



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 محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
قسم العلوم البيولوجية  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Thème

Etude de l'activité antioxydante de la plante

*Artemisia herba alba*

Présenté par: Medjili Samira  
Zaghdane Widad

Devant le jury :

Président :	M <sup>me</sup> Guergour Hassina	MAA	(Univ Bordj bou Arreridj)
Encadrant:	M <sup>me</sup> Boussahel soulef	MCB	(Univ Bordj bou Arreridj)
Examineur :	M <sup>me</sup> Meziti Asma	MCB	(Univ Bordj bou Arreridj)

Année universitaire : 2017/2018

# *Remerciements*

*Avant tout, nous remercions ''Allah'' le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Mme Boussahel. S qui nous dirigées ce travail, sa patience, pour ces précieux conseils et soutien tout au long de nos travail.*

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

*Nous adressons nos plus sincères remerciements au Mme Baali faiza pour, leur aide qu'elles n'hésitèrent jamais à nos proposer dans les moments difficiles. Nous la remercie pour sa bienveillance et ces conseils.*

*Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire ou nous avons fait notre travail pratique : monsieur Mihoub, Mme Wassima, Mme Afaf et Mme Sabrina Pour les orientations et les conseils.*

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

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ma famille Medjili, Aoune et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents ;*

*A ma très chère mère Zahira : Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorde Santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père Abd El karim : Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma sœur : Serin*

*A mon frère : Ilyes.*

*A mon binôme Widad qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail et à sa famille.*

*Sans oublier mes amis : Amina , Marwa, Youssra, Walid, Riad et à tous ceux qui m'ont connue.*

*Samira*

# *Dédicaces*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance.*

*Je dédie cette mémoire :*

*À ma chère Mère : Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leurs vies et leurs études.*

*À mon très cher père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi.*

*À mes chers frères : Walid et Youcef.  
À mes jolies soeurs : Mouna et Sarah*

*À tous les membres de ma famille, petits et grands.*

*À mes très chers amis : Marwa, Amina, Samira, Nour, et Walid.  
À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.*

***Widad***

## Résumé

*Artemisia herba alba* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracée*, cette espèce connue sous le nom de « Chih », est très répandue dans le sud algérien. Cette étude consiste à faire dans un premier temps un criblage phytochimique de quelques extraits des feuilles de cette plante et dans un second temps, nous avons évalué l'activité antioxydante de ces extraits.

L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence l'existence d'alcaloïdes, des tanins, des saponines, des flavonoïdes et des terpenoïdes dans les feuilles. La quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode  $AlCl_3$  a donné des valeurs plus élevées avec l'extrait méthanolique 70% et 100% où les valeurs sont de :  $82.16 \pm 0.55$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait et  $27.82 \pm 0.38$   $\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait respectivement.

Ce qui concerne le test DPPH, l'extrait méthanolique 70% a montré la plus grande activité inhibitrice avec une  $IC_{50}$  de :  $5 \pm 0,007$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ . En outre, la méthode FRAP montre que l'extrait 100% est le plus actif :  $0.16 \pm 0.01$   $\mu\text{g}$  EAA/ $\mu\text{g}$  d'extrait.

Les résultats obtenus ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de la plante étudiée présentent des bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

**Mots clés :** *Artemisia herba alba*, les extraits, les polyphénols, l'activité antioxydante, DPPH, FRAP

## Abstract

Artemisia herba alba is a medicinal plant belonging to the family Asteraceae, this species known under the name of "Chih", is widespread in the south Algerian. This study consists at first in making a phytochemical screening of some extracts of the leaves of this plant and in a second step, we evaluated the antioxidant activity of these extracts.

The phytochemical study revealed the existence of alkaloids, tannins, saponins, flavonoïdes and terpenoids in the leaves. Quantification of the total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the  $\text{AlCl}_3$  method gave higher values with the 70% and 100% methanol extract where the values are :  $82.16 \pm 0.55 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$  of extract and  $27.82 \pm 0.38) \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  of extract respectively.

Regarding the test of DPPH radical, the 70% methanolic extract showed the greatest  $\text{IC}_{50}$  inhibitory activity :  $5 \pm 0.007 \mu\text{g} / \text{ml}$ . In addition, the FRAP method shows that 100% extracts is the most active :  $0.16 \pm 0.01 \mu\text{g EAA} / \mu\text{g}$  extract.

The results obtained are allowed to affirm that all the extracts of the studied plant have good antioxidant properties that could allow us to recommend them in biotechnology.

**Key words:** Artemisia herba alba, extracts, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

## ملخص

Artemisia herba alba نبات طبيعي من عائلة Asteraceae، و هذا النوع معروف باسم "شايح"، ينتشر على نطاق واسع في الجنوب الجزائري. هذه الدراسة تتكون في البداية من فحص كيميونباتي لمستخلصات من أوراق هذا النبات و في خطوة ثانية قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات.

كشفت الدراسة الكيميائية عن وجود alcaloïdes، التانينات، السابونين، الفلافونويد و terponoides في الأوراق. قدر اجمالي البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بطريقة  $AlCl_3$  فكانت أعلى قيمة من قبل المستخلص الميثانولي % 70 و 100% حيث قدرت القيم بـ  $82.16 \pm 0.55 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extract}$  و  $27.82 \pm 0.38 \mu\text{g EQ} / \text{mg d'extract}$  على التوالي.

فيما يتعلق باختبار DPPH، أظهرت أن المستخلص الميثانولي % 70 أعلى نشاط قدر  $IC_{50} : 5 \pm 0.007 \mu\text{g} / \text{ml}$  بالإضافة إلى ذلك طريق FRAP أظهرت أن المستخلص الميثانولي % 100 هو الأكثر نشاطاً  $0.16 \pm 0.01 \mu\text{g EAA} / \mu\text{g d'extract}$  :

النتائج المحصل عليها أكدت أن جميع مستخلصات النبات المدروس لها خصائص مضادة للأكسدة يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بها في مجال التكنولوجيا الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** Artemisia herba alba، FRAP، DPPH، مستخلصات، بوليفينول، مضادة الأكسدة.

---

## Sommaire

### REMERCIEMENTS

### DEDICACES

### RESUME

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Introduction..... 1

## Partie 1 : La synthèse bibliographique

### I. Le système oxydant..... 3

#### I.1. Les radicaux libres..... 3

##### I.1.1. La nature des radicaux libres..... 3

###### I.1.1.1. Les espèces réactive de l'oxygène..... 3

###### a) Anion superoxyde..... 3

###### b) Le radical hydroxyle..... 3

###### c) Le radical peroxyde..... 3

###### d) Le radical alkoxyde..... 4

###### e) Le peroxyde d'hydrogène..... 4

###### f) L'oxygène singulet..... 4

###### I.1.1.2. Les espèces réactives azotés..... 4

###### Le monoxyde d'azote..... 4

#### I.2. Production des radicaux libres..... 5

##### I.2.1. Production intracellulaire..... 5

##### I.2.2. Production extracellulaire..... 6

#### I.3 Rôle biologiques des radicaux libres..... 6

---

I.4.Le stress oxydant.....	7
I.4.1.Les conséquences moléculaire du stress oxydatif.....	7
I.4.1.1.Les lipides.....	7
I.4.1.2.Les protéines.....	8
I.4.1.3.L'ADN.....	8
<b>III. Les antioxydants.....</b>	<b>9</b>
III.1.Les antioxydants enzymatiques.....	9
III.1.1.Le superoxyde dismutase.....	9
III.1.2.Glutathions peroxydases.....	10
III.1.3.Catalase.....	10
III.2.Les antioxydants non enzymatiques.....	10
III.2.1.Glutathion.....	10
III.2.2.Vitamine E.....	10
III.2.3.Vitamine C.....	10
III.2.4.Les caroténoïdes.....	11
<b>IV. Généralité sur les plantes médicinales.....</b>	<b>11</b>
IV.1.Les plantes médicinales.....	11
IV.2.Les métabolites secondaires.....	11
IV.2.1.Les polyphénols.....	12
IV.2.1.1.Biosynthèse des polyphénols.....	12
IV.2.1.2.Classification.....	12
a) Les acides phénoliques.....	12
b) Les coumarines.....	12
c) Les tanins.....	12

---

d) Les flavonoïde .....	12
IV.2.1.3.Les rôles biologiques.....	13
IV.2.2.Les terpènes.....	13
IV.2.3.Les alcaloïdes.....	13
IV.3.L'espèce <i>Artemisia herba alba</i> .....	14
IV.3.1.Description botanique.....	14
IV.3.2.Classification.....	14
IV.3.3.Dénominations.....	15
IV.3.4.Habitat.....	15
IV.3.5.Composition chimique.....	16
IV.3.6.L'effet thérapeutique de la plante .....	16

## **Partie 2 : Etude expérimentale**

<b>I. Matériels et méthodes.....</b>	<b>17</b>
I.1.Matériels.....	17
I.1.1.Matériel végétale.....	17
I.1.2.Matériel de laboratoire.....	17
I.1.3.Produits chimiques.....	17
I.2.Méthodes.....	17
I.2.1.Préparation des extraits.....	17
I.2.1.1.Calcul de rendement.....	19
I.2.2.Tests phytochimiques.....	20
I.2.3.Analyse quantitative des extraits.....	20
I.2.3.1.Dosage des polyphénols.....	21

I.2.3.2.Dosage des flavonoïdes.....	21
I.2.4.Méthodes de dosage des activités antioxydants in vitro.....	22
I.2.4.1.Le test de piégeage du radical DPPH.....	22
I.2.4.2.Le test de pouvoir réducteur FRAP.....	24
I.2.5.Analyse statistique.....	25
<b>II. Résultats et discussion.....</b>	<b>26</b>
II.1.Détermination de rendement d'extraction.....	26
II.2.Tests phytochimique.....	27
II.3.Analyse quantitative des extraits.....	27
II.3.1.Dosage des polyphénols totaux.....	27
II.3.2.Dosage des flavonoïdes.....	30
II.4.Détermination de l'activité antioxydant in vitro.....	31
II.4.1.Le teste de piégeage du radical DPPH.....	31
II.4.2.Le pouvoir de réducteur.....	35
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## La liste des abréviations

- A<sub>c</sub>** : Absorbance de control.
- AcEt** : Acétate d'éthyle.
- AlCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O** : Chlorure d'aluminium hydraté.
- A<sub>t</sub>** : Absorbance du test – absorbance du blanc du test.
- BHA** : Butylhydroxyanisol.
- BHT**:Butylhydroxytoluène.
- Chl** : Chloroforme.
- C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>H<sub>2</sub>O** : Acide gallique monohydrate.
- DPPH**: Diphenylpicryl-hydrazy.
- DO**: Densité optique.
- EAA** : Equivalent acide ascorpique.
- EAG**: Equivalent acide gallique.
- EQ** : Equivalent quercétine.
- ERO** : Espèce Réactive de l'Oxygène.
- ERN** : Espèce Réactive azotées.
- EtOH** : Ethanol.
- Extrait AQ** : Extrait aqueux.
- Extrait TRD** : Extrait traditionnel.
- Fe<sup>2+</sup>**: Fer ferreux.
- Fe<sup>3+</sup>**: Fer ferrique.
- FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure ferrique.
- FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.
- GPX** : Glutathions peroxydase.
- GSH** : Glutathion.
- GSSG** : Glutathion oxydé.
- HCL** : Acide chlorhydrique.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde d'hydrogène.
- H<sub>2</sub>O** : eau.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique.
- I** : Iode.
- IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.
- K<sub>3</sub>Fe(CN) 6** : Potassium ferricyannate.
- KI** : Iodure de potassium.

**LDL** : Lipoprotéine de basse densité.

**M<sub>E</sub>** :Masse de l'extrait.

**MeOH** : Méthanol.

**M<sub>v</sub>** : Masse de matière végétal.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Carbonate de sodium.

**NADP**: Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate.

**NADPH**: Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate.

**NO** : Le monoxyde d'azote.

**NO<sub>2</sub>**:Dioxyded'azote

**N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>**:Trioxyded'azote

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Ion nitrate stable.

**ONOO<sup>-</sup>** : Le peroxydinitrite.

**1O<sub>2</sub>** : L'oxygène singulet.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>**: L'anion superoxyde.

**OH**: Hydroxyde.

**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle.

**PBS** : Tampon de phosphate.

**RO<sub>2</sub><sup>•</sup>** : Le radical peroxyde.

**RO<sup>•</sup>** : Le radical secondaire alkoxydes.

**SD** : Ecart type

**SOD**: Superoxyde dismutase.

**TCA** : Acide trichlorure acétique.

**UV** : Ultra violet.

**I%**: Pourcentage d'inhibition.

## Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygénés.	5
2	Site de production intracellulaire des ERO.	6
3	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.	7
4	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	8
5	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	9
6	Classification de quelques métabolites secondaires.	11
7	Structure de base des flavonoïdes.	13
8	<i>Artemisia herba alba</i> .	17
9	Protocole expérimental de préparation des extraits.	18
10	Protocole expérimental de préparation de l'extrait traditionnelle.	19
11	Réaction du DPPH à la présence des antioxydanrts.	22
12	Protocole d'inhibition du radical DPPH.	23
13	La réaction de test FRAP.	24
14	Protocole d'étude du pouvoir réducteur.	25
15	Rendements des extraits de la plante <i>Artemisia herba alba</i> .	26
16	La droite d'étallonage de l'acide gallique.	28
17	La teneur des polyphénols des différents extraits d' <i>Artemisia herba Herba</i> .	28
18	La droite d'étalonnage de la quercétine.	30
19	La teneur en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> .	30
20	Activité antiradicalaire des antioxydants des références BHA et BHT.	32

<b>21</b>	L'activité anti-radicalaire des différents extraits étudiés.	<b>32</b>
<b>22</b>	Le pouvoir réducteur du standard « acide ascorbique ».	<b>35</b>
<b>23</b>	Le pouvoir réducteur des extraits de la plante.	<b>36</b>
<b>24</b>	La courbe d'étalonnage de la vit c.	<b>37</b>
<b>25</b>	Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée par la méthode FRAP.	<b>37</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	La classification botanique de l' <i>Artemisia herba-alba</i>	<b>14</b>
<b>II</b>	Principaux noms vernaculaires d' <i>Artemisia herba alba</i>	<b>15</b>
<b>III</b>	Les résultats du test phytochimique des différents extraits de la plante « <i>Artemisia herba alba</i> ».	<b>27</b>
<b>IV</b>	Le pouvoir antioxydant exprimé par IC <sub>50</sub> des antioxydants de références et des extraits testés.	<b>33</b>

# *Introduction*

## **Introduction**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant » (Moon et Shibamoto., 2009). Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète mellitus et vieillissement. Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules.

Plusieurs antioxydants synthétiques peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine et l'environnement. De plus, la résistance aux antibiotiques par les microorganismes pathogènes (bactéries, virus, mycètes) est devenue un problème grave car ces contaminations microbiennes touchent toujours la santé publique. Par conséquent, l'intérêt pour les antioxydants (non toxiques) normaux et les antimicrobiens, particulièrement de l'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années (Ghedadba et *al.*, 2015).

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules à activités biologique et pharmacologique très variées (Ghedadba et *al.* , 2015). Beaucoup d'intérêts ont été générés par des scientifiques et des épidémiologistes pour de larges gammes de composés phytochimiques avec des rapports démontrant leurs effets protecteurs contre un liste croissante des maladies (Bellik et Selles, 2016).

En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques. La maîtrise totale et parfaite des différentes propriétés de ces plantes, qui passe par la détermination de l'ensemble des groupes physicochimiques capables d'engendrer un ou plusieurs effets pharmacologiques, est aujourd'hui un objectif qui occupe un ordre de première place (Bentabet et *al.*, 2014). Parmi

les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia herba alba* (Boudjouref, 2011).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits organique d'*Artemisia herba alba*.

Notre travail sera présenté comme suit:

- ✓ Une partie relative à l'étude bibliographique résumant les généralités sur la plante, les composés phénoliques, et radicaux libres ainsi bien que les antioxydants.
- ✓ Une partie abordant l'étude expérimentale qui est portée sur deux aspects:
  - Extraction et dosage des composés phénoliques des feuilles d'*Artemisia herba alba*.
  - Étude de l'activité antioxydante des extraits au moyen de deux tests qui sont DPPH et FRAP.

*La synthèse  
bibliographique*

## I. Le système oxydant

### I.1. Les radicaux libres

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques: les radicaux libres organiques (Deschemaecker, 2004).

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, ou atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataires. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable (Goudable et Favier, 1997) ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007).

#### I.1.1. La nature des radicaux libres

##### I.1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène(ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène(ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko *et al.*, 2007); leur production est permanente et physiologique(Koechlin ,2006).

##### a) L'anion superoxyde

Le radical superoxyde est produit à partir de l'oxygène moléculaire par la capture d'un électron, principalement par les cellules phagocytaires (Goudable et Favier, 1997)



Il est considéré comme le type le moins réactif des ERO; le plus fréquemment produit dans l'organisme (Scheibmeir *et al.*, 2005) et relativement stable( Favier,2003).

##### b) Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle est l'oxydant le plus réactif et le plus puissant (Marusawa *et al.*, 2002).Parmi les voies conduisant à la formation de ce radical on peut citer la réaction de fenton  $\text{RO}^\bullet$ (Favier, 2003); réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004)et à partir de l'eau par les radiations ionisantes (Favier, 2003).

##### c) Le radical peroxyde ( $\text{RO}_2^\bullet$ )

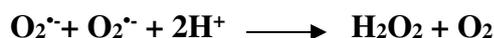
$\text{RO}_2^\bullet$  est un radical secondaire issu de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le radical R $^\bullet$ . Sa réactivité se situe entre l'anion radical superoxyde et le radical hydroxyle (Rezair, 2012)

**d) Le radical secondaire alkoxy (RO<sup>•</sup>)**

RO<sup>•</sup> est produit suite à la décomposition de l'hydroperoxyde RO<sub>2</sub>H, issu de l'oxydation de substrat RH, par des cations métalliques (Rezair, 2012).

**e) Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs ; il peut être formé secondairement à la dismutation de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> par le superoxyde dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases. (Wardman et Candeias, 1996).



**f) L'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>)**

C'est une forme très énergétique de grande réactivité (Goudable et Favier, 1997). Son état «excité» lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonnefont *et al.*, 2003). Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante : (Goudable et Favier, 1997).



**I.1.1.2. Les espèces réactives azotées (ERN)**

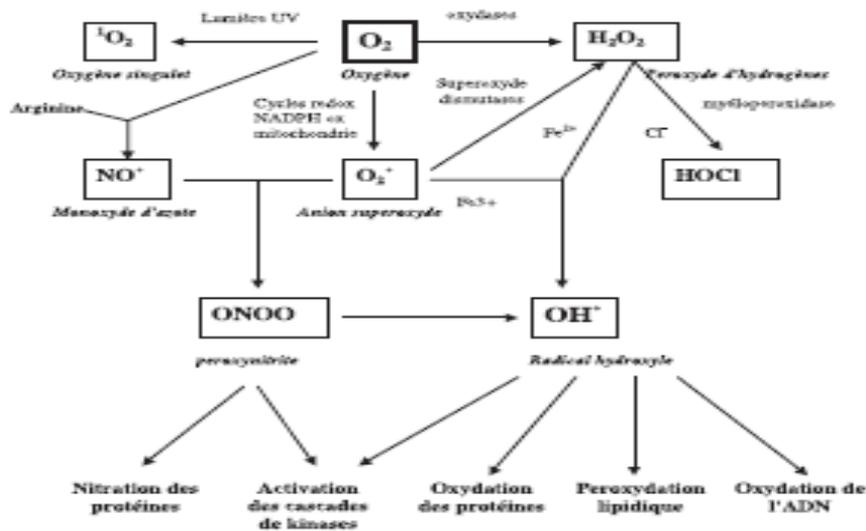
**Le monoxyde d'azote (NO)**

Le monoxyde d'azote (oxyde nitrique) est un radical libre ubiquitaire synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l'arginine et l'O<sub>2</sub> grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthase (Bonnefont *et al.*, 2003).

**Nitrique oxyde synthase**



Le monoxyde d'azote radicalaire peut aisément réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et ONOO<sup>-</sup>.



**Figure 01:** Origine des différents radicaux libres oxygénés et des espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

## I.2. La production des radicaux libres

### I.2.1. La production intracellulaire:

La production des ERO dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles mais elles sont essentiellement d'origine enzymatique.

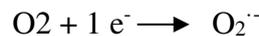
- ✓ la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire



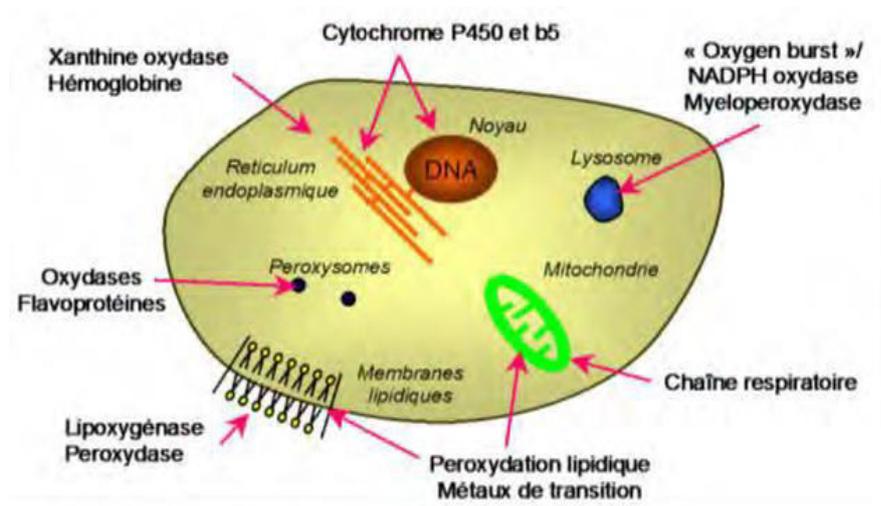
- ✓ Les cytochromes P450, accepteurs terminaux d'électrons du complexe (IV) de la chaîne de transport des électrons, catalysent la réaction :



Cette chaîne de transport laisse fuir une certaine proportion d'électrons, environ 2 %, qui vont réduire partiellement l'oxygène pour aboutir à la formation du radical superoxyde (Rezair, 2012):



D'autres sources peuvent également jouer un rôle dans la production de radicaux tel que: l'oxydation de coenzymes, comme les flavoprotéine; le peroxyde d'hydrogène et les lipo-oxygénases, enzymes de la voie de l'acide arachidonique; Les NO synthases, à l'origine du radical NO•, peuvent, sous certaines conditions, produire également des anions superoxydes les cellules phagocytaires activées par une réaction inflammatoire vont produire un grand nombre d'ERO (Delattre *et al.*, 2005); et la xanthine oxydase (Koechlin, 2006).



**Figure 02:** site de production intracellulaire des ERO (Melle,2015).

### I.2.2. La production extracellulaire

Les facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes..).

Les rayonnements UV induisent la synthèse de  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$ ,  $^1O_2$  et  $d'H_2O_2$  (Sumaya, 2004); L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ) présents dans notre mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels..), ainsi qu'une alimentation chimique (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (Mena *et al.*, 2009).

### I.3. Rôle biologiques des radicaux libres

Les ERO et ERN sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants (Valko *et al.*, 2004).

- ✓ Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux; La phagocytose (Favier ,2003) et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire (Delattre *et al.*,2005).Les radicaux libres peuvent intervenir dans la prolifération, la différenciation, l'adhésion et la migration (Jacques, 2010).
- ✓ Nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense, avec comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour

la cellule en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer, artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives): c'est le stress oxydatif (Evans et Halliwell, 1999).

## I.4. Le stress oxydant

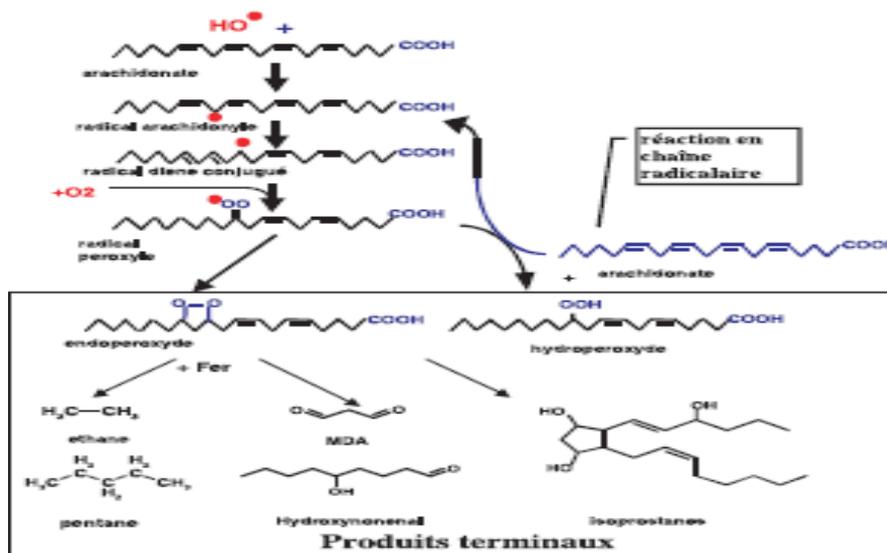
Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin ,2006).

### I.4.1. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

Lors d'un stress oxydant, les ERO non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (Koechlin-Ramonatxo ,2006).

#### I.4.1.1. Les lipides

Au niveau cellulaire, les lipides membranaires et tout particulièrement les acides gras polyinsaturés, estérifiés ou non, à cause de leur double liaison, sont une cible privilégiée des EROs. Ceux-ci provoquent l'oxydation des acides gras polyinsaturés, à l'origine de la formation de très nombreux produits primaires (hydroperoxydes) ou secondaires (aldéhydes) dont les activités biologiques sont multiples. Ce phénomène est la peroxydation lipidique (Ronald St-Louis, 2011).



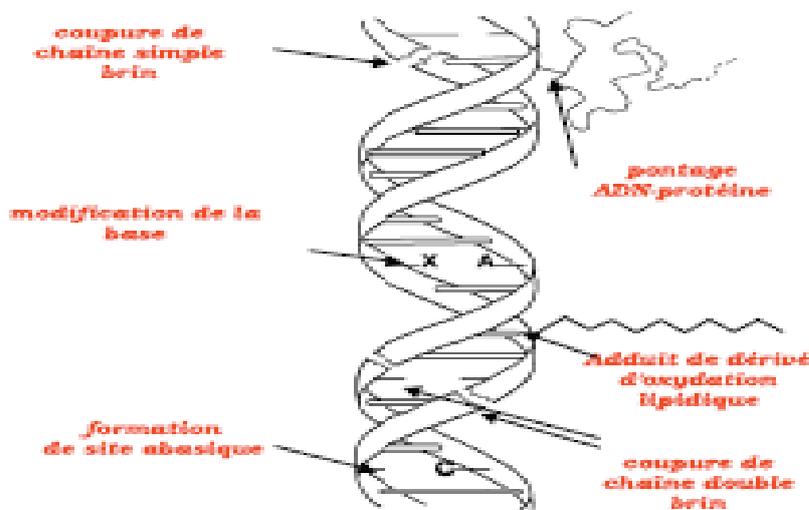
**Figure 03:** Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

#### I.4.1.2. Les protéines

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines (Koechlin-Ramonatxo ,2006). Dans les conditions physiologiques, les cibles majeures des EROs sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) (Brot et Weissbach, 2000), les acides aminés basiques (arginine, lysine)(Ronald St-Louis, 2011) et les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) (Armstrong et Swallow., 1969 ). L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

#### I.4.1.3. L'ADN

L'ADN est très vulnérable à l'attaque par les radicaux libres et subit donc différents dommages oxydatifs. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, ce qui provoque la création d'un site abasique, ou attaquer directement le sucre créant ainsi une coupure de la chaîne simple brin (Favier ,2003).



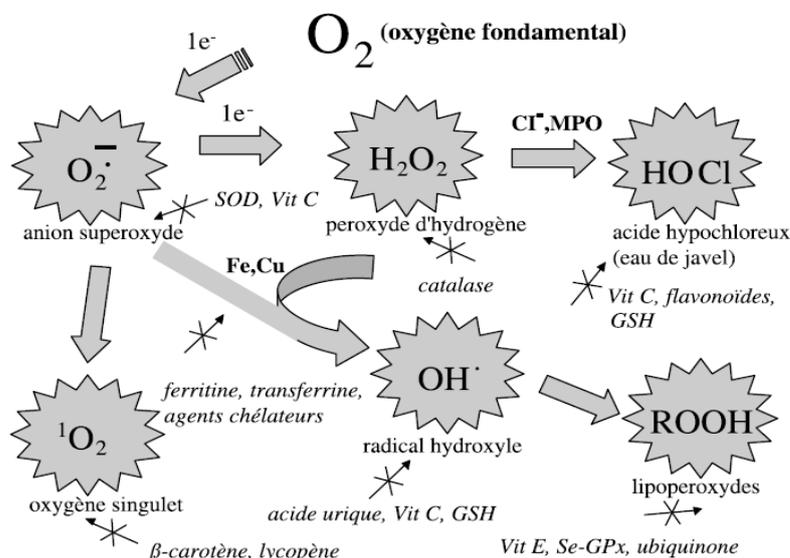
**Figure 04 :** Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier ,2003).

### III. Les antioxydants

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. (Halliwell, 1990).

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Tanguy et *al.*, 2009). Ils

peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre *et al.*, 2005). L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (Goudable et Favier, 1997).



**Figure 05** : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Haleng *et al.* , 2007).

### III.1. Les antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Sharma *et al.*, 2012)

#### III.1.1. Les superoxydes dismutases

Les superoxydes dismutases ou SOD représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivant: (Haleng *et al.*, 2007).



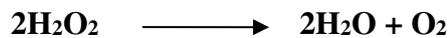
Chez l'homme, trois isoformes de l'enzyme SOD qui diffèrent par leur structure et leur localisation cellulaire ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire (Afonso *et al.*, 2007).

### III.1.2. Glutathions peroxydase (GPX)

Les glutathions peroxydases sont des enzymes tétramérique à sélénium qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion /glutathion disulfide (GSH/GSSG) (Matés *et al.*, 1999 ).

### III.1.3. Catalase

La catalase est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les condition physiologiques (Niki *et al.*, 2007). Elle est localisée principalement dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (Lindau-Sehpar & Shaffer, 1993). La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. (Cantin, 1999).



## III.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion et d'autre exogène eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

### II.2.1. Glutathion

Le GSH est un tripeptide (Lγglutamy-l-cystéinyl-glycine) impliqué dans de nombreux processus au niveau intracellulaire. Son rôle dans la détoxification de xénobiotique (Beaudeau & Geneviève, 2011) et dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation a été bien établi (Stamler et Slivka, 1996).

Le glutathion agit également comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Ravi *et al.*, 2004).

### II.2.2. Vitamine E

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, cette famille comprend 4 substances (α, β, γ, δ), α-tocophérols est la forme la plus active (Cuvelier *et al.*, 2003) son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ROO• pour former un radical tocophéryle (Dellatre, 2005). IL permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL (Goudable et Favier, 1997; Gardés – Albert *et al.*, 2003).

### II.2.3. Vitamine C

La vitamine C (l'acide L-ascorbique), c'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, le radical hydroxyle HO•, l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000).

## II.2.4. Les caroténoïdes

Sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux  $ROO^{\bullet}$ ,  $HO^{\bullet}$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $R^{\bullet}$  (Valko *et al.*, 2006).

## IV. Généralité sur les plantes médicinales

### IV.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutique (Nostro *et al.*, 2000) mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique (Bouras et Houchi, 2013)

### IV.2. Les métabolites secondaires

Le métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimique de la croissance et de la reproduction des plantes (Amlan et jyotisna, 2010). Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement (Greathead, 2003).

Ils sont divisés principalement en trois grandes famille : les polyphénols ; les terpènes ; les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002).

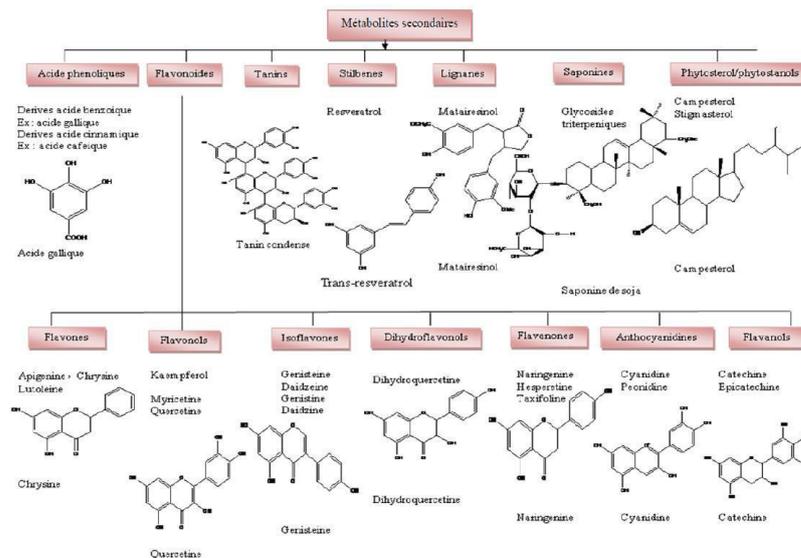


Figure 06: Classification des quelques métabolites secondaires (Muanda, 2010).

#### **IV.2.1. Les polyphénols**

Ils Constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal (Marin et Andriantsitohaina, 2002) L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction :éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2009)Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles....) (Zoughlache, 2008).

##### **IV.2.1.1.Biosynthèse des polyphénols**

Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés ; et celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly  $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques. De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique. (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

##### **II.2.1.2. Classification**

###### **a) Les acides phénoliques (C6 – C1)**

Les acides phénoliques sont constitués de deux sous-groupes : Les acides Hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Balasundramet *al.*, 2006).

###### **b) Les coumarines (C6-C3)**

Ils dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (Harrar, 2012).

###### **c) Les tannins**

Selon la structure; on a deux types de tannins hydrolysable et les tannins condensés dits aussi : proanthocyanidines (Harborne, 1997).

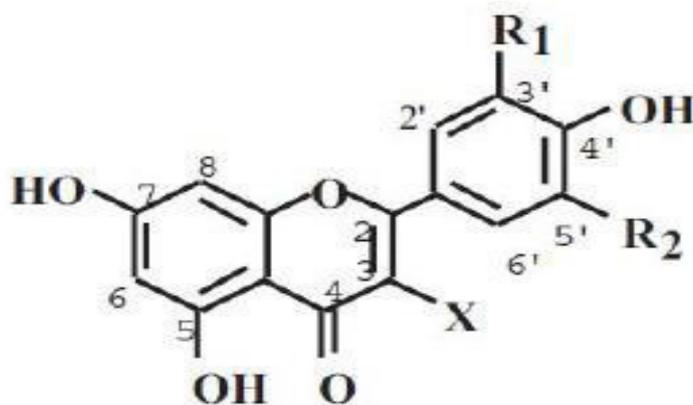
###### **d) Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (Guignard, 1996).

Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) Constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B reliés par un hétérocycle oxygéné qui désigne la lettre C (Dacosta 2003).

Des variations dans des modèles de substitution dans le cycle C a pour résultat les principales classes de flavonoïdes (les flavones, les flavonols, les flavanes, les flavanones, et les anthocyanidines) (Balasundram *et al.*, 2006).

Ils possèdent de nombreuses activités biologiques; ces activités sont attribuées en parties aux propriétés antioxydant de ces composés naturels (Fuhrman *et al.*, 1995).



**Figure 07:** La Structure de base de flavonoïdes (Lugasi *et al.*, 2003).

#### IV 2.1.3. Rôles physiologiques des polyphénols

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, il sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antiradicalaires, antimicrobiens (Zoughlache, 2008) et antioxydante: neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Schroeter *et al.*, 2002).

#### IV.2.2. Les terpènes

Ce sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbones. La famille des terpènes comprend des hormones, des pigments caroténoïdes, des stérols, le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel), ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum couleur et gout (Hopkins, 2003).

#### IV.2.3. Les alcaloïdes

Ce sont des composés azotés au gout amer qui ont des propriétés chimiques basiques (alcalines) parmi les alcaloïdes on a morphine, coca et caféine (Revenet *et al.*, 2000).

### IV.3. L'espèce *Artemisia herba-alba*

La famille des Astéraceae englobe un grand nombre de plantes différentes parmi lesquelles ; l'armoise ou le genre *Artemisia* qui comprend plus de 400 espèces, réparties dans le monde (Bencheqroun *et al.*, 2012).

Connue depuis des millénaires, l'*Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV<sup>e</sup> siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (Francis, 2001).

L'espèce *Artemisia herba alba* (armoise blanche) est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Astéracées (Quézel et Santa, 1962). Elle se caractérise par un polymorphisme morphologique très important en relation avec les conditions écologiques locales (Chaieb, 2000). Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989).

#### II.3.1. Description botanique d'*Artemisia herba alba*

C'est une plante odorante vivace dressée, suffrutescente à tiges nombreuses, tomenteuses, rigides et droites de 30 à 50 cm.

- ✓ Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées à pinnatipartites ; les bractées externes sont opaques et pubescentes, alors que les bractées intérieurs sont oblongues, brillantes et glanduleuses ;
- ✓ Les capitules sont pauciflores en général, homogènes à fleurs hermaphrodites Ils sont sessiles ou subsessiles (Quezel et Santa, 1963 ; Wright, 2002).

La croissance végétative d'*Artemisia Herba Alba* a lieu à l'automne ; la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été (Gharabi *et al.*, 2008).

#### II.3.2. Classification botanique

La classification botanique de l'*Artemisia herba-alba* a été faite par Friedman *et al.*, 1986 (Tableau I).

**Tableau I:** La classification botanique de l'*Artemisia herba-alba*.

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliphyta

<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	Artemisia
<b>Espèce</b>	<i>Artemisia herba alba</i>

#### IV.3.3. Dénominations

*Artemisia herba alba* possède différents dénominations (Tableau II)

**Tableau II:** Principaux noms vernaculaires d'*Artemisia herba alba*.

Langue	Nom	Références
Français	Armoise blanche	(Bendjilali et <i>al.</i> , 1984)
Anglais	White wormwood	(Marc et <i>al.</i> , 2004)
Arabe	Chih, Chiha, Chiba	(Quezel et Santa., 1963)
Tamazight	Ifsi	(El Rhaffari, 2008)

#### IV.3.4.Habitat

L'*Artemisia herba alba* est largement répandue depuis les îles Canaries et le Sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du Nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, l'*Artemisia herba alba* est absente des zones littorales nord. Cependant, l'espèce se raréfie dans l'extrême sud (Nabli, 1989).

#### **IV.3.5. Composition chimique d'*Artemisia herba alba***

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de *l'Artemisia herba alba* dont les plus importantes sont les sesquiterpènes lactones (Marco, 1989). Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituel (Saleh et *al.*, 1987 ; Saleh et *al.*, 2005). En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* est riche en monoterpènes, triterpènes pentacycliques, santonines, coumarines et tanins (Mohamed et *al.*, 2010).

#### **II.3.6. L'effet thérapeutique de la plante**

L'*Artemisia herba alba* est très utilisée en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (Ghrabi et Sand, 2008). Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique (Tastekin et *al.*, 2006) leshmanicide (Hatimi et *al.*, 2001), antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (Yin et *al.*, 2008).

*L'étude  
expérimentale*

*Matériels et  
méthodes*

## I. Matériels et méthodes

### I.1. Matériels

#### I.1.1. Matériel végétales

La plante *Artemisia herba alba* est récoltée au début du mois de Mars 2018 à Ras el oued (wilaya de Bordj Bou-Arreridj) et l'identification de l'espèce a été faite dans l'université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi (BBA).

L'échantillon est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre pendant une semaine. Devenue sèche, Les feuilles de la plante sont broyées puis stockées dans des bocaux fermés et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.



Figure 08 : *Artemisia herba alba*.

#### I.1.2. Matériel de laboratoire

Spectrophotomètre, L'étuve, Rotavapeur (Büchi), Balance de précision, Agitateur, Vortex, bain marie.

#### I.1.3. Produits chimiques

Les produits chimiques qui ont été utilisés proviennent tous de Sigma Aldrich, Biochem et chemopharma : Le méthanol, Eau distillée, Carbonate de sodium, Carbonate de sodium, Solution de Folin, Acide gallique monohydrate , Trichlorure d'aluminium hydraté ,Quercétine, DPPH, BHT, BHA, Chlorure ferrique, Potassium ferricyannate, TCA ou acide trichloracétique, Tampon de phosphate, Magnésium, Acide chlorhydrique, Éthanol, Chloroforme, Acide sulfurique , Iode, Iodure de potassium.

## I.2. Méthodes

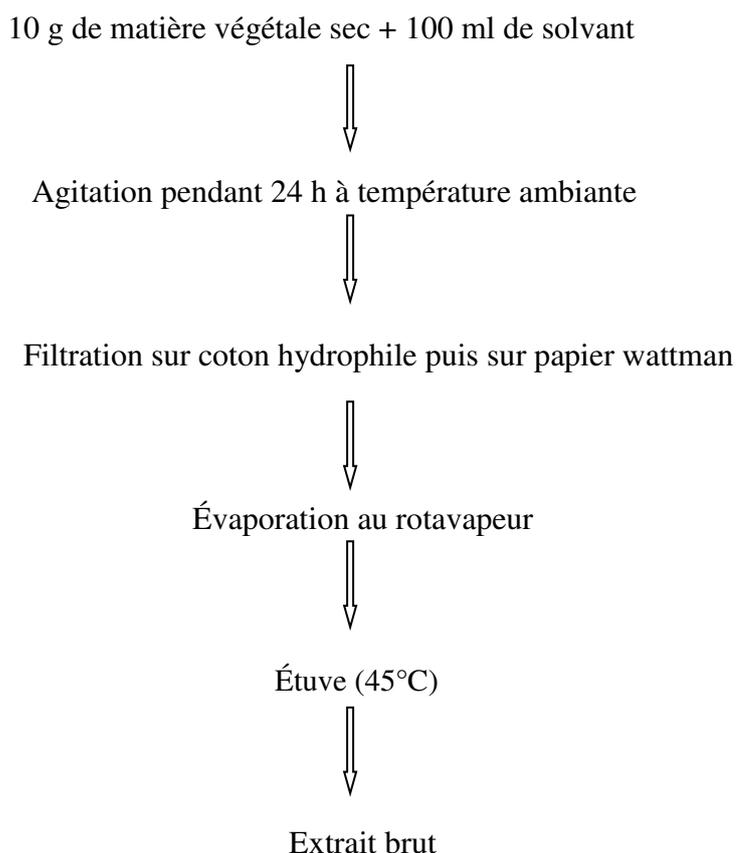
### I.2.1. Préparation des extraits

Les méthodes d'extraction des biomolécules utilisées au laboratoire sont la macération et la décoction (figure09 et 10).Ainsi, les solvants qui ont été utilisés pour notre étude sont le méthanol et l'eau. Des mélanges de ces deux solvants sont aussi utilisés, tels que les mélanges

méthanol/eau (70/30, v/v) et (30/70, v/v). La méthode d'extraction consiste à placer la poudre végétale (10 g) avec 100 ml de solvant, les extraits sont préparés par volume décrit comme suit:

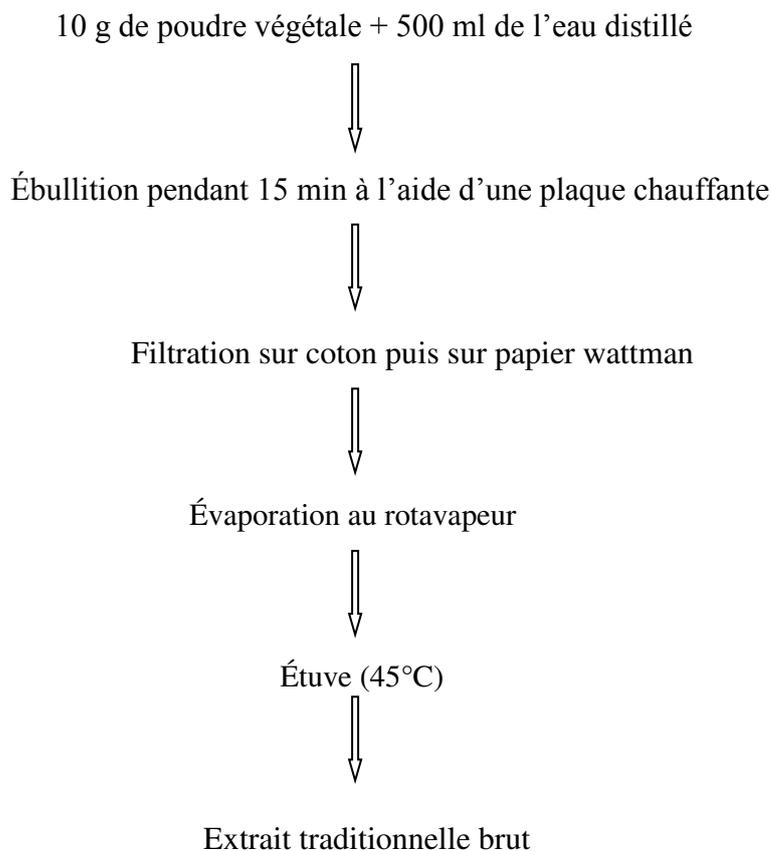
- ✓ **Extrait 100% méthanol:** le solvant est 100% méthanol.
- ✓ **Extrait 70% méthanol:** le solvant est un mélange hydro alcoolique (méthanol/eau ; 70/30 ; v/v).
- ✓ **Extrait 30% méthanol:** le solvant est aussi un hydro alcoolique mais avec les pourcentages: (méthanol/eau ; 30/70 ; v/v).
- ✓ **Extrait aqueux:** le solvant est l'eau.

Les mélanges sont soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24 h à température ambiante et à l'ombre. Ensuite les solutions ont été filtrée sur une coton puis sur une filtre Wattman et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur. L'extrait obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation.



**Figure 09:** Protocole expérimental de la préparation des extraits.

- ✓ **Extrait traductionnel** : Extraction traditionnelle (figure 10)



**Figure 10** : Protocole expérimental de la préparation de l'extrait traditionnelle.

#### I.2.1.1. Calcul de rendement

Le rendement de l'extrait est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = (M_E / M_V) \times 100$$

**R** : Rendement en pourcentage.

**M<sub>E</sub>** :Masse de l'extrait.

**M<sub>V</sub>** : Masse de matière végétale.

### I.2.2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Dans notre cas les tests réalisés sont les suivants:

- a) **Les flavonoïdes:** réaction dite à la cyanidine (réaction de SHIBAT) dans un tube à essai, 2 ml d'extrait à 10% est placé, on ajoute 5 ml d'alcool chlorhydrique (4ml EtOH + 1 ml HCL concentré) et 2 ou 3 copeaux de magnésium. Une coloration rose orange ou violacée apparaissant lorsqu'il y a des flavonoïdes (N'Guessan K, 2009).
- b) **Les alcaloïdes:** 2 ml d'une solution d'extrait à 10%, additionnée d'une goutte de HCL concentré et 3 gouttes de réactif de BOUCHARDAT (Iode 2.5g, Iodure de potassium (KI) 5g, et 100 ml H<sub>2</sub>O). Une précipitation brun rougeâtre signifie qu'il y a des alcaloïdes (Majob F, 2003).
- c) **Les terpanoïdes:** test de Slakowski 5 ml de l'extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpanoïdes (Khan A.M, 2011).
- d) **Les tanins:** 1 ml de l'extrait est ajouté à 2ml H<sub>2</sub>O et 2 à 3 gouttes FeCl<sub>3</sub> dilué.  
La présence de coloration bleu-noire (tanins galliques), vert ou bleu (tanins catichiques) (Trease et Evans, 1987).
- e) **Les saponosides :** quelques gouttes d'eau à 2 ml de l'extrait sont ajoutées, après l'agitation 20 min, la teneur en saponosides est évaluée selon les critères suivant:  
L'absence des saponosides: pas de mousse  
La présence des saponosides: mousse 1ou 2 cm. (Trease et Evans, 1987).

### I.2.3. Analyses quantitatives des substances actif dans les extraits

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits d'*Artemesia herba alba*.

### I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

#### ❖ Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentie, 2006).

#### ❖ Mode opératoire

0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10% est ajouté à 0,2 ml de chaque extrait dans des tubes à essais ; après 5 min, 1,5ml de carbonate de sodium à 7.5% sont additionnés .Après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée dans un spectrophotomètre UV-visible à 765 nm.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. On effectue la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations (20-100 µg/ml).Le blanc est représenté par le solvant utilisé additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent de l'acide gallique/ mg d'extrait (µg EAG/mg extrait) (Belik, 2016).

### I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

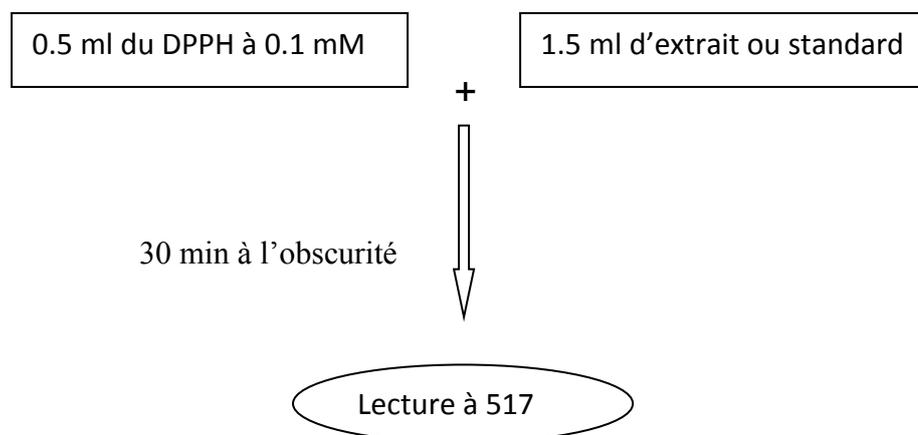
#### ❖ Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  de Bahourun et al, (2004) a été adoptés avec quelque modifications pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits d'*Artemisia herba alba*.

La méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des phénols flavonoïdes capables de donner un complexe en présence d'aluminium (chlorure d'aluminium) (Ribéreau-Gayon, 1968).



## ❖ Mode opératoire



**Figure 12:** Protocole d'inhibition du radical DPPH (Blois, 1958).

Les résultats obtenus pour chaque concentration d'extrait testé ont été comparé par rapport à ceux obtenus par le BHT et BHA qui sont pris comme antioxydant standards.

L'activité antioxydante, qui exprime les capacités de piéger le radicale libre est estimé par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol (Inhibition % ou I%) suivant la formule suivante :

$$I \% = \left( \frac{Ac - At}{Ac} \right) \times 100$$

**Ac:** Absorbance de control

**At:** Absorbance du test – absorbance du blanc du test

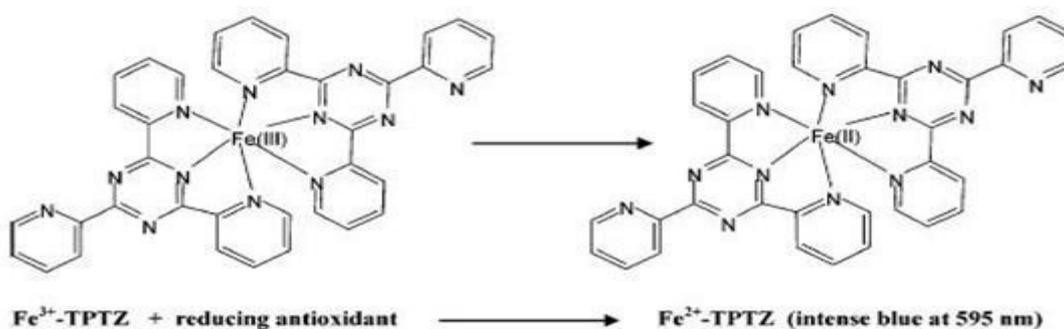
Les échantillons, les témoins (le BHA, le BHT) et le banc sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

**IC<sub>50</sub>** est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé et les standards (Torres et *al.*, 2006). Elle a été exprimée en µg/ml.

### I.2.4.2. Le test de pouvoir réducteur FRAP (ferric reducing antioxidant power)

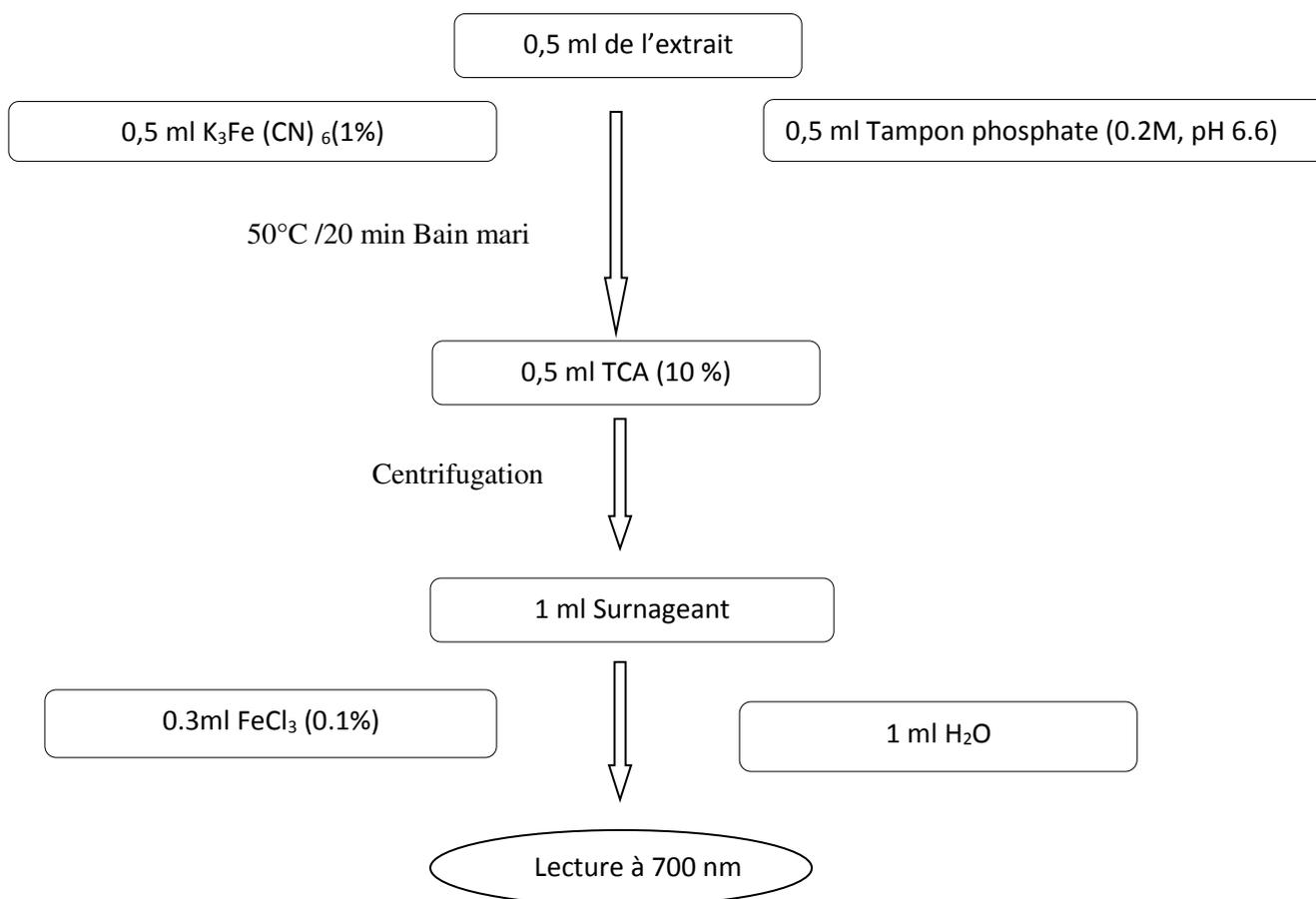
#### ❖ Principe

Ce test est décrit primitivement par Oyaizu 1986. L'analyse du pouvoir réducteur d'un antioxydant est basée sur la réduction du complexe fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ), en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), en présence des antioxydants réducteurs (Bijoyet *al.*, 2008) l'absorbance peut être mesurée à une longueur d'onde  $\lambda = 700 \text{ nm}$ . L'évolution de l'activité antioxydant de nos extraits est comparée par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent à l'acide ascorbique par  $\mu\text{g}$  d'extrait ( $\mu\text{g EAA} / \mu\text{g d'extrait}$ ).



**Figure 13 :** La réaction qui peut avoir lieu durant le test de FRAP et dans la présence des antioxydantes (Prior et *al.*, 2005).

❖ **Mode opératoire:**



**Figure 14:** Protocole d'étude du pouvoir réducteur (Amarowicz et *al.*, 2004)

**TCA:** Acide trichlorure acétique.

### I.2.5. Analyse statistique

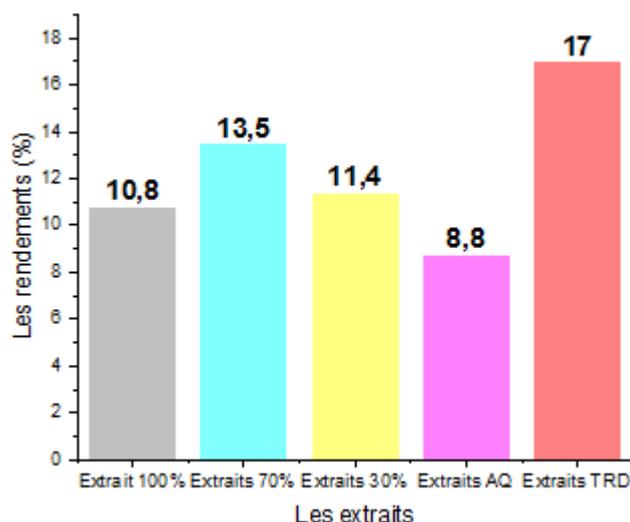
Les résultats ont été exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart type ( $n=3$ ); les comparaisons statistiques ont été faites par l'analyse ANOVA suivie du test HSD, les résultats sont considérées statistiquement significatif lorsque:  $P\text{-value} < 0.05$  et  $P\text{-value} < 0.01$ .

*Résultats et  
discussion*

## II. Résultats et discussion

### II.1. Détermination de rendement d'extraction

Pour chaque extrait, nous avons calculé le rendement de l'extraction, les résultats obtenus sont présentés dans la figure 15 :



**Figure 15** : Rendements des extraits de la plante *Artemisia herba alba*. (AQ : aqueux ; TRD : traditionnel)

Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé a été observé chez l'extrait traditionnel (17%) suivi par l'extrait méthanolique 70% (13.5%) ; puis l'extrait méthanolique 30% (11.4%) ; l'extrait méthanolique 100% (10.8%) ; et enfin l'extrait aqueux qui représente la plus faible valeur (8.8%).

Cette méthode utilisée permet d'obtenir un rendement plus élevée par rapport à celui trouvé par Boudjouref .M en 2011 qui a préparé des extraits à partir de la partie aérienne d'*Artemisia compestris* par des solvants de polarité croissante (chloroforme ; acétate d'éthyle ; éthanol). Le rendement le plus élevé chez cet auteur a été observé avec l'extrait de chloroforme (3.4 % m/m), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (2.26 % m/m), et enfin l'extrait éthanolique (0.48 % m/m).

La méthode d'extraction est une méthode importante qu'il faut mener avec soin. Par ailleurs la récolte ; le séchage ; le stockage-tributaires et l'extraction – influencent largement le rendement. (kheyar et al., 2003). Le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques de la plante ainsi qu'à son origine géographiques (Lee et al., 2003).

## II.2. Tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les différents extraits de la plante *Artemisia herba alba* sont regroupés dans le Tableau III.

**Tableau III :** Les résultats du test phytochimique des différents extraits de la plante « *Artemisia herba alba* »

	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins	Terpénoïdes	Saponosides
Extrait M 100%	+	-	-	+	-
Extrait 70%	+	+	+	+	-
Extrait 30%	+	+	+	-	+
Extrait aqueux	+	+	+++	-	+
Extrait traditionnel	+	-	++	-	++

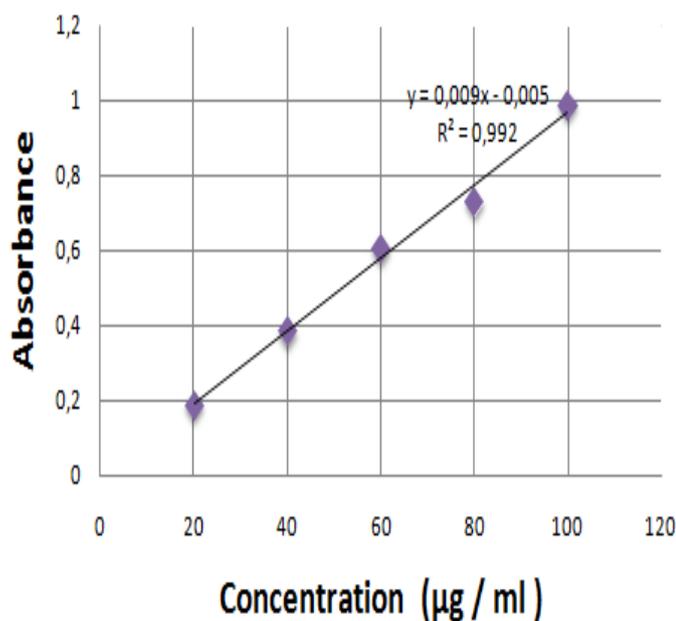
Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Bentabet *et al.*, 2014).

Nous remarquons la présence de différentes classes de composés phénoliques (flavonoïdes, tanins...etc) mais en quantités faible. La comparaison avec les données de la littérature n'est pas aisée, tant divers facteurs (végétal, saison, climat, variété, procédé d'extraction, solvant utilisé,...etc) peuvent influencer la détection des différents groupements phytochimiques (Chelghoum, 2016).

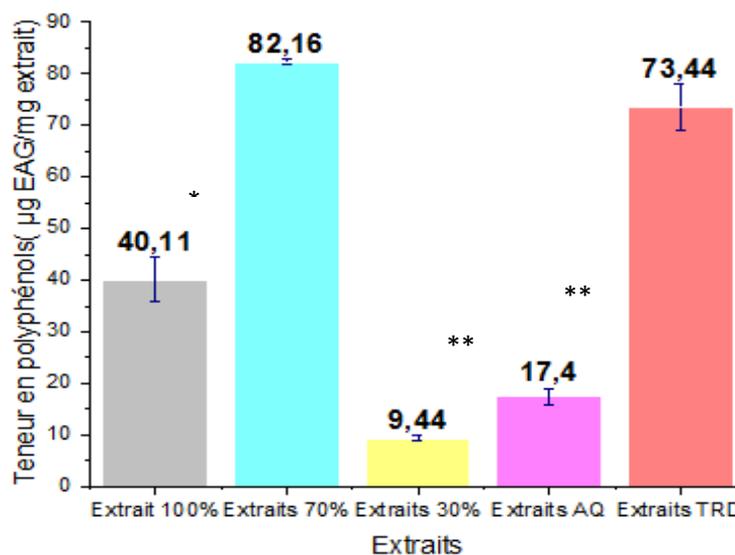
## II.3. Analyses quantitatives des extraits

### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 16), la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. La quantité des polyphénols a été rapportée en µg EAG/mg de l'extrait (figure 17).



**Figure 16 :** La droite d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 17 :** La teneur des polyphénols des différents extraits d'*Artemisia herba* Herba. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

\*\* = Très significative ( $P < 0,01$ ) par rapport à l'extrait 70%.

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes d'un extrait à l'autre.

La figure 17 montre que l'extrait 70% méthanol possède la plus haute teneur en polyphénols ( $82.16 \pm 0.55$  µg EAG/mg d'extrait), suivi par l'extrait traditionnel avec une teneur ( $73.44 \pm 4.51$  µg EAG/mg d'extrait), puis l'extrait méthanolique 100% avec une teneur ( $40.11 \pm 4.24$  µg EAG/mg d'extrait).

g EAG/mg d'extrait), puis l'extrait aqueux avec une teneur ( $17.4 \pm 1.67 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$ ) et enfin l'extrait M 30% qui possède la teneur la plus faible ( $9.44 \pm 0.46 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$ ).

La différence en teneur de polyphénols entre l'extrait 70% et traditionnel est non significative mais par rapport à l'extrait 100% est significatif et aux extraits 30% et aqueux est très significative.

Dans une étude faite sur onze plantes médicinales dont *Artemisia herba alba*, Djeridane et al., 2006 ont déterminé la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne d'un extrait éthanolique 70% (v/v), ils ont trouvé que la teneur des polyphénols totaux est de 13.06 mg EAG/g Poids sec, cette teneur est relativement élevée par rapport à nos résultats.

Tawaha et al. (2007), ont obtenu des teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques (3.463g EAG/g de matière sèche) et aqueux (2.35g EAG/g de matière sèche) d'*Artemisia herba alba* qui sont légèrement élevés par rapport à nos résultats.

Tout le contenu phénolique dans les extraits dépend du type d'extrait, c'est à dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction (Ghedadba et al., 2015).

Selon (Chirinos et al., 2007), l'extraction par l'eau mène à un extrait ayant une teneur élevée en impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques.

Les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs, les mélanges alcool-eau sont recommandés. L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques (Lapornic et al., 2005 ; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005).

Le profil polyphénolique des extraits des plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, la localisation géographique (Ryan et al., 1999 ; Benlarbi, 2004), la température et le solvant d'extraction (Sousa et al., 2008 ; Conde et al., 2009) ; la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Bentabet et al., 2014).

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), la quercétine a été utilisé comme étalon. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (Figure 18). La quantité des flavonoïdes a été rapportée en  $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait (figure 19).

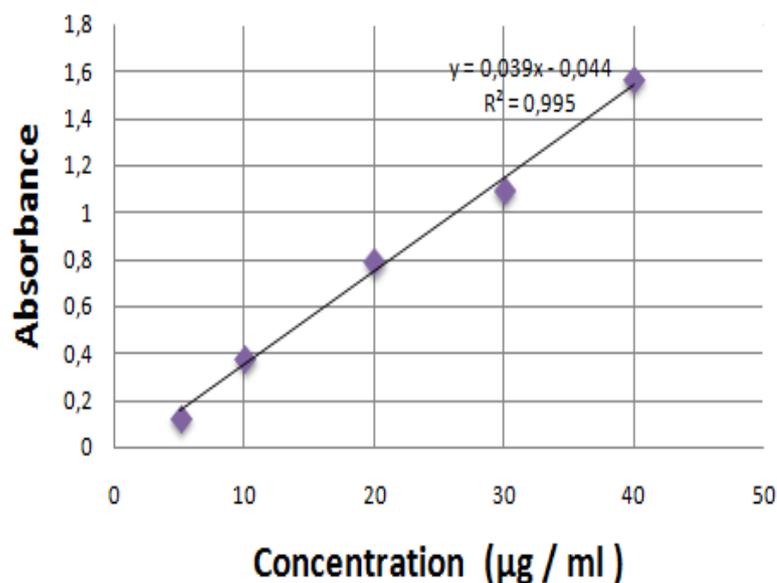


Figure 18 : La droite d'étalonnage de la quercétine.

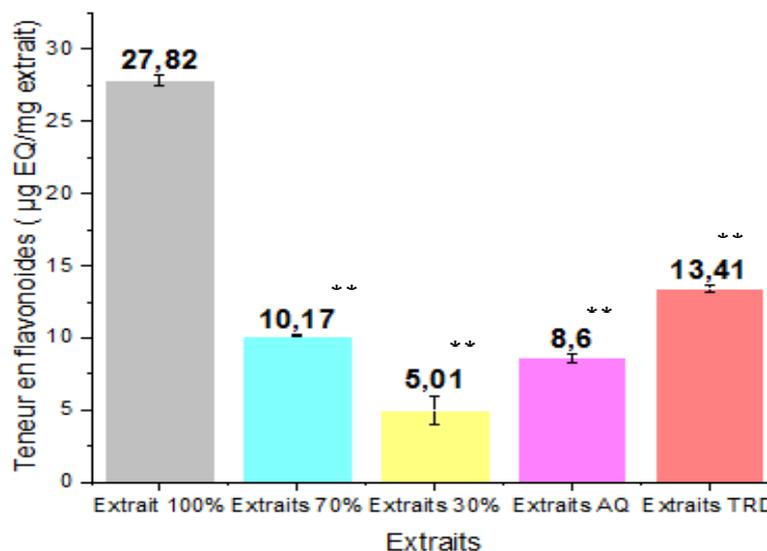


Figure 19: La teneur en flavonoïdes des différents extraits d'*Artemisia herba alba* (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD)

\*\* = Très significative ( $P < 0,01$ ) par rapport à l'extrait 100%.

D'après les résultats (figure 19), on peut constater que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en flavonoïdes mais avec des quantités différentes.

La figure montre que l'extrait 100% méthanol possède la plus haute teneur en flavonoïdes ( $27.82 \pm 0.38 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ), suivi par l'extrait traditionnel avec une teneur ( $13.41 \pm 0.05 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ), puis l'extrait 70% méthanol ( $10.17 \pm 0.05 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ), puis l'extrait aqueux ( $8.6 \pm 0.29 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ) et enfin l'extrait 30% méthanol ( $5.01 \pm 0.98 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ).

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait 100% est significativement très élevée par rapport aux autres extraits.

Dans une étude faite sur *Artemisia herba alba*, (Kessoum, 2014) la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux est (0.30 et 0.28 g EQ/100g d'extrait sec) respectivement, cette teneur est relativement élevée par rapport à nos extraits méthanolique et aqueux.

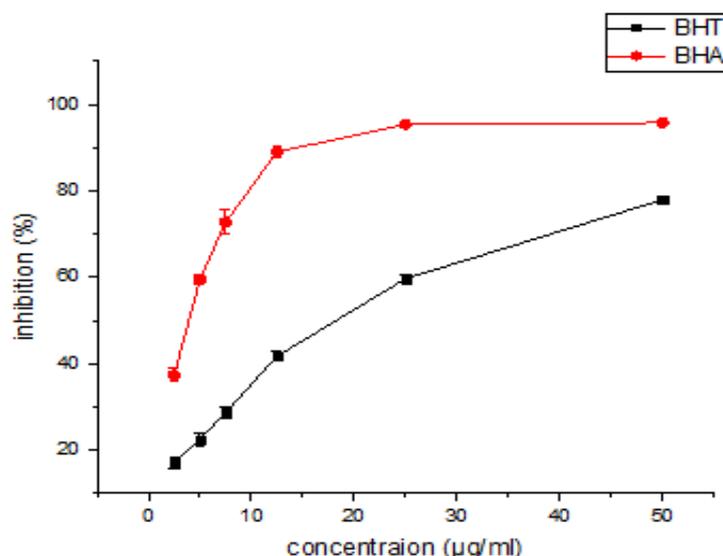
La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait. Le type de standard utilisé peut aussi changer les résultats (Ghedadba et al., 2015).

## **II.4. Détermination de l'activité antioxydant *in vitro***

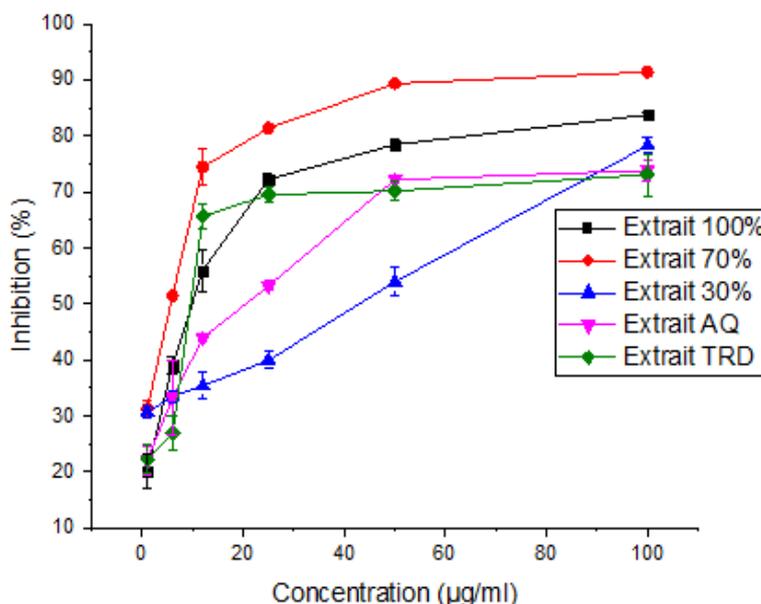
### **II.4.1. Le test de piégeage du radical DPPH**

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, on a utilisé la méthode au diphenyl-picrylhydrazyl. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (Molyneux, 2004).

Le test DPPH a été choisis en raison de sa simplicité ; rapidité ; sensibilité et de sa reproductibilité. Les résultats de l'activité scavenging du radical DPPH et les standards sont illustrés dans les figures 20, 21:



**Figure 20** : Activité antiradicalaire des antioxydants de références BHA et BHT (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).



**Figure 21** : L'activité anti-radicalaire des différents extraits étudiés (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

D'après les résultats représentés dans les figures 20; 21 il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards (BHA, BHT) ou pour les différents extraits de la plante et donc l'activité antiradicalaire est dose dépendante.

La capacité antioxydant des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC<sub>50</sub>. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande (Kumbhare *et al.*, 2012 ; Khoudali *et al.*, 2014 ; Hobi et Eddouks, 2016 ).

Pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH est déterminée. Les IC<sub>50</sub> des extraits et des standards sont représentés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : le pouvoir antioxydant exprimé par IC<sub>50</sub> des antioxydants de références et des extraits testés

Les extraits	Les IC <sub>50</sub> ± Écart type (en µg/ml)
BHA	03,85 ± 0,115
BHT	17,76 ± 0,635**
Extrait 100%	09,14 ± 0,452**
Extrait 70%	05,00 ± 0,007**
Extrait 30%	41,22 ± 0,58**
Extrait AQ	18,79 ± 1,004**
Extrait TRD	09,11 ± 0,014**

\*\* = Très significative p<0.01 par rapport BHA.

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés le BHA et le BHT, D'après les résultats présentés dans le tableau IV, l'IC<sub>50</sub> obtenu pour BHA ( 3,85± 0,115µg /ml) est bien plus inférieur à ceux des extraits et du BHT donc une activité antioxydant très élevé (la différence est très significative)., le BHT avec un IC<sub>50</sub> de l'ordre de (17.76± 0,635µg /ml) est supérieur aux extraits est donc il présente une activité antioxydante inférieur à nos extraits ; Sauf pour l'extrait 30% et l'extrait aqueux qui présentent un IC<sub>50</sub> supérieur à celle du BHA (41.22 ± 0,58 µg/ml),( 18,79 ± 1,004 µg/ml ) respectivement et donc moins active .

Parmi les cinq extraits de notre plante, l'extrait méthanolique 70% représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 5,00 ± 0,007 µg /ml suivi par l'extrait traditionnel avec une IC<sub>50</sub> de 9,11± 0,014 µ g/ml ; l'extrait 100% avec une IC<sub>50</sub> de 9,14 ± 0,452 µ g/ml ; l'extrait aqueux avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre 18,79 ± 1,004 µ g/ml ; et enfin l'extrait 30% qui représente l'activité anti -radicalaire la plus faible avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 41,22± 0,58 µ g/ml.

La différence entre l'IC<sub>50</sub> de l'extrait 70% et celle des autres extraits est très significative.

Nous pouvons dire que l'extrait 70% représente l'extrait le plus actif alors que l'extrait 30% est le moins actif.

L'IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique et aqueux de la même plante *Artemisia herba alba* ont été déterminé par (Kessoum, 2014) qui est trouvé 33,55 µg/ml et 173,22 µg /ml respectivement ces valeurs sont bien supérieure aux valeurs que nous avons trouvé pour les mêmes extraits et qui sont de 9,14 et 18,79 µg /ml respectivement.

Nos résultats sont différents de ceux de (Mebarki et Yahiouche., 2015) qui ont prouvé que l'extrait méthanolique de la même plante possède une excellente capacité de neutralisation du radical libre DPPH avec un IC<sub>50</sub> de 0.0369 mg/ml.

Il est évident que la forte activité des extraits bruts est attribuée à leur richesse en composés phénoliques (Sousa et *al.*, 2008 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Boumerfeg et *al.*, 2012; Bentabet et *al.*, 2014 ) qui possèdent la plus forte teneur en molécules dosées (polyphénols, flavonoïdes et tanins). Une étude faite par Kang et al (2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (Bentabet et *al.*, 2014 ).

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre l'activité antiradicalaire et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes; ( ; Hayouni et *al.*, 2007 ; Ozturk, 2007 ; Bakchiche et Gherib, 2014 ) à l'opposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation.

Les extraits obtenus en utilisant des solvants de haute polarité étaient considérablement plus efficace que ceux obtenue en utilisant des solvants de faible polarité. La polarité des solvants change la capacité de dissoudre un groupe choisi de composé antioxydant ce qui influe l'évaluation de l'activité antioxydante (Hayouni et *al.* , 2007) .

Athamena et *al.*, 2010 démontrent que les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, parce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique.

Lui et *al.*, 2008 ont testé l'effet synergétique entre plusieurs antioxydants en utilisant le test de DPPH ; ils ont montré l'existence de plusieurs facteurs qui influence l'effet synergétique d'un mélange des antioxydants dans un système biologique.

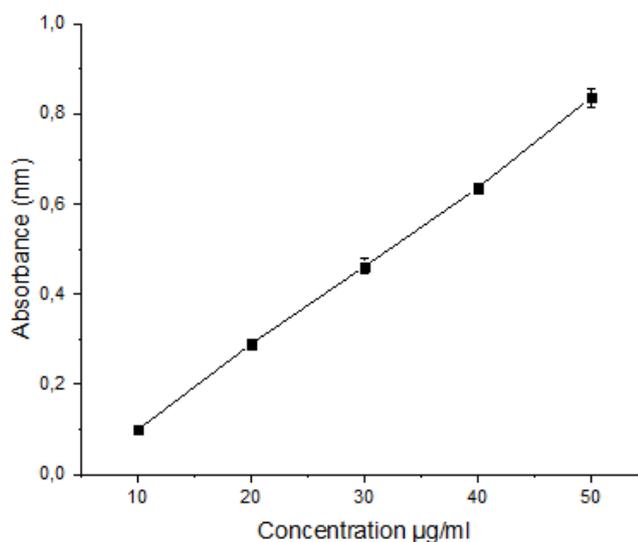
De plus il existe une hétérogénéité structurale au sein des composés phénoliques ; hétérogénéité qui se traduit par des propriétés différents. L'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovici et *al.*, 2009).

#### II.4.2. Le pouvoir réducteur FRAP (ferric reducing antioxidant power)

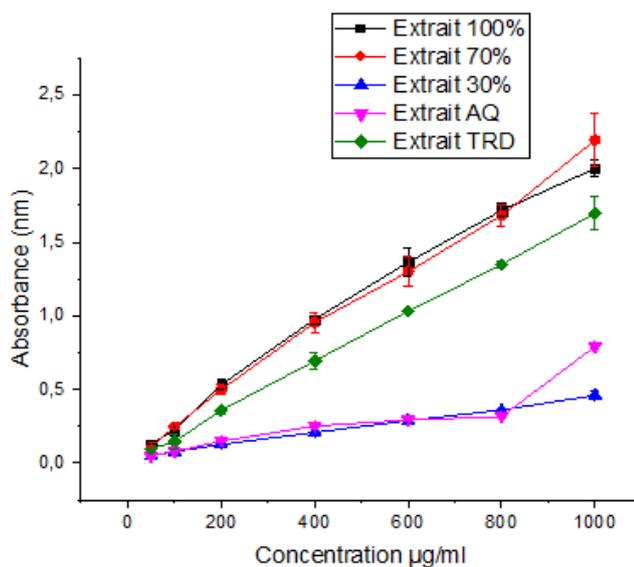
Test de la réduction est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de  $\text{Fe}^{3+}$ / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Beaucoup de publications actuelles ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Bentabet *et al.*, 2014 ; Tep *et al.*, 2005).

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique (vit c). Nous avons tracé les courbes représentants la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de différentes concentrations figures 22 ; 23 :



**Figure 22** : Le pouvoir réducteur du standard « acide ascorbique » (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).



**Figure 23** : Le pouvoir réducteur des extraits de la plante (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

A partir des résultats obtenue (figure 22 et 23), on remarque que le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose dépendant (concentration dépendante) c'est-à-dire que la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des d'extraits (Ozturk ,2007 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Bentabet et *al.*, 2014 ).

A la concentration de 50  $\mu\text{g/ml}$ , le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique 100% est le plus grand ( $\text{DO}=0,127 \pm 0,002$ ) suivi par l'extrait 7 0% ( $\text{DO}=0,11 \pm 0,006$ ); puis l'extrait traditionnel ( $\text{DO}= 0,096 \pm 0,003$ ); l'extrait aqueux ( $\text{DO}=0,051 \pm 0,004$ ) et enfin l'extrait 30% avec ( $\text{DO}= 0,049 \pm 0,001$ ).

La capacité de réduire le fer par l'acide ascorbique est largement supérieure à celle des extraits avec une  $\text{DO}=0,837 \pm 0,015$  à la même concentration 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Le pouvoir réducteur de la même plante a été déterminé par (kessoum ,2014) à la concentration 100 $\mu\text{g/ml}$  ils ont prouvé que l'extrait méthanolique représente un pouvoir de réduction plus que le notre par contre leur l'extrait aqueux présente une faible absorbance comme le notre.

Pour une meilleure comparaison entre les différents extraits et le contrôle on a exprimé le pouvoir réducteur en équivalent l'acide ascorbique. La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent acide ascorbique / $\mu\text{g}$  d'extrait. Les résultats obtenus ont été illustrés graphiquement (figure 25)

L'acide ascorbique est utilisé comme références. Pour ceci on utilise la courbe d'étalonnage réalisé avec le vit c (figure 24).

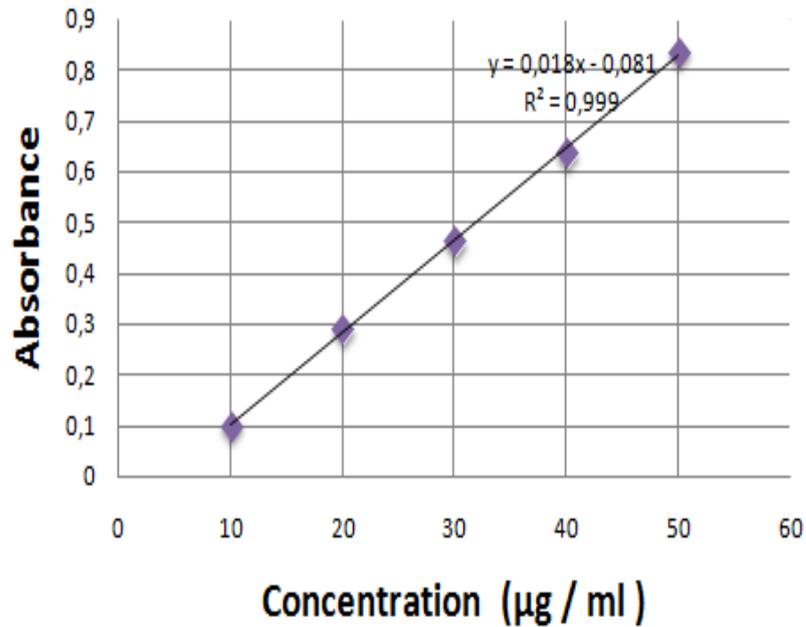


Figure 24: La courbe d'étalonnage de la vit c.

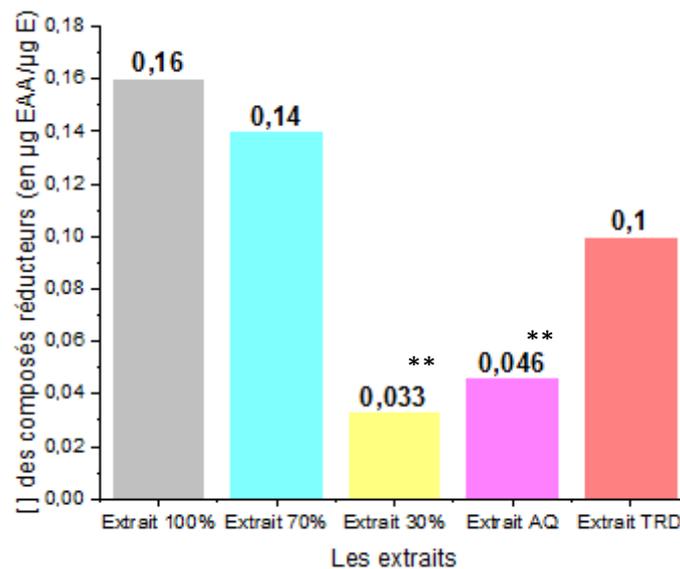


Figure 25 : Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée par la méthode FRAP (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

\*\* = Très significative  $p < 0,01$  par rapport l'extrait 100%.

Les résultats d'activité réductrice exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent acide ascorbique /  $\mu\text{g}$  d'extrait montrent clairement que l'extrait méthanolique 100% présente le pouvoir de réduction le plus intéressant et qui est égale  $0,16 \pm 0,01$  suivi par l'extrait 70% ( $0,14 \pm 0,03$ )

puis l'extrait traditionnel ( $0,10 \pm 0,011$ ); l'extrait aqueux ( $0,046 \pm 0,01$ ) et enfin l'extrait 30% avec une pouvoir est égale ( $0,033 \pm 0,005$ ).

La différence en activité réductrice entre l'extrait 100% par rapport aux extraits 70% et traditionnel est non significative mais par rapport aux extraits 30% et aqueux est très significative.

Le pouvoir réducteur de l'espèce est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. (Bougandoura et Bendimerad, 2012) et qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables (Sousa *et al.*, 2008).

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Bentabet *et al.*, 2014 ).

# *Conclusion*

### Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Notre étude a été consacrée aux dosages de quelques antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) d'une plante médicinale de la flore Algérienne « *Artemisia herba alba* », suivie par l'évaluation de son activité antioxydant.

Les extraits de feuilles de la plante ont permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés.

Le teste phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plante (des flavonoïdes; des tanins; des terponoides....).La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité.

Les résultats du dosage des composés phénoliques, à partir des extraits obtenus, ont clairement montré que l'extrait 70% présente la teneur la plus élevé. D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que l'extrait 100% a permis d'obtenir la teneur la plus élevé. Dans les deux cas l'extrait 30% représente la plus faible teneur en polyphénols et en flavonoïdes. L'évaluation du pouvoir antioxydant par les deux tests DPPH, et FRAP montre que l'extrait méthanolique 100%, 70% et traditionnel sont les plus actif et l'extrait 30% et aqueux représentent les plus faibles activités antioxydantedans les deux tests.

Selon les résultats obtenus, nous pouvons dire que Le contenu élevé en composés phénoliques et la corrélation linéaire significative entre les valeurs de la concentration des composés phénoliques et l'activité antioxydante a indiqué que ces composés contribuent à l'activité antioxydante.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable pour une vue plus approfondie sur les activités antioxydants et d'autre activités biologiques des différents extraits de cette plante.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

**Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. & Lomri A., 2007 :** Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydesdismutases : role dans les maladies rhumatismales. *Revedu Rhumatisme* **74**, 636 – 643.

**Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A., 2004 :** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry* **84**, 551–562.

**Amlan K. & Jyotisna P. S., 2010 :** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* **71**, 1198 – 1222.

**Armstrong R.C. & Swallow A.J 1996 :** Pulse-and gamma-radiolysis of aqueous solution of tryptophan. *Radiation Res* **40**,563-579.

**Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui, S. & Khebri, S., 2010 :** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminumcyminum*L. *Lebanese science journal* **11** (1), 69 – 81.

### B

**Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A. Aruoma O. & 2004 :** Total phénol, flavonoïde, proanthocyanidin and vitamin Clevel and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**,1553-1561.

**Bakchiche B. & Gherib A., 2014 :** Activités antioxydantes des polyphenols extraits de plantes médicinalesde la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of Innovation and AppliedStudies* **9**, 167-172.

**Balasundram N., Sundram K. & Sammam S., 2006 :** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* **99**:191-203.

**Beaudeau J. L. & Geneviève D., 2011 :** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition *Lavoisier Chantal Arpino*, 130, 131.

**Bellik Y. & Selles S.M.A., 2016 :** In vitro synergistic antioxidant activity of honey-Menthaspicata combination. *Food Measure*.

**Bentabet N., Boucherit-Otmani Z & Boucherit K., 2014 :** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides*de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie* **12**, 364 – 371.

**Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. & Chaouch A., 2012 :** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*artemisia mesatlanica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Science de Liege* 81, 4-21.

**Boudjouref M ., 2011 :** Etude de l'activité antioxydante et Antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif ,45.

**Bendjilali B., Richard H. &Liddle P., 1984:** Chimotypes d'armoise Blanche du Maroc : *Artémisia herba alba*. 131-151p.

**Bougandoura N. &Bendimerad N., 2012 :** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthasp. Nepeta (L.)* Briq. *Nature & Technologie*(9), 14 – 17.

**Boumerfeg S ,Baghiani A ,Djarmoni M .,Ameni D.,Adjadj M.,Belkhiri F.,Charef N.,Khennouf S &Arrar L.,2012 :**Inhibitory Activity on Xanthine Oxidase and Antioxidant Properties of *TeucriumpoliumL.* Extracts. *ChineseMedicine* 3, 30-41.

**Bijoy M., Jayati., S. &Prabir, K.S., 2008 :** Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International* 41, 586-593.

**Blois M. S., 1958:** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*181, 1199– 1200.

**Boizot N .& Charpentier J.P., 2006 :** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra* 79-82.

**Bonnefont-Rousselot D., Théron P. & Delattre J., 2003 :** Radicaux libre et antioxydant en : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J. C. Biochimie pathologique. *Flammarion* .Pris, 317.

**Bouras F.Z. & Houchi A., 2013 :** Etude de l'activité antioxydante de la plante *Rumex Vesicarius L.* Mémoire de master acadimique en Analyse et contrôle de qualité. Université Kasdi Marbah, Ouragla, 35.

**Brot N. &Weissbach H. 2000 :** Peptide Methionine Sulfoxide Reductase Biochemistry and Physiological Role .*Biopolymers (Peptide Science)* 55, 288–296.

**Bruneton J., 2009 :** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> édition. Edition *Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales, Paris*, p 261, 308, 571.

**Cantin P. A., 1999 :** Oxidant and antioxidants in lung injury. In: Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation. *Moss j. New York: Dekker* 519 – 531.

**Cavar S., Maksimovic M., Vidic D. & Paric A., 2009 :** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Aetemisiana* L. *From Bosnia. Industrial Crops and Products* **37**: 479-485.

**Cavar S., Maksimovic M., Vidic D. & Paric A., 2009 :** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Aetemisiana* L. *From Bosnia. Industrial Crops and Products* **37**: 479-485.

**Chaib., 2000 :** Caractéristique floristique des îles Kneiss. Projet de préservation de la biodiversité dans la réserve naturelle des îles Kneiss. TUN /98/G52 : 13, 38.

**Chelgoum N ., 2016 :** Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait de fleurs de *Moringaoleifera*. *Mémoire de Master en Sciences alimentaires*. Université A. MIRA , Bejaia, 36.

**Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. & Larondelle Y., 2007 :** Optimization of extraction condition of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology* **55**, 217-225.

**Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. & Dominguez H., 2009 :** Antioxidant activity of the phenolic compound released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry* **114** (3), 806 – 812.

**Congo M.Y.M., 2012 :** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L (SALVADORACEAE). Mémoire de docteur en pharmacie. Université d'Ougadougou, Bourkina Faso, 96.

**Cuvelier C., Dotreppe O. & Istasse L., 2003 :** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd .Véte* **147**, 315 – 324.

## **D**

**Dacosta Y., 2003 :** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317.

**Delattre J., Beaudoux J. L. & Bonnefont-Rousselot ; 2005 :** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Edition *Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales, Paris*, 14, 93, 94.

**Descheemaeker K., 2004 :** Nutri- & Phytothérapie: développements récents. Ed. Garant: 41 51.

**DjemaiZoughlache S., 2008** : Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister. Université -El Hadj Lakhder, Batna.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N., 2006** : Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extract scontainingphenolic compound. *J. Food Chem***97**, 654–660.

## **E**

**El Rhaffari L., 2008** : Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes, l'organisation non gouvernementale italienne (MOVIMONDO), 11.

**Evans W. J., 2000** : Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr***72**, 647S– 652S.

**Evans P. &Halliwell B., 1999** : "Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria." *Annals of the New York Academy of Sciences* 884, 19-40.

## **F**

**Favier A., 2003** : Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* ,108-115.

**Francis Joannès., 2001** : Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont 2001, ISBN 2221092074.

**Friedman J., Yavin Z., Dafni A. &Palewitich D., 1986** : J Ehno Pharm. Jun **16(2-3)** ,275-87

**Fuhrman B., Lavy A. &Aviram M., 1995** : Consumption of redwine withmeals reduces The susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr***61** ,549-554.

## **G**

**Gadaw A. V., Joubert. &Hansmann C. F., 1997** : Comparaison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of RooibosTea (*Aspalathuslinearis*), *a*-Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agriculral Food Chemistry***45**: 632-638.

**Gardès-Albert M., Dominique Bonnefont-Rousselot., Zohreh Abedinzadeh Z & Daniel Jore D., 2003** : Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?*L'actualité chimique*, 91-96.

**Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi M. C., Aberkane H., Bousselfela S. M. &Oueld- Moukhtar ., 2015** : Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de Marrubiumdeserti de Noé. *Phytothérapie***13**, 118-129.

**Ghrabi Z. & Sand R.L., 2008** : *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49 - 49.

**Goudable J., Favier A., 1997** : Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol* **11**, 115-120.

**Greathead H., 2003** : Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of The Nutrition Society* **62**, 279 – 290.

**Guignard J. L., 1996** : Abrégé de biochimie végétale. Edition *Masson, Paris*, p 160.

## **H**

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P., 2007** : Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège* **62**, 628 – 638.

**Halliwell B., 1990** : How to characterize biological antioxidant. *Free Rad. Res. Comms* **9**(1), 1-32.

**Hebi M. & Eddouks M., 2016**: Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie* **14**, 17 – 22.

**Harborne J. B., 1997** : Recent advances in chemical ecology. *Nat Prod Rep* **14**, 83-98.

**Harrar Abd El Nacer., 2012** : Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de magister, Université Ferhat Abbas, Setif, 14.

**Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. & Guessous Idrissi N., 2001** : *BSocPathol* **94**, 29-31.

**Hayouni E.A., Manaf A. B., Bouix M. & Hamdi M., 2007** : The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry* **105**, 1126–1134.

**Hopkins W. G., 2003** : Physiologie végétale. 2ème édition. Edition de *Boeck Université*, p 268, 280.

## **J**

**Jacques R., 2010** : Signalisation cellulaire et cancer un manuel pour les étudiants et les oncologues. Edition *Springer- Verlag France, Paris*, 195.

**Janssen-Heininger., 2007** : Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology* **178**, 3814 – 3821.

**Jrahharzallah. H., 2010** : antioxydant and antigenotoxic activities of extracts. *Journal of medicinal plants research* **4** (19), 2048-2053.

## **K**

**Khan A. M ., Qureshi R. A ., Ullah F ., Gilani S. A ., Nosheen A., Sahreen S. & Murad W., 2011** : Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margella Hills and surrounding. *Journal of Medicinal Plants Research* **5**(25), 6017-6023.

**Kessoum S., 2014** : Activité antioxydante des polyphénols d'*Artemisia herba alba*. *Mémoire de Master en Biologie*. Université A. MIRA , Bejaia, 36.

**Kheyar N. Meridja D. & Belhamel K., 2013** : *Algerian Journal of Natural Product*.

**Khoudali S., Benmessaoudleft D ., Essaqui A ., Zertoubi M ., Azzi M . & Benaissa M., 2014** : Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis L.*) du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci* **5** (3), 887-898.

**Koehlin-Ramonatxo C., 2006** : Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* **20**, 165–177.

**Kumbhare M.R., Guleha V. & Sivakumar T., 2012** : Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* ,144-150.

## **L**

**Lee K. W., Kim Y.J., Lee H. J. & Lee C.Y ., 2003** : Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxydant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural Food chemistry* **51** ,7292-7295.

**Lindau-Sehpar, B. & Shaffer J., 1993** : Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Radic Biol Med* **8**, 15 – 581.

**Liyana-Pathirana C. M. & Shahidi F., 2006** : Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum L.*) and their milling fractions. *J. Sci. of Food and Agriculture* **86**, 477-485.

**Lugasi A., Hóvári J., Sági K V., Bíró L., 2003** : The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis* **47**(1-4) ,119-125.

**Lui D., Shi J., Ibarra A.C., Kakuda Y., Xue S.J., 2008** : The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and β-carotene mixture on the DPPH free radical. *Food Science and Technology* **41** ,1344-1349.

Lutge U., Kluge M. & Bauer G., 2002 : Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

## M

Majob F ., Kamalinejab M., Ghaderi N. & Vahidipour H.R., 2003 : Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Re*2, 77-82.

Marc F., Davin A., Benbrahim L., Ferrand, C., Frich, P., 2004 : Méthodes D'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Science*20, 458-63.

Marco J.A., 1989 : Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry* 28, 3121-3126.

Martin S. & Andriantsitohaina R., 2002 : Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie*51, 304 – 315.

Marusawa H., Ichikawa K., Narita N., Murakami H., Ito K., & Tezuka, T ., 2002 : Hydroxyle radical as a strong electrophilic species. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*10, 2283 – 2290.

Matés J. M., Perez-Gomez C. & Castro N. I., 1999 : Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*32, 595 – 603.

McCall M.R., Frei B., 1999 : Can antioxidant vitamin materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radical Biology and Medicine* , 1034-1053.

Mebarki F. Z. & Yahiouche L., 2015 : Extraction et valorisation de l'activité antifongique et propriétés antioxydantes des composés phénoliques de la plante médicinale *Artemisia herba alba*. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bchir El Ibrahim, BBA, 37.

Melle H.S., 2015 : Etude botanique et phytochimique : approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat en biotechnologies végétales. Université des frères Mentouri, Constantine, 186.

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

Mohamed H., El-Sayed M.A., Hegazy M.E., Helaly S.E., Esmail A.M. & Mohamed N.S., 2010 : Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec Nat Prod*4, 1-25.

Molyneux P., 2004 : The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *The Songklanakarin Journal of science and Technology* 26(2), 211-219.

**Moon, J. K. & Shibamoto, T. (2009)** : Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural Food Chemistry***57**, 1655 – 1666.

**Muanda F., 2010** : Identification de de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydane et étude de leur propriété biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz 55.

## N

**Nabli M. A., 1989**: Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis). 186-188.

**Nastro A., Germano M. P., D'Angelo V., Marin A. & Cannatelli M. A., 2000** : Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity**30 (5)**, 79 – 384.

**N'Guessan K., Khadja B., Zirihi G., Traoré D. & Aké-Assi L., 2009** : Screening phytochimique de quelque plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Science and Nature* **6**,1-5.

**Niki L., Reynaert S. W., Aesif T. M., Amy B., Emiel F. M., Wouters C. G., Irvin., Yvonne M. W. & Lindau-Sehpard, B. & Shaffer J., 1993** : Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med***8**, 15 – 581.

**Niki L., Reynaert S. W., Aesif T. M., Amy B., Emiel F. M., Wouters C. G., Irvin., Yvonne M. W. & Janssen-Heininger., 2007** : Catalase over expression fails to attenuate allergic airway disease in the mouse. *The journal of Immunology***178**, 3814 – 3821.

## O

**Oyaizu, M. 1986** : Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of Browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* **44**, 307–315.

**Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E. & Topcu G., 2007** : Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheumribes*): an edible medicinal plant. *Food Chemistry* **103**, 623–630.

## P

**Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. 2009** : Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industrielle* **4**, 25-39.

**Prior R L., Wu X., Schaich K., 2005** : Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Agric. Food Chem*(**53**), 4290-4302.

## Q

**Quezel P. & Santa S., 1962-1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales. Tome I. Ed CNRS. Paris, 1170.

**Quezel P. & Santa S., 1963** : Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris : pp600.

## R

**Ravi K., Ramachandran B. & Subramanian S., 2004** : Effect of Eugenia Jambolanaseedkernel on antioxidant défense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences* **75**, 2717 – 2731.

**Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E., Bouharmont. J. & Evrard C. M., 2000** : Biologie végétale .1ère édition. Edition de Boeck Université, Paris, p 32.

**Rezair A., 2012** : *Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa)*. Thèse pour le doctorat en Phytochimie. Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne, 193.

**Ribéreau-Gayon P., 1968** : Notion générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod ,1-27

**Ronald St-Louis., 2011** : Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. Thèse de doctorat en spécialité Neurosciences. L'Université Paris VI Pierre et Marie Curie ,117.

**Ryan M. T., Muller H. & Pfanner N., 1999** : Functional staging of ADP/ATP carrier Translocation across the outer mitochondrial membrane. *J BiolChem* **274** (29), 20619 – 20627.

## S

**Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I. & Abou-Zaid M.M., 1987** : Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry* **26**, 3059–3064.

**Salah S.M. & Jager A.K. 2005**. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol* **97**, 145–149.

**Scheibmeir H. D., Christensen K., Whitaker S. H., Jegaethesan J., Clancy R. & Pierce J. D., 2005** : A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive CritCare Nurs* **21** (1), 8 – 24.

**Schroeter H., Boyd C., Spencer J.P.E., Williams R.J., Cadenas E., Rice-Evans C., 2002** : MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitricoxide. *Neurobiology of Aging*,861-880.

**Sharma P.,Jha A.B., Dubey R.S. &Pessaraki M.,2012** :Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 1-26.

**Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R. M., 1999** : Analysis of totalphenols and otheroxidationsubstrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteure agent. *Method. Enzymol* **299**: 152-178.

**Sorg O., 2004** : Oxidative stress: atheoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies***327**, 649 – 662.

**Sousa A., Ferreira I. C., Barros L., Bento A., & Pereira J. A., 2008** : Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”. *LWT Food Science and Technology***41(4)**, 739-745.

**Sousa R., Dias S. & Antunes C., 2006** : Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia* **559**, 135-148.

**Stamler J. S. &Slivka A., 1996** : Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-relateddisease. *Nutrition Reviews***54** (1), 1 – 30.

**Sumaya Martinez M.T., 2004** : Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes : étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives et effet de la glycation. Thèse de Doctorat en Microbiologie, 188.

## ***T***

**Tanguy M., 2009** : Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation .*Médecine* **5** (6) ,256-260.

**Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. &Tastekin A. 2006.** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull VetInstPulawy* **50**, 235-238.

**Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. & El-Elimat T., 2007** : Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry***104(4)** ,1372-1378.

**Tep B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. &Polissiou M., 2005** : Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salviat omentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry***90**, 333-340.

**Torres V.R., Berinck G.S., Nascimento G.F., Fortier S.C., Pessoa C., Morases M.O., 2006** :Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxin isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *Toxicon* (40), 885-891.

**Trease E. & Evans W.C ., 1987** : Pharmacognosie, BilliaireTindall. London 13 th Edition.

## V

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

**Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M. & Telser J., 2007** : Freeradicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Int j BiochemCellBiol*39, 44 – 84.

**Valko M. M., Izakovic M., Mazur C. J., Rhodes. & Telser.j ., 2004** : "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence." *Molecular and Cellular Biochemistry*266 (1-2) ,37-56.

## W

**Wardman P. & Candeias L. P., 1996** : Fenton chemistry: an introduction. *RadiatRes*145, 523 – 531.

**Wright C. W., 2002** : Artemisia. *Taylor & Francis*, London and New York, 359P.

## Y

**Yin Y., Gong F.Y., XinWu X., Sun Y., Li Y., Chen T. & Xu Q., 2008** : Antiinflammatory and immunosuppressive effect of flavone isolated from *Artemisia vestita*. *J Ethnopharmacol* 120, 1–6.

## Résumé

*Artemisia herba alba* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracée*, cette espèce connue sous le nom de « Chih », est très répandue dans le sud algérien. Cette étude consiste à faire dans un premier temps un criblage phytochimique de quelques extraits des feuilles de cette plante et dans un second temps, nous avons évalué l'activité antioxydante de ces extraits.

L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence l'existence d'alcaloïdes, des tanins, des saponines, des flavonoïdes et des terponoïdes dans les feuilles. La quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode  $AlCl_3$  a donné des valeurs plus élevées avec l'extrait méthanolique 70% et 100% où les valeurs sont de :  $82.16 \pm 0.55 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait et  $27.82 \pm 0.38 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait respectivement. Ce qui concerne le test DPPH, l'extrait méthanolique 70% a montré la plus grande activité inhibitrice avec une  $IC_{50}$  de :  $5 \pm 0,007 \mu\text{g/ml}$ . En outre, la méthode FRAP montre que l'extrait 100% est le plus actif :  $0.16 \pm 0.01 \mu\text{g EAA}/\mu\text{g}$  d'extrait.

Les résultats obtenus ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de la plante étudiée présentent des bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

**Mots clés :** *Artemisia herba alba*, les extraits, les polyphénols, l'activité antioxydante, DPPH, FRAP.

## Abstract

*Artemisia herba alba* is a medicinal plant belonging to the family Asteraceae, this species known under the name of "Chih", is widespread in the south Algerian. This study consists at first in making a phytochemical screening of some extracts of the leaves of this plant and in a second step, we evaluated the antioxidant activity of these extracts.

The phytochemical study revealed the existence of alkaloids, tannins, saponins, flavonoids and terponoids in the leaves. Quantification of the total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the  $AlCl_3$  method gave higher values with the 70% and 100% methanol extract where the values are :  $82.16 \pm 0.55 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$  of extract and  $27.82 \pm 0.38 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  of extract respectively. The antioxidant effect was determined by the tests DPPH and FRAP. Regarding the scanning  $IC_{50}$  values of the DPPH radical, the 70% methanolic extract showed the greatest  $IC_{50}$  inhibitory activity :  $5 \pm 0.007 \mu\text{g} / \text{ml}$ . In addition, the FRAP method shows that 100% extracts is the most active :  $0.16 \pm 0.01 \mu\text{g EAA} / \mu\text{g}$  extract.

The results of this work allowed us to affirm that all the extracts of the studied plant have good antioxidant properties that could allow us to recommend them in biotechnology.

**Key words:** *Artemisia herba alba*, extracts, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, FRAP

## ملخص

*Artemisia herba alba* نبات طبيعي من عائلة *Asteraceae*، و هذا النوع معروف باسم "شبح"، ينتشر على نطاق واسع في الجنوب الجزائري. هذه الدراسة تتكون في البداية من فحص كيميونيائي لمستخلصات من أوراق هذا النبات و في خطوة ثانية قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات.

كشفت الدراسة الكيميونباتية عن وجود *alcaloïdes*، التانينات، السابونين، الفلافونويد و *terponoïdes* في الأوراق. قدر اجمالي البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بطريقة  $AlCl_3$  فكانت أعلى قيمة من قبل المستخلص الميثانولي 70% و 100% حيث قدرت القيم بـ  $82.16 \pm 0.55 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$  d'extrait و

$27.82 \pm 0.38 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  d'extrait على التوالي. فيما يتعلق باختبار DPPH، أظهرت أن المستخلص الميثانولي 70% أعلى نشاط قدر:  $IC_{50}$  :  $5 \pm 0.007 \mu\text{g} / \text{ml}$  بالإضافة إلى ذلك طريقة FRAP أظهرت أن المستخلص الميثانولي 100% هو الأكثر نشاطاً :  $0.16 \pm 0.01 \mu\text{g EAA} / \mu\text{g}$  d'extrait

سمحت لنا نتائج هذا العمل بأن نؤكد أن جميع مستخلصات النبات المدروس لها خصائص مضادة للأكسدة يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بها في مجال التكنولوجيا الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** *Artemisia herba alba*، FRAP، DPPH، مستخلصات، بوليفينول، مضادة الأكسدة.