0 2 pulpes |
| ECAA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| EMEM | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ECEM | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Aire | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Témoin native | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Méthanol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 1 pulpe | 1 1 pulpe | 1 1 pulpe | 1 1 pulpe | 1 1 pulpe | 1 1 pulpe |
| Acide ascorbique | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

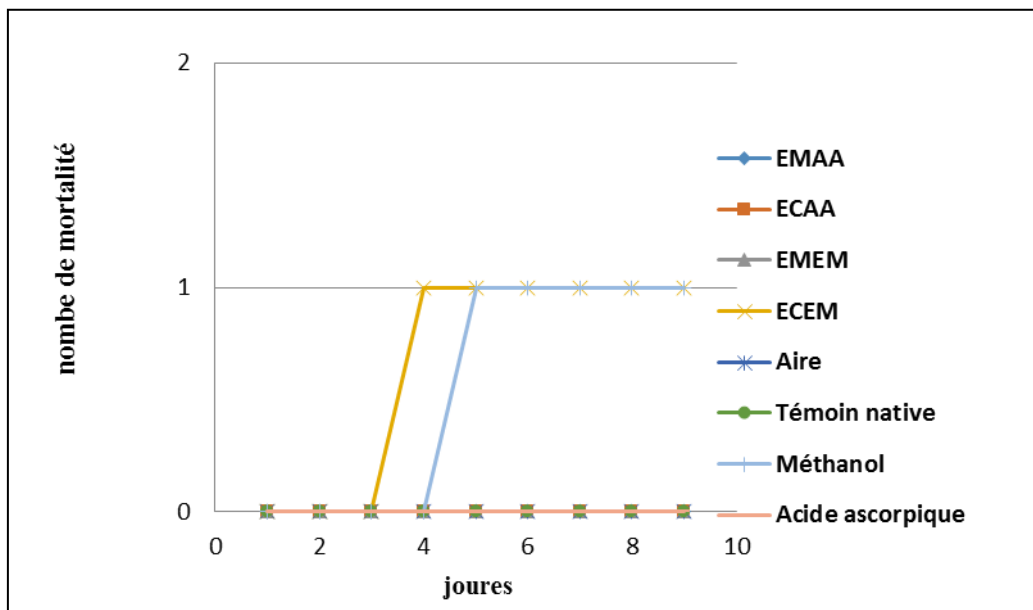


Figure 59 : Nombre de mortalité de ténébrion Molitor pendant 10 jours

D'après les résultats, aucune mortalité n'a été enregistrée chez les larves de farine injectée par les deux extraits de la plante *Ambrosia artemisiifolia* (EMAA et ECAA). On remarque aussi la transformation en pulpe chez les larves injecte par l'extrait méthanolique de cette plante dans le quatrième jour. Dans le 6^{ème} jours une deuxième larve a été transformée en pulpe. Et donc dans le dernier jour on a enregistré deux pulpes et zéro mortalité chez les larves. Cette transformation peut être du a des éléments nutritif dans l'extrait EMAA qui ont aidé les larves pour se transformé plus rapidement.

Les deux extraits de la plante *Erodium montanum* ont manifesté une faible toxicité. Pour L'extrait méthanolique de cette plante EMEM aucune mortalité n'a été enregistrée, par contre pour l'extrait chloroformique ECEM une seule mortalité a été enregistrée dans la quatrième journée et aucune transformation n'a été enregistrée au niveau de ces larves. Ce résultat reflète un taux faible de toxicité pour cet extrait, comme sa peut être justifié par une faute de manipulation (lors de l'injection) qui a causé cette mortalité.

En se basant sur les résultats obtenue on remarque que les extraits EMAA, ECAA, EMEM a la concentration de 4 mg/ml n'ont causé ni les signes évidents de la toxicité ni la mortalité. Par contre seulement l'extrait ECEM a présenté une seule mortalité des vers de farine dans le quatrième jour.

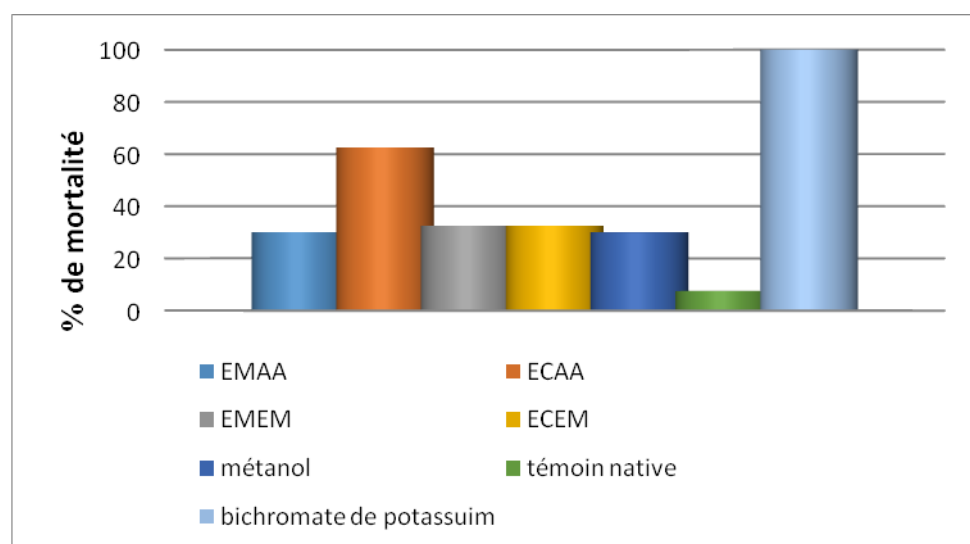
L'aire de la seringue et l'acide ascorbique utilisés comme contrôle n'ont pas présentés une mortalité au vers de farine, par contre le méthanol injecté a provoqué une seul mortalité au vers de farine dans le cinquième jour.

5.3 Sur les larves *Artémia salina*

On a testé la toxicité des extraits étudié sur les larves d'*Artémia salina*, les résultats sont présentés au-dessous :

Tableau 26 : Pourcentage de mortalité d'*Artémia salina*

| Concentration µg/ml | 400 µg /ml (20 larves) | | | | | | | | | | 80 µg/ml (10 larves) | | | |
|-------------------------------|------------------------|----|------|----|------|----|------|----|----------|----|-------------------------|----|-------------------------------|-----|
| | EMAA | | ECAA | | EMEM | | ECEM | | Méthanol | | Témoin Native | | bichromate de potassium | |
| Pourcentage de mortalité % | 0 | 30 | 50 | 75 | 25 | 40 | 25 | 40 | 20 | 40 | 5 | 10 | 100 | 100 |
| Moyenne de % de mortalité | 30 | | 62.5 | | 32.5 | | 32.5 | | 30 | | 7.5 | | 100 | |

**Figure 60** : Pourcentage de mortalité d'*Artémia salina*

Ce test est considéré comme un outil utile pour l'évaluation préliminaire de la toxicité des extraits des plantes.

Dans cette expérimentation, les larves ont été exposées à quatre extraits à une seule concentration (400 µg/ml). Les taux de mortalité des larves ont été déterminés et enregistrés dans les 24 heures suivant l'exposition aux extraits. Le méthanol a été utilisé comme témoin négatif dans cette expérimentation, et le bichromate de potassium comme standard positif.

Pour la plante *Ambrosia artemisiifolia*, l'extrait méthanolique EMAA a enregistré 30% de mortalité qui est le pourcentage le plus faible par rapport aux autres extraits et au bichromate de potassium, suivis directement par les extraits méthanolique et chloroformique de la plante *Erodium montanum* EMEM et ECEM qui ont enregistré le même résultat (32.5%) de mortalité. Le pourcentage de mortalité le plus élevé pour les extraits étudié a été enregistré pour l'extrait ECAA de la plante *Ambrosia artemisiifolia* (62.5%) mais ce résultat reste quand même meilleur que celui obtenus par le bichromate de potassium qui est (100%) de mortalité.

Le pourcentage de mortalité du méthanol été le même que celui de EMAA (30%) par contre le témoin native a enregistré le plus faible pourcentage de mortalité parmi toute les solutions utilisé avec un pourcentage de (7.5%).

Ce résultat nous permet d'observé que les extraits EMAA, ECAA, EMEM et ECEM a la concentration (400 µg /ml) sont très peu toxique par rapport au standard qui a enregistrer un pourcentage de mortalité de 100% à la concentration de 80 µl.

6 Analyse Spectroscopie infrarouge à transformer de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique non destructive, son principe repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire.

Les bandes les plus significatives révélées sur les spectres IR des extraits étudiés sont rapportées sur le tableau

Tableau 27 : les bandes caractéristiques du spectre des extraits d'*Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*

| Les extraits | Longueur d'onde (cm ⁻¹) | Liaisons | Nature de liaisons | Fonction |
|--------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| EMAA | 3340,58 | C-H | Valence | Alcool / phénol |
| | 2927,30 | C-H sp ³ | Valence symétrique | Aldéhyde |
| | 1622,38 | C-N | Valence | Alcane + amine |
| | 1046,79 | C-C | valence | Amine |
| ECAA | 2918,72 | C-H sp ³ | Valence symétrique | / |
| | 2850,08 | C-H sp ³ | Valence asymétrique | / |
| | 1738,22 | C=O | Valence | Ester |
| | 1459,36 | C=C | valence | Aromatique |
| EMEM | 3323.42 | C-H | Valence | Alcool / phénol |
| | 2920.18 | C-H sp ³ | Valence symétrique | / |
| | 1603.08 | C-N | Valence | Alcane + amine |
| | 1066.09 | C-C | valence | / |
| ECEM | 2918.72 | C-H sp ³ | Valence symétrique | / |
| | 2850.08 | C-H sp ³ | Valence asymétrique | / |
| | 1738.22 | C=O | Valence | Ester |
| | 1228.40 | C-C | valence | Ester +alcool |
| | 1066.81 | C-C | valence | / |

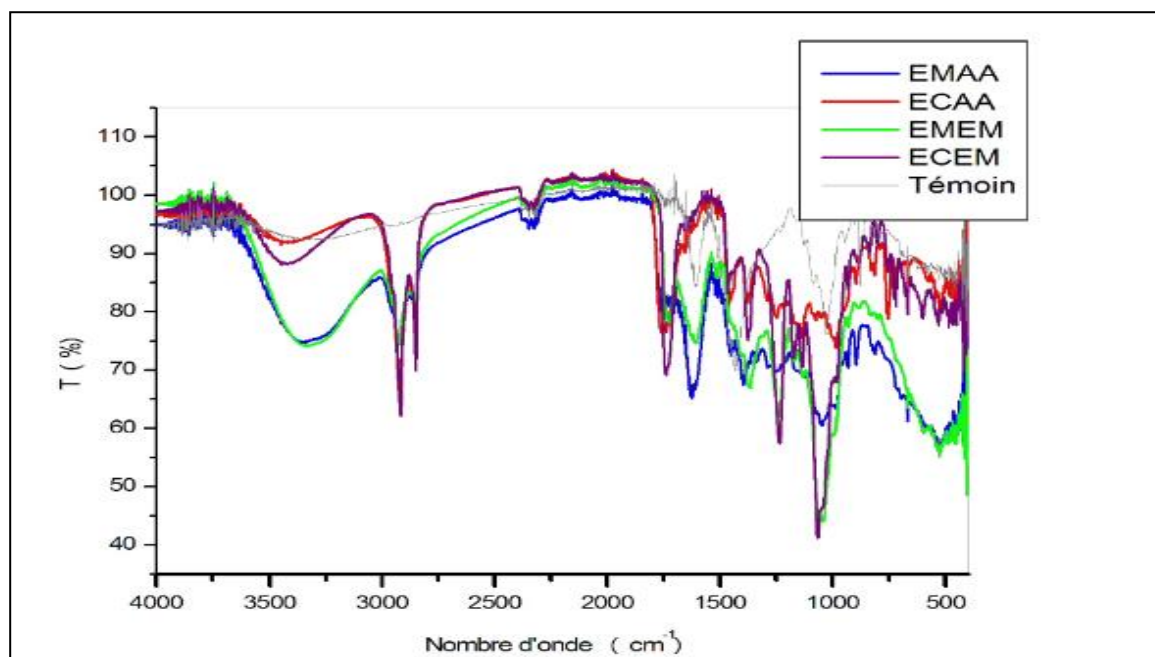


Figure 61 : Spectre infrarouge des extraits d'*Erodium montanum* et *Ambrosia artemisiifolia*

Les radiations électromagnétiques de l'IR sont comprises entre 10000 et 10 cm^{-1} . Cette bande spectrale est elle-même divisée en proche IR (de 10000 à 4000 cm^{-1}), moyen IR (de 4000 à 400 cm^{-1}). La partie du moyen IR est celle la plus riche en informations et la plus accessible.

Dans ce domaine les absorptions correspondant à des nombres d'onde inférieurs à 800 cm^{-1} constituant la partie de l'empreinte digitale du composé étudié alors que les absorptions supérieures à 800 cm^{-1} sont caractéristiques des liaisons chimiques présentes dans l'échantillon, ce qui permet l'analyse fonctionnelle et structurale. **(Bellamy, 2013)**

L'observation des fréquences vibrationnelles des principales bandes d'absorption IR de l'extrait méthanolique de la plante *Ambrosia artemisiifolia* (EMAA) montre une bande étroite d'une intensité moyenne à (1046,79 cm^{-1}) qui est attribuée à la liaison C-C valence. Le deuxième pic est aussi étroit et d'une moyenne intensité se situe à 1622,38 cm^{-1} peut indiquer la présence d'une liaison C-N valence qui reflète la présence d'une fonction amine et alcane. A la longueur de 2927,30 cm^{-1} se manifeste une bande très fine et de faible intensité qui indique la présence d'une liaison de type C-H sp^3 de nature valence symétrique et qui a une fonction aldéhyde. La bande large avec une intensité moyenne à 3340,58 signifie la présence d'une liaison OH libre.

L'extrait ECAA. La bande qui se manifeste à 1459,36 est fine et d'une intensité faible est attribuée à la liaison C=C aromatique. La bande à 1738,22 est attribuée à une liaison C=O valence d'une fonction ester. Les deux pics à 2918,72 et 2850,08 indiquent la présence d'une liaison C-H sp³ d'une valence symétrique pour le premier et asymétrique pour le deuxième.

On remarque qu'il y a une grande similitude entre les deux courbes celui issu par extraction avec le méthanol et celui par le chloroforme dans le domaine de 500 à 2400 cm⁻¹. La différence entre les deux spectres se trouve dans l'intervalle 2500-4000 cm⁻¹.

Concernant les extraits de *Erodium montanum*, On remarque qu'il y a une grande similitude entre les deux courbes celui issu par extraction avec le méthanol et celui par chloroforme.

L'observation des fréquences vibrationnelles des principales bandes d'absorption IR de l'extrait méthanolique de la plante *Erodium montanum* (EMEM) montre une bande étroite et d'une forte intensité se manifeste à (1066.09 cm⁻¹) et qui est attribuée à la vibration d'étirement C-C. La deuxième bande est à (1603.08 cm⁻¹) elle est fine et d'une intensité moyenne, elle indique la présence d'une liaison C-N valence qui reflète la présence d'une fonction alcane ou amine. À (2920.18 cm⁻¹) se manifeste une bande étroite correspond à la vibration de l'étirement C-H sp³ d'une valence symétrique. La bande large à (3323.42 cm⁻¹) est attribuée à l'étirement C-H d'une fonction alcool.

L'extrait chloroformique de la même plante (ECEM) a manifesté également plusieurs bandes de différente signification. La première bande à (1066.81 cm⁻¹) est étroite et d'une intensité très forte et qui reflète la présence d'une liaison C-C valence. Une autre bande à (1228.40 cm⁻¹) signifie la présence d'une liaison C-C valence d'une fonction ester, tandis que les deux bandes étroites à (2850.08 cm⁻¹) et (2918.72 cm⁻¹) correspondent à l'étirement C-H sp³ d'une valence asymétrique pour le premier et symétrique pour le deuxième.

Conclusion & Perspectives

Conclusion

Depuis très longtemps l'homme a profité de la nature pour subvenir de ses besoins non seulement nutritionnels mais aussi thérapeutique. Aujourd'hui les recherches scientifique ont confirmé l'efficacité de plantes à traiter plusieurs maladie grâce a leurs richesse en constituant qui leur confère des propriétés biologique diverses.

Dans le but de rechercher les propriétés thérapeutiques des deux plantes *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* une évaluation des activités biologiques antioxydantes, anticholinestérases, antidiabétiques, anti-uréase et anti-moisissures des deux espèces a été effectué

La plante *Ambrosia artemisiifolia* bien qu'elle est considéré comme une plante envahissante très allergène elle a manifesté une activité antioxydante intéressante, une activité antidiabétique moyennes et une faible activité anti-uréase et anticholinestérase. Cette activité biologique est peut être due à sa composition en métabolite secondaire notamment les polyphénols. Alors que la plante *Erodium montanum* a manifesté une activité antioxydante et enzymatique moyennement faible.

L'activité anti-moisissure a été évaluée aussi sur des sauces de tomate concentrée, tous les extraits ont manifesté une excellente activité par rapport au standard. Une analyse spectroscopique a transformé de fourrier (FTIR) a été utilisé pour confirmer la bonne extraction.

Ce travail préliminaire est focalisé sur les propriétés antioxydantes et anti-moisissure des deux espèces *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*, ouvre la porte pour de nouvelles études et apporte des données nouvelles dans le domaine pharmaceutique. Ainsi à l'avenir, il serait intéressant de faire une quantification et une caractérisation des métabolites secondaires de ces deux plantes par d'autres méthodes analytiques plus performantes.

La forte activité anti-moisissure avec le faible effet toxique des extraits étudiés est un point très encourageant pour tester ces extraits sur d'autres model in-vitro et d'extraire les principes actifs responsable de cette activité pour une futur utilisation dans le domaine de conservation des produits alimentaires. Aussi il faut tester d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobiennes, antivirales, analgésiques, anti-carcinogènes afin de confirmer le résultat obtenu.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

« A »

Abraham, Y., & Elbaum, R. (2013). Hygroscopic movements in Geraniaceae : The structural variations that are responsible for coiling or bending. *New Phytologist*, *199*(2), 584-594.

Agustina, E., Goak, J., Lee, S., Seo, Y., Park, J.-Y., & Lee, N. (2015). Simple and Precise Quantification of Iron Catalyst Content in Carbon Nanotubes Using UV/Visible Spectroscopy. *ChemistryOpen*, *4*(5), 613-619. <https://doi.org/10.1002/open.201500096>

Ak, T., & Gülçin, İ. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, *174*(1), 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.003>

Akroum, S., & Rouibah, M. (2020). Utilisation d'extraits méthanoliques de plantes pour la protection des cultures de tomates-cerises (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*) contre l'infection fongique par *Alternaria alternata*. *Biologie Aujourd'hui*, *214*(1-2), 55-61. <https://doi.org/10.1051/jbio/2020001>

Alali, F. Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S. J., Wheaton, W. D., Falkinham, J. O., & Oberlies, N. H. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants : An ICBG project. *Natural Product Research*, *21*(12), 1121-1131. <https://doi.org/10.1080/14786410701590285>

Albers, F., & Van der Walt, J. J. A. (2007). Geraniaceae : Geraniaceae Adans., Fam. Pl. 2:384 (1763), nom. cons. Hypseocharitaceae Wedd. (1861). In K. Kubitzki (Éd.), *Flowering Plants* ·

Eudicots (p. 157-167). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-32219-1_19

Ambrosia artemisiifolia L. (s. d.). United States Department of Agriculture. Consulté 18 mai 2022, à l'adresse <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=AMAR2>

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997-1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>

« B »

Baek, M., Kim, M., Kwon, Y., Hwang, J., Goo, T., Jun, M., & Yun, E. (2019). Effects of processing methods on nutritional composition and antioxidant activity of mealworm (*TENEBRIO MOLITOR*) larvae. *Entomological Research*, 49(6), 284-293. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12363>

Bellamy, L. (2013). *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*. Springer Science & Business Media.

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Bergounhou, C. (1996). *Protonation de la 1,10-phénanthroline*. 90, 7.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Boutaghane, naima. (2013). *Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes Genista ulicina Spach (Fabaceae) et Chrysanthemum macrocarpum (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae)*. UNIVERSITE DE CONSTANTINE 1.

« C »

Cengiz Sarikurku, Targan, S., Ozer, M. S., & Tepe, B. (2017). Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean region of Turkey. *International Journal of Food Properties*, 20(3), 560-572. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1168837>

Chaib, faiza. (2018). *Etude de quelque plantes saharienne de tamanrasat (el hoggar) extraction identification et activié biologique des huiles essentielle*. université d'oran 1.

Cheng, S.-S., Liu, J.-Y., Chang, E.-H., & Chang, S.-T. (2008). Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*, 99(11), 5145-5149. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.013>

Choteau-Mary, F. (2011). *Développement de nouveaux agents anti-radicalaires de type nitroxyde et nitrone utilisables comme sondes et agents thérapeutiques* [PhD Thesis]. Université d'Avignon.

Chou, S.-T., Chao, W.-W., & Chung, Y.-C. (2003). Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanolic Red Bean Extract (*Phaseolus radiatus* L. var. *Aurea*). *Journal of Food Science*, 68(1), 21-25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14108.x>

Contreras-Guzmán, E. S., & Strong III, F. C. (1982). Determination of tocopherols (Vitamin E) by reduction of cupric ion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 65(5), 1215-1221.

« D »

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Debenedetti, S. (2009). *TLC and PC. Dans Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals* (p. 103-134).

DELATTRE, J., BEAUDEUX, J.-L., & BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2007). *Radicaux libres et stress oxydant aspects biologiques et pathologiques* (lavoisier). librairie professionnelle inetrnationale. <https://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-la-vie/radicaux-libres-et-stress-oxydant/delattre/descriptif-9782743009731>

D.-J. Gambini. (2013). Effets indésirables des rayons X. *EM-Consulte*. <https://www.em-consulte.com/article/845001/effets-indesirables-des-rayonsx>

Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>

« E »

El-Hela, A. A., Abdel-Hady, N. M., Dawoud, G. T. M., Hamed, A. M., & Morsy, T. A. (2013). Phenolic content, antioxidant potential and *Aedes aegyptii* ecological friend larvicidal activity of some selected Egyptian plants. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 43(1), 215-234. <https://doi.org/10.12816/0006379>

Ellman, G. L., K. Diane Courtney, Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

El-Zahabi, H. S. A., Abdulwahab, H. G., Edrees, M. M., & Hegab, A. M. (2019). Utility of anthranilic acid and diethylacetylenedicarboxylate for the synthesis of nitrogenous organo/organometallic compounds as urease inhibitors. *Archiv Der Pharmazie*, 352(7), 1800314. <https://doi.org/10.1002/ardp.201800314>

Erodiim montanum. (1856). base de donne. <https://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=fr&id=143671>

Essl, F., Biró, K., Brandes, D., Broennimann, O., Bullock, J. M., Chapman, D. S., Chauvel, B., Dullinger, S., Fumanal, B., & Guisan, A. (2015). Biological flora of the British Isles : *Ambrosia artemisiifolia*. *Journal of Ecology*, *103*(4), 1069-1098.

« F »

Fiz, O., Vargas, P., Alarcón, M., Aedo, C., García, J. L., & Aldasoro, J. J. (2008). Phylogeny and Historical Biogeography of Geraniaceae in Relation to Climate Changes and Pollination Ecology. *Systematic Botany*, *33*(2), 326-342. <https://doi.org/10.1600/036364408784571482>

Fiz-Palacios, O., Vargas, P., Vila, R., Papadopulos, A. S. T., & Aldasoro, J. J. (2010). The uneven phylogeny and biogeography of *Erodium* (Geraniaceae): Radiations in the Mediterranean and recent recurrent intercontinental colonization. *Annals of Botany*, *106*(6), 871-884. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq184>

Fumanal, B. (2007). *Caractérisation des traits biologiques et des processus évolutifs d'une espèce envahissante en France : Ambrosia artemisiifolia L.* 307.

« G »

Gerber, E., Schaffner, U., Gassmann, A., Hinz, H. L., Seier, M., & Müller-Schärer, H. (2011). Prospects for biological control of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe : Learning from the past: Biological control of *Ambrosia* in Europe. *Weed Research*, *51*(6), 559-573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00879.x>

Giroud, M. (2007). *L'Ambroisie, Ambrosia artemisiifolia L. ou eliator L. Dangers d'une plante envahissante en Suisse*. 21.

Govindarajan, R., Vijayakumar, M., & Pushpangadan, P. (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana'herbs of Ayurveda. *Journal of ethnopharmacology*, 99(2), 165-178.

GREEN, R. J. (2004). *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*. North Carolina State University.

Guittonneau, G. G. (s. d.). *Le genre Erodium L'Hér. (Geraniaceae)*. 46.

Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents : An overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.

Gulczynski, C. (2010). *Mise en place de protocoles d'analyses enzymatiques et moléculaires de litières de volailles*. 45.

« H »

Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887-1892.
<https://doi.org/10.1021/jf970975b>

Hagstrum, D. (2017). *Atlas of Stored-Product Insects and Mites*. Elsevier.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). *Le stress oxydant*.

Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual review of nutrition*, 16(1), 33-50.

Hamza, G., Emna, B.-H., Yeddes, W., Dhouafli, Z., Moufida, T. S., & El Akrem, H. (2018). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities data of three plants from Tunisia region : *Erodium glaucophyllum*, *Erodium hirtum* and *Erodium guttatum*. *Data in Brief*, 19, 2352-2355. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.005>

Himed, L., Merniz, S., Merniz, S., Benbraham, M., Boudjouada, E., & Barkat, M. (2020). Preservation du concentré de tomate par un agent antifongique (Huile essentielle du citron). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 20(02), 15607-15618. <https://doi.org/10.18697/ajfand.90.18870>

« J »

Julius, J., Hartmut H, H., Erik F, smets, & Maximilian, weigend. (2017). relationship between nectaries and floral architecture : A case study in Geraniaceae and Hypseocharitaceae |. *annals of botany*, 120, 791-803.

« K »

K. Rebbas. (2020). *Erodim montanum* (N° KR0044).

Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41-60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>

Konieczynski, P., Arceusz, A., & Wesolowski, M. (2016). Essential Elements and Their Relations to Phenolic Compounds in Infusions of Medicinal Plants Acquired from Different European Regions. *Biological Trace Element Research*, 170(2), 466-475. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0481-6>

Kouadio, N., Guessenn, N., Kone, M., Moussa, B., Koffi, Y., Guede, K., Yao, K., Bakayoko, A., Trabi, H., & Dosso, M. (2015). Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1252. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.10>

« L »

L J Machlin & A Bendich. (1987). Free radical tissue damage : Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal*, 1(6), 441-445. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.6.3315807>

Lambelet, B., Clot, B., & Keimer, C. (2005). Ragweed (Ambrosia) progression and its health risks : Will Switzerland resist this invasion? *Swiss Medical Weekly*, 135(3738).

Lewan, L., Andersson, M., & Morales-Gomez, P. (1992). The Use of *Artemia Salina* in Toxicity Testing. *Alternatives to Laboratory Animals*, 20(2), 297-301. <https://doi.org/10.1177/026119299202000222>

Ljoljić Bilić, V., Gašić, U., Milojković-Opsenica, D., Nemet, I., Rončević, S., Kosalec, I., & Vuković, J. (2020). First Extensive Polyphenolic Profile of *Erodium cicutarium* with Novel Insights to Elemental Composition and Antioxidant Activity. *Chemistry & Biodiversity*, 17, e2000280. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000280>

« M »

Maksimović, Z. (2008). In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., Asteraceae) herb. *Industrial Crops and Products*, 28(3), 356-360. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.04.001>

McCall, M. R., & Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*, 26(7-8), 1034-1053.

MECHERNENE, B. (2014). *Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de Bryonia dioica*. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen.

Mena, S., Ortega, A., & Estrela, J. M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 36-44.

MERCK, F. (2017). *La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels : Étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique*. L'UNIVERSITÉ CÔTE D'AZUR.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31-34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Mihajlovic, L., Radosavljevic, J., Burazer, L., Smiljanic, K., & Cirkovic Velickovic, T. (2015). Composition of polyphenol and polyamide compounds in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen and sub-pollen particles. *Phytochemistry*, 109, 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.022>

Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., & Rahman, M. A. (2017). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In *Membrane Characterization* (p. 3-29). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>

Moran, J. F., Klucas, R. V., Grayer, R. J., Abian, J., & Becana, M. (1997). Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 861-870.

Muhammad Taha, Ullah, H., Al Muqarrabun, L. M. R., Khan, M. N., Rahim, F., Ahmat, N., Javid, M. T., Ali, M., & Khan, K. M. (2018). Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(1), 152-160. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.11.028>

Munekata, P. E. S., Alcántara, C., Collado, M. C., Garcia-Perez, J. V., Saraiva, J. A., Lopes, R. P., Barba, F. J., do Prado Silva, L., Sant'Ana, A. S., Fierro, E. M., & Lorenzo, J. M. (2019). Ethnopharmacology, phytochemistry and biological activity of Erodium species : A review. *Food Research International*, *126*, 108659. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108659>

MUNTEANU, C., & DUMITRAȘCU, M. (2011). *Artemia salina*.

Mustafa Özyürek, Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical Chemistry*, *84*(18), 8052-8059. <https://doi.org/10.1021/ac301925b>

« N »

Nakahara, T., Fukano, Y., Hirota, S. K., & Yahara, T. (2018). Size advantage for male function and size-dependent sex allocation in *Ambrosia artemisiifolia*, a wind-pollinated plant. *Ecology and Evolution*, *8*(2), 1159-1170. <https://doi.org/10.1002/ece3.3722>

Nassiri-Asl, M., & Hosseinzadeh, H. (2009). Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research: PTR*, *23*(9), 1197-1204. <https://doi.org/10.1002/ptr.2761>

« O »

Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M. I., & Khalid, A. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, *91*(1), 57-60. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.11.016>

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652-664.

Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical Chemistry*, 84(18), 8052-8059. <https://doi.org/10.1021/ac301925b>

« P »

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.

« R »

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Robert Barouki. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22(3), 266-272. <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>

Rodríguez Perón, J. M., Menéndez López, J. R., & Trujillo López, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista cubana de medicina militar*, 30(1), 15-20.

Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The Plants of the Asteraceae Family as Agents in the Protection of Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3009. <https://doi.org/10.3390/ijms22063009>

Russo-Marie F. (1998). *L'Inflammation* (John Libbey Eurotext). https://www.librairiemedicale.com/fr/catalogue/doc/l-inflammation_285/lm_ouvrage.dhtml

« S »

Saeizad, F., & Makhan, D. (2013). *The first record of Tenebrio molitor Linnaeus, 1758 from Iran, Semnan, Damghan, Cheshmeh-Ali (Coleoptera : Tenebrionidae)*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.36673.35689>

Salem, J. H. (2009). *Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitraria retusa et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique* [Phdthesis, Institut National Polytechnique de Lorraine]. <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748769>

Shu, Y.-Z. (1998). Recent natural products based drug development : A pharmaceutical industry perspective. *Journal of natural products*, 61(8), 1053-1071.

Sindhu, R., Binod, P., & Pandey, A. (2015). Microbial Poly-3-Hydroxybutyrate and Related Copolymers. In *Industrial Biorefineries & White Biotechnology* (p. 575-605). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63453-5.00019-7>

Singleton, V. L., R Orthofer, & R.M Lamuela-Raventos. (1999). *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology*. 299, 152-178.

Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795-800. <https://doi.org/10.2116/analsci.18P014>

Stephens, E. R. (1958). Long-Path Infrared Spectroscopy For Air Pollution Research. *Applied Spectroscopy*, 12(3), 80-84.

Sundarram, A., & Murthy, T. P. K. (2014). α -Amylase Production and Applications : A Review. *Environmental Microbiology*, 10.

Sy, A. N., Diorfall, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1816-1823. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i4.23>

Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055>

« T »

Thayyil, A. H., Muthu, A. K., & Ibrahim, M. (2016). In vivo antioxidant and lipid peroxidation effect of various extracts from aerial parts of *Chomelia asiatica* (Linn) in rat fed with high fat diet. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(38), 810-816.

Thomas. (2015, avril 11). Fiche d'élevage du *Tenebrio molitor*, le ver de farine. *Arthropodus*. <https://arthropodus.com/2015/04/11/fiche-d-elevage-du-tenebrio-molitor-le-ver-de-farine/>

Thomas, D. (2016). *Les antioxydants de nos jours : Définition et applications*. 88.

« U »

Undavalli, V. K., Ling, C., & Khandelwal, B. (2021). Chapter 6—Impact of alternative fuels and properties on elastomer compatibility. In B. Khandelwal (Éd.), *Aviation Fuels* (p. 113-132). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818314-4.00001-7>

« V »

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

Van der Valk, T., & van der Meijden, A. (2014). Toxicity of scorpion venom in chick embryo and mealworm assay depending on the use of the soluble fraction versus the whole venom. *Toxicon*, 88, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.06.007>

« W »

Wulandari, L., Retnaningtyas, Y., Nuri, & Lukman, H. (2016). Analysis of Flavonoid in Medicinal Plant Extract Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2016/4696803>

« X »

Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., & Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>

« Z »

Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). *Stress oxydatif: Évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales*. 24, 8.

Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

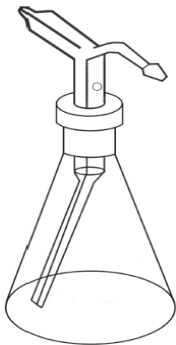

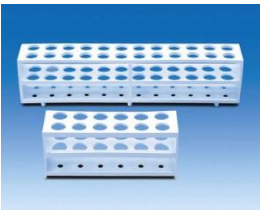

Annexes

Annexes

Annexe I : matériels et Appareillage utilisés

✓ Matériel de laboratoire

| | | | |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| Tube eppendorf | Micropipette | Microplaque | Flacons |
|  |  |  |  |
| Erlenmeyer | Boites de pétri | Microseringue | Pipette pasteur |
|  |  |  |  |
| Eprouvette | Papier film | Spatules | Papier aluminium |
|  |  |  |  |

| Béchers | Papier filtre | Cuve | Plaques CCM |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| Flacon TLC pour réactifs de pulvérisation | Boite de conservation | Portoirs | Entonnoir plastique |

✓ Appareillage

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| <p>Lecteur de microplaque</p> | <p>Balance analytique</p> | <p>Etuve</p> |
|  |  |  |
| <p>Rota-vapeur</p> | <p>ultrason</p> | <p>Ph mètre</p> |
|  |  |  |
| <p>Agitateur magnétique</p> | <p>La hotte</p> | <p>Chambre uv</p> |

Annexe II : Réactifs pour l'étude des activités anti-oxydantes

| Réactifs | Compositions |
|------------------------------------|--|
| 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl | DPPH |
| ABTS | ABTS H ₂ O K ₂ S ₂ O ₈ (2.45 mM) H ₂ O |
| Phénantroline (0.5%) | 1,10-Phenanthroline |
| Néocuproïne | Neocupronin |
| Nitrate d'argent Citrate de sodium | AgNO ₃ (1.0 mM) Citrate de sodium (1%) |

Annexe III : les réactifs et les substrats utilisés dans l'activité enzymatique

| Solutions | Compositions |
|-------------------------------|---|
| Enzyme α -amylase (1U) | Enzyme α -amylase Tampon phosphate (pH 6,9) |
| Amidon (0.1%) | Amidon H ₂ O |
| BChE | BChE Tampon phosphate (pH 8) |
| Enzyme uréase | Enzyme urease Tompon phosphat (pH 8,2) |
| Urée | Urée Tampon phosphate (pH 8,2) |

Annexe IV: les solutions chimiques

| Solutions chimiques | Compositions |
|--|--|
| Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois | FCR concentré (2M) |
| Carbonate de sodium anhydre (7,5%) | Na ₂ CO ₃ |
| trichlorure d'aluminium | AlCl ₃ Méthanol |
| Tampon phosphate pH 6,6 | NaH ₂ PO ₄ Na ₂ HPO ₄ |

| | |
|------------------------------------|---|
| Ferricyanide de potassium (1%) | $K_3Fe(CN)_6$ |
| Acide trichloracétique (10%) | TCA |
| Chlorure de fer III anhydre (0.1%) | $FeCl_3$ |
| Chlorure de fer III anhydre(0.2%) | $FeCl_3$ |
| Acétate d'ammonium | CH_3COONH_4 |
| Chlorure de cuivre II dihydraté | $CuCl_2$ |
| Tampon phosphate (pH 6.9) (0.2 M) | NaH_2PO_4 Na_2HPO_4 |
| Acide hydrochlorique (1M) | HCl |
| Iodure de potassium iode (IKI) | KI Iodine (5mM) |
| Tampon phosphate (pH 8) (100 mM) | NaH_2PO_4 Na_2HPO_4 |
| DTNB | DTNB Tampon phosphate (pH 8) $NaHCO_3$ Tampon phosphate (pH 8) |
| Tampon phosphate (pH 8.2) | NaH_2PO_4 Na_2HPO_4 |
| Réactif phénolique | C_6H_5OH $Na_2[Fe(CN)_5NO], 2H_2O$ |
| Réactif basique | NaOH NaOCl (liq) |

Annexe V : les standards

| Standards | Compositions |
|------------------|------------------------------|
| Acide gallique | Acide gallique Méthanol |
| Trolox | Trolox Méthanol |
| Acide Ascorbique | Acide Ascorbique Méthanol |
| Acarbose | Acarbose Méthanol |
| Galantamine | Galantamine Méthanol |
| Thiourea | Thiourea Méthanol |
| BHT | BHT Méthanol |
| BHA | BHA méthanol |

Résumés

Résumé

Le présent travail concerne l'étude de l'activité biologique de deux plantes : *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum*, appartenant respectivement aux familles des Asteraceae et Géraniacée.

L'activité biologique des extraits de deux espèces *Ambrosia artemisiifolia* et *Erodium montanum* a été réalisé par l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par l'utilisation de six méthodes : DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP et Bioautographie (CCM) et l'évaluation enzymatique par l'utilisation de trois méthodes : BChE, Uréase et l'alpha-amylase. Le résultat obtenu a montré une activité modéré pour le test antioxydant et une faible activité pour le test enzymatique. De plus les extraits ont été évalués contre la croissance des moisissures de la tomate et leur toxicité a été observé, les résultats obtenus ont montré une bonne inhibition de croissance des moisissures et une absence totale de la toxicité pour tous les échantillons étudiés. Une analyse spectroscopique a transformé de fourrier (FTIR) a été utilisé pour confirmer la bonne extraction.

Mot clé :

Ambrosia artemisiifolia, *Erodium montanum*, antioxydant, DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP, spectroscopique a transformé de fourrier, FTIR.

Abstract

This work concerns the study of the biological activity of two plants: *Ambrosia artemisiifolia* and *Erodium montanum*, belonging respectively to the families of Asteraceae and Geraniaceae.

The biological activity of the extracts of two species *Ambrosia artemisiifolia* and *Erodium montanum* was carried out by the in vitro evaluation of the antioxidant activity using six methods: DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP and Bioautography (CCM) and enzymatic evaluation using three methods: BChE, Urease and alpha-amylase. The results showed a moderate activity for the antioxidant test and a weak activity for the enzymatic test. In addition, the extracts were evaluated against the tomato mold growth and their toxicity was observed, the obtained results showed a good inhibition of mold growth and a total absence of toxicity for all samples. Fourier transformed spectroscopic analysis (FTIR) was used to confirm the correct extraction.

Keyword

Ambrosia artemisiifolia, *Erodium montanum*, antioxydant, DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP, fourier transform spectroscopy, FTIR.

ملخص

يتعلق هذا العمل بدراسة النشاط البيولوجي للنباتين: *Erodium montanum* و *Ambrosia artemisiifolia* ، اللتين ينتميان على التوالي إلى العائلتين Asteraceae و Geraniaceae.

تم تقييم النشاط البيولوجي لمستخلصات النوعين من *Erodium montanum* و *Ambrosia artemisiifolia* خلال التقييم المختبري لنشاط مضادات الأكسدة باستخدام ست طرق: DPPH و ABTS و CUPRAC و Urease و BChE و Phenanthroline و SNP و Bioautographie (CCM) والتقييم الأنزيمي باستخدام ثلاث طرق: Urease و BChE و α -amylase. أظهرت النتائج نشاطا معتدلا لاختبار مضادات الأكسدة ونشاط ضعيف للاختبار الأنزيمي. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم المستخلصات ضد نمو فطريات الطماطم ولوحظت سميتها، وأظهرت النتائج المتحصل عليها تثبيط جيد لنمو الفطريات وغياب تام للسمية لجميع العينات المدروسة. تم استخدام تحليل طيف تحت الحمراء (FTIR) للتأكد من جودة الاستخلاص.

الكلمات المفتاحية:

مضاد للأكسدة *Erodium montanum*، *Ambrosia artemisiifolia*، DPPH، ABTS، CUPRAC، FTIR، spectroscopie a transformé de fourrier، SNP، Phenanthroline

| | |
|---|---|
| Année universitaire : 2021-2022 | Présenté par : Khennaoui Hiba Hadjira et Ghiti Ferial |
| <i>Evaluation des activités antioxydantes, anticholinestérases, antidiabétiques et antimoisissures In vitro des extraits de deux plantes <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i></i> | |
| Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée | |
| Résumé | |
| <p>Le présent travail concerne l'étude de l'activité biologique de deux plantes : <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i>, appartenant respectivement aux familles des Asteraceae et Géraniacée.</p> | |
| <p>L'activité biologique des extraits de deux espèces <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Erodium montanum</i> a été réalisé par l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante par l'utilisation de six méthodes : DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP et Bioautographie (CCM) et l'évaluation enzymatique par l'utilisation de trois méthodes : BChE, Uréase et l'alpha-amylase. Le résultat obtenu a montré une activité modéré pour le test antioxydant et une faible activité pour le test enzymatique. De plus les extraits ont été évalués contre la croissance des moisissures de la tomate et leur toxicité a été observé, les résultats obtenus ont montré une bonne inhibition de croissance des moisissures et une absence totale de la toxicité pour tous les échantillons étudiés. Une analyse spectroscopique a transformé de fourrier (FTIR) a été utilisé pour confirmer la bonne extraction</p> | |
| <p>Mots-clefs : <i>Ambrosia artemisiifolia</i>, <i>Erodium montanum</i>, antioxydant, DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, SNP, spectroscopie a transformé de fourrier, FTIR.</p> | |
| <p>Laboratoires de recherche :</p> <p style="text-align: center;">Laboratoire de contrôle de qualité (CRBT Constantine).</p> | |
| Encadreur : | Dr BENSOUICI Chawki (MRA- CRBT Constantine). |
| Examineur 1 : | Dr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine). |
| Examineur 2 : | Dr. BOUANIBA Nour (MCA- UFM Constantine). |