

Université de Bejaia
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Biologiques de l'Environnement

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option
Santé Publique

Thème

Activité antioxydante des polyphénols
d'Artemisia herba alba

Présenté par:

M^{lle} : Kessoum Samia

Membres de jury:

Présidente: M^{me} KADJI H. (M.A.A. Université de Bejaia)

Promotrice : Mme ABDERRAHIM S. (M.A.A. Université de Bejaia)

Examinatrice: M^{me} BENMESSAOUD Y. (M.A.A. Université de Bejaia)

Examinatrice : M^{elle} RAHMANI A. (M.A.A. Université de Bejaia)

Promotion 2013/2014

Remerciement

*Tout d'abord je tiens à remercier DIEU le tout puissant de m'avoir
donné le courage et la
Volonté de terminer ce travail.*

*En tout premier lieu je tiens à remercier ma promotrice Mme
ABDERRAHIM .S de m'avoir proposée ce sujet, de m'avoir guidée,
soutenue et encouragée, pour ces précieux conseils et soutien tout au
long de mon travail.*

*Je tiens à remercier Mme KADJI.H de m'avoir fait l'honneur de
présider le jury de ma soutenance.*

*A Mme BENMESSAOUD.Y et Melle RAHMANI.A d'avoir accepté
d'examiner et de juger ce travail, qu'elles trouvent ici ma sincère
gratitude.*

*A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de la partie
pratique de mon
mémoire .*

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mon père et ma mère sans qui ce travail ne serait pas réalisé

A Mimi et sa famille

Mes frères (foufou et rayane) et mes sœurs (lydia et nadia)

A mes cousins et cousines

A toute la famille KESSOUM ,HIMMI et AïD

Mes amis (ies) tous ceux que je connais et qui me connaissent.

A toute la promotion santé publique.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Matériel végétal

I.1. Description botanique *d'Artemissia herba alba*.....3

I.2. Taxonomie.....3

I.3. Noms vernaculaires.....4

I.4. Habitat4

I.5. Composition chimique.4

I.6. Effet thérapeutique.....4

Chapitre II : Radicaux libres et antioxydants

II. Les radicaux libres.....6

II.1. Définition.....6

II.2. Production des radicaux libres.....6

II.3. Le stress oxydant.....6

II.4. Conséquences de stress oxydant.....6

II.2. Les antioxydants.....7

II.2.1. Définition.....7

II.2.2. Classification des antioxydants.....8

II.2.2.1. Les antioxydants endogènes.....8

II.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques.....8

II.2.2.1.2. Les protéines antioxydantes.....9

II.2.2.2. Les antioxydants exogènes.....9

II.2.2.2.1. Les oligo-éléments.....	9
II.2.2.2.2. Les vitamines.....	9
II.2.2.2.3. Les composés phénoliques.....	9
II.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	13
II.4. Propriétés biologiques des flavonoïdes.....	14

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	15
I.1.1. Préparation du matériel végétal.....	15
I.1.2. La récolte.....	15
I.1.3. Identification de la plante.....	16
I.1.4. Lavage et conservation.....	16
I.1.5. Séchage.....	16
I.2. Méthodes.....	16
I.2.1. Broyage et tamisage.....	16
I.2.2. Préparation des extraits.....	16
I.2.3. Dosage des antioxydants.....	17
I.2.3.1. Dosage des polyphénols.....	17
I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	18
I.2.4. Détermination des activités antioxydantes.....	19
I.2.4.1. Le Pouvoir réducteur.....	19
I.2.4.2. Activité scavenger du radical DPPH.....	20
I.2.4.3. Activité scavenger du radical ABTS.....	21
I.2.5. Traitement statistique.....	23

Chapitre II : Résultats et discussion

.II.1. Les composés phénoliques	24
II.2. Les flavonoïdes.....	26
II.3. Le pouvoir réducteur.....	27
II.4 Activité scavenger du radical DPPH.....	29
II.5. Activité scavenger du radical l'ABTS.....	32
Conclusion et perspectives.....	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AbsT : Absorbance du témoin

AbsE : Absorbance de l'échantillon

BHA : butylhydroxyanisol

DPPH : diphenylpicrylhydrazy

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

EAQ : Equivalent acide Quercétine

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

LDL : lipoprotéines Low densité

OCH₃ :Acide-phenol

OH: Hydroxyde

OH[•] : Radical hydroxyle

RL: Radicaux Libres

TEAC : Capacité Antioxydante en Equivalent du *α-Tocophérol*.

UV : ultra violet

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Classification taxonomique <i>d'Artemisia herba alba</i>	3
II	Principaux noms vernaculaires d <i>Artemisia herba alba</i>	4
III	Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples	12
IV	Les IC50 des extraits et les standards BHA et acide gallique	31
V	Capacités antioxydantes exprimées en équivalent trolox	34

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Photographie d' <i>Artémisia herba alba</i>	03
02	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	07
03	Les structures chimiques des différents acides phénoliques	10
04	Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tannins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C)	11
05	Exemple de structure d'un tannin condensé	11
06	Structure de base des flavonoïdes	12
07	Localisation géographique du lieu de récolte d' <i>Artemisia herba alba</i>	15
08	Protocole de dosage des polyphénols	17
09	Protocole de dosage des flavonoïdes	18
10	Protocole d'étude du pouvoir réducteur	19
11	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH	20

12	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de l'ABTS	22
13	Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	25
14	Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	26
15	Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	28
16	Pouvoir réducteur des standards à différentes concentrations	28
17	Activité scavenging du radical DPPH des extraits ethanolique, méthanolique et acétonique d' <i>Artemise herba alba</i>	29
18	Activité scavenging du radical DPPH d'extraits Eau d' <i>Artemise herba alba</i>	30
19	Activité scavenging du radical DPPH du standard d' <i>artémise herba alba</i> à différentes concentrations	30
20	Activité scavenging du radical ABTS des extraits d' <i>Artemise herba alba</i>	32
21	Activité scavenging ABTS du Trolox à différentes concentrations	33

Introduction

Les plantes médicinales sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des *Astéracées*, les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Plus de 300 espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord ainsi qu'en Asie (**Nikolova et al., 2010**).

Le monde scientifique est envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant, une situation où la cellule ne contrôle plus la quantité de radicaux libres qu'elle produit, entraînant ainsi la plupart des maladies telle que les maladies cardiovasculaire, neurodégénératives et le cancer (**Pincemail et al., 2002**).

Le développement de nouveaux antioxydants d'une capacité antioxydant de meilleure qualité et de moindre toxicité s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydation. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antioxydant, si l'on considère que ces plantes peuvent contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires. Ces derniers représentés actuellement par 100.000 substances identifiées, pourraient être utilisés dans la prévention de certaines maladies ou pour une meilleure conservation des aliments (**Cowan, 1999**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'étudier l'activité anti oxydante de la plante *Artemisia herba alba*. La présente étude a été scindée en trois parties :

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

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

I.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). (Figure 01).



Figure N°01: Photographie d'*Artemisia herba alba* (Quezel et Santa,1963;Wright, 2002).

I.2.Taxonomie

Tableau I: Classificaion taxonomique d'*Artemisia herba alba* (Quezel et santa, 1963).

Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Astéradae
Ordre	Astérales
Famille	<i>Astéracées</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba alba</i>

I.3. Noms vernaculaires**Tableau II : Principaux noms vernaculaires d'*Artemisia herba alba***

Langue	Nom	Références
Français	Armoise blanche	(Bendjilaliet <i>al.</i> , 1984)
Anglais	White wormwood	(Marc <i>et al.</i> , 2008)
Arabe	Chih, Chiha, Chiba	(Quezelet Santa., 1963)

I.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).

I.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 tels que les eudesmanolides et les germacranolides (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. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que quercitine-3-glucoside et des flavones C- glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracée (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).

I.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**).

II.1. Les radicaux libres**II.1.1. Définition**

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André., 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

II.1.2. Production des radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO). (**Figure 02**) (**Chu et al., 2010**)

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories ; les sources endogènes ou les RL sont des produits des réactions de l'organisme, et les sources exogènes tel que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactif chimiques, les solvants industriels et la pollution (**Pastre, 2005**).

II.1.3. Le stress oxydant

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

II.1.4. Conséquences du stress oxydant

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (**Valko et al., 2006**).

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc. Est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

II.2.2. Classification des antioxydants

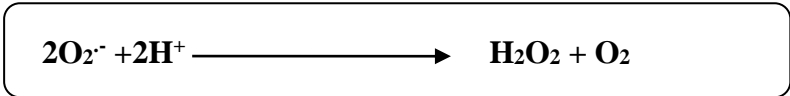
II.2.2.1. Les antioxydants endogènes

II.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ERO (Morena *et al.*, 2002). Les plus connues sont:

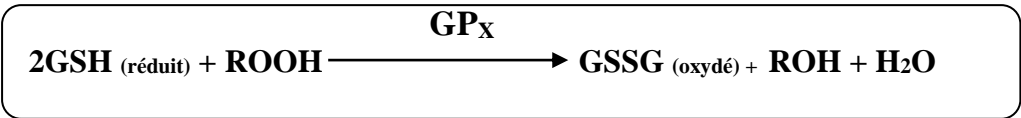
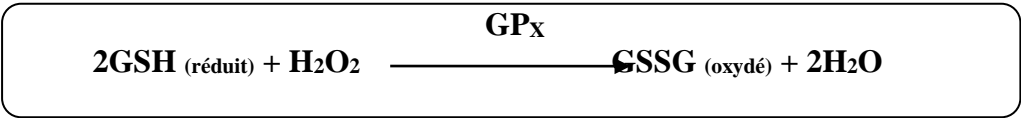
- La superoxydedismutase (SOD)

Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène.



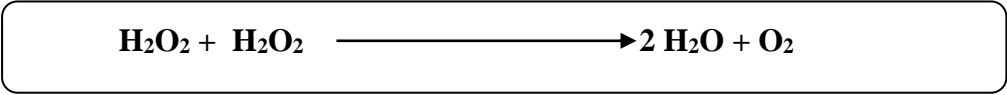
- La glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Valko *et al.*, 2006).



- La catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (Valko *et al.*, 2006). Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂.



II.2.2.1.2. Les protéines antioxydantes

La transferrine, la ferritine et la céruléoplasmine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions (Curtay et Robin, 2000; Pincemil *et al.*, 2002). Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle redox du métal ont construisent des complexes métalliques insolubles (Cillard et Cillard, 2006).

II.2.2.2. Les antioxydants exogènes

II.2.2.2.1. Les oligo-éléments

Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (Pastre, 2005).

II.2.2.2.2. Les vitamines

Les vitamines sont des molécules organiques requises en faible quantité indispensable pour le fonctionnement des voies métaboliques des êtres vivants. Elles réagissent sous forme de coenzyme (Barati Elbaz et Le Marechal, 2008).

II.2.2.2.3. Les composées phénoliques

➤ Définition

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque au quel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneto, 1999).

➤ Classification

1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont constitués de deux sous-groupes : Les acides hydroxybenzoïques, qui ont en commun la structure en C6-C1 et les acides hydroxycinnamiques, des composés aromatiques avec une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3) (Figure 03) (Balasundram et al., 2006).

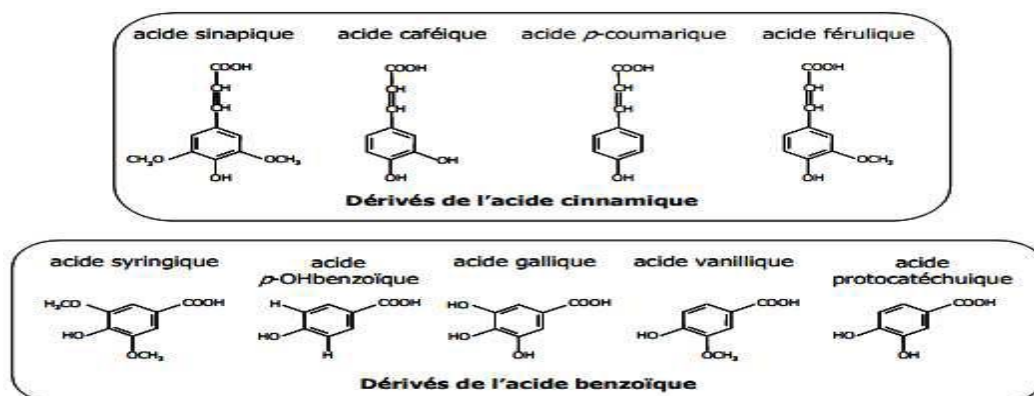


Figure N°03: Les structures chimiques des différents acides phénoliques (Anne-Laure, 2007).

2. Les tannins

Le terme « tannin » a été utilisé à l'origine pour décrire des substances végétales capables de transformer des peaux d'animaux en cuirs (Cowan, 1999; Khanbabaee et Ree, 2001; Bennick, 2002; Koivikko, 2008; Rahim et Kassim, 2008). Aujourd'hui, le terme est largement utilisé pour décrire un sous-groupe de composés phénoliques qui sont produits sous forme de métabolites secondaires, par une multitude d'espèces végétales diversifiées. Leur poids moléculaire est de plus de 500 Daltons, ils sont solubles dans l'eau avec la capacité de précipiter les protéines (Hagerman *et al.*, 1998; Cowan, 1999; Toth et Pavia, 2001; Bennick, 2002; Koivikko *et al.*, 2005; Koivikko, 2008).

a) Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters d'un sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique. Les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique dans le cas des gallotannins et l'acide ellagique dans le cas des ellagitannins (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Derbel et Ghedira, 2005).

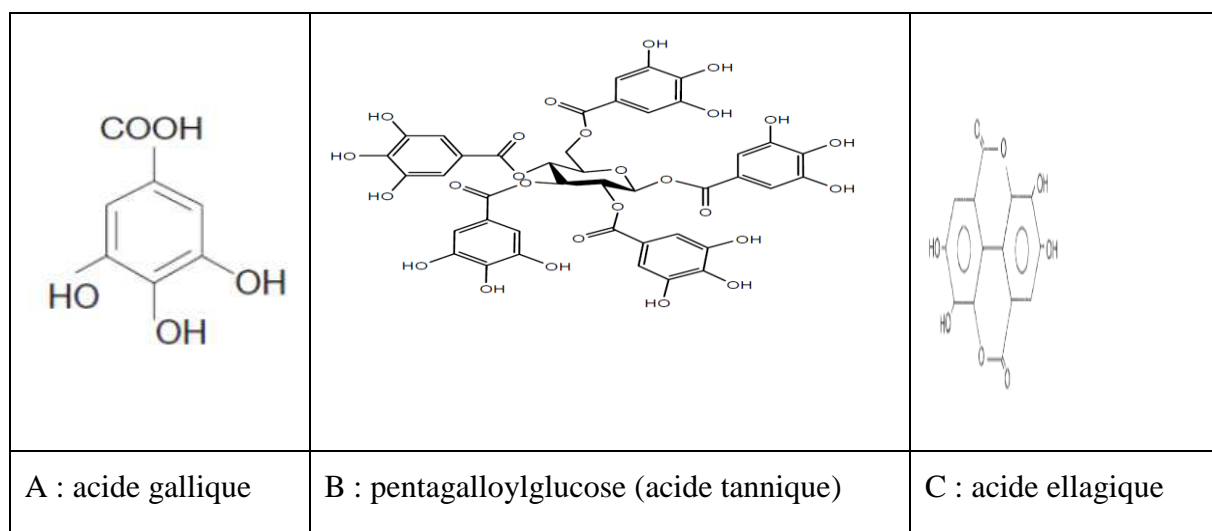


Figure N°04: Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tannins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C) (Derbel et Ghedira, 2005 ; Nicholson et Vermerris, 2006).

b) Les tannins condensés

Les tannins condensés sont des polymères d'unités flavaniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et des flavan- 3,4 diols (Figure 05) (Zimmer et Cordesse, 1996).

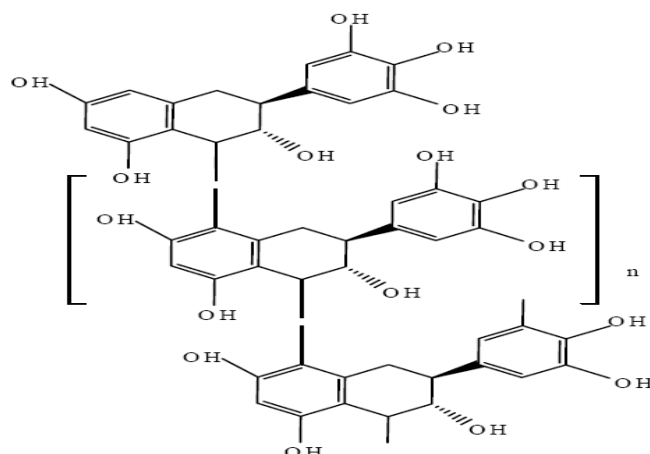


Figure N°05: Exemple de structure d'un tannin condensé (Macheix *et al.*, 2006).

3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005), qui possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (figure 06) (Bruneton, 1999)

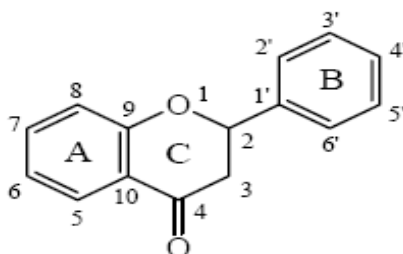
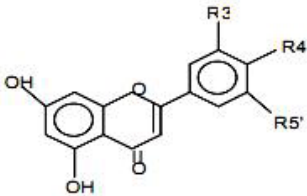
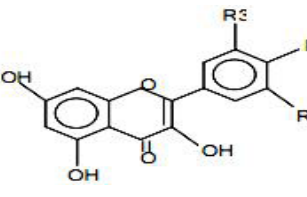
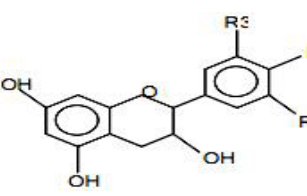
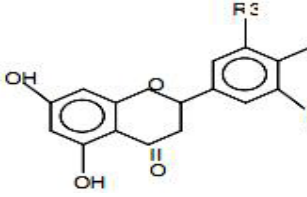
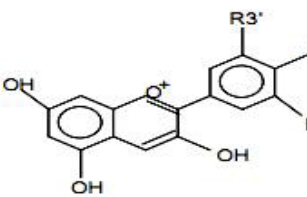
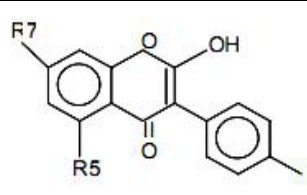


Figure N°06: Structure de base des flavonoïdes (Saraf *et al.*, 2007).

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

Des substituants des cycles A et B donnent naissance à des composés différents à l'intérieur de chaque classe de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent impliquer l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (Balasundram *et al.*, 2006).

Tableau III: Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples (Aruoma *et al.*, 2003).

Classes	Structure chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

II.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydantes synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène

(BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (**Bounatirou et al., 2007**).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (**Makoi et Ndakidemi, 2007**).

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation. Ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dessiner les formes pour éloigner les prédateurs. D'autres sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la Protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies (**Bruneton, 1999**).

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (**Bruneton, 1999**).

II.4. Propriétés biologiques des composés flavonoïdes

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes (**Manach et al., 2004**). Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes (**Bravo, 1998**).

Les flavonoïdes, en particulier, sont impliqués chez les plantes dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse, et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant (**Havsteen, 2002**).

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Tu et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (**Di Carlo et al., 1999**).

I.1. Matériel

Le matériel et les réactifs utilisés dans le but de réaliser les analyses phytochimiques et d'évaluer les activités biologiques sont portés dans l'annexe N°01.

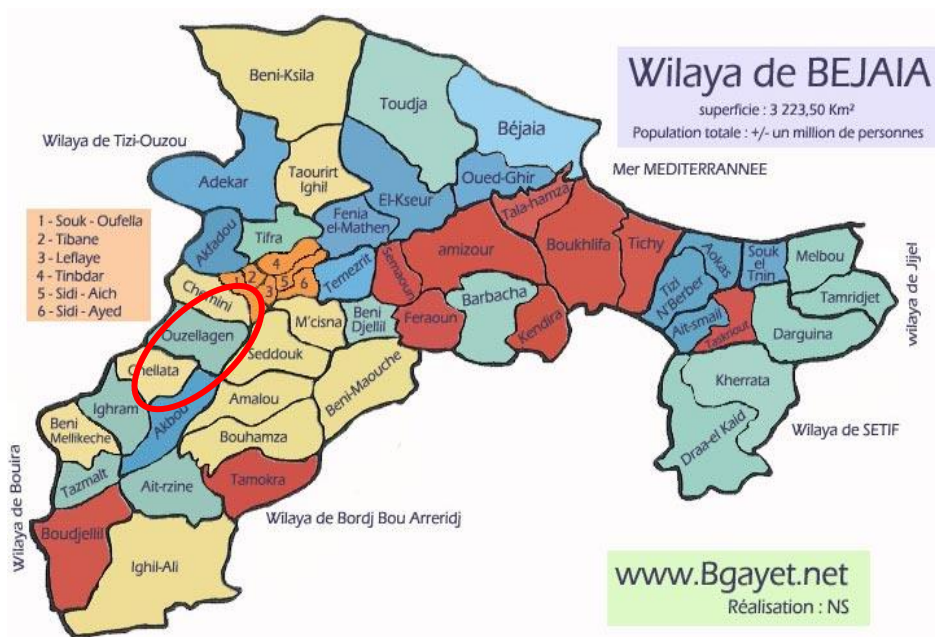
Les préparations des solutions sont portées dans l'annexe N°02.

I.1.1. Préparation du matériel végétal

Notre étude a été portée sur la partie aérienne (feuille, tiges) de la plante médicinale aromatique *Artemisia herba alba*

I.1.2. La récolte

Le matériel végétal a été récolté dans la région rurale d'Akbou dans la wilaya de **Béjaia**, durant la période de floraison et de fructification (Mars, 2014), le moment propice pour la cueillette, loin de la pollution et ceci pour écarter toute modification dans la composition chimique de cette plante (**Figure 07**) (**Quezel et santa ; 1963**).



FigureN° 07: La localisation géographique du lieu de récolte d'*Artemisia herba alba*
(www.Bgayet.net)

I.1.3. Identification de la plante

L'identification de notre plante a été effectuée, au niveau du laboratoire de Biologie Végétale, de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'Université de Bejaïa, et en utilisant la flore des plantes Algériennes (**Quezel et Santa ; 1963**).

I.1.4. Lavage et conservation

Après l'identification de l'espèce récoltée, cette dernière est bien nettoyée et lavée avec l'eau courante afin de se débarrasser de toute poussière et matières étrangères comme le sable, le sol et d'autres impuretés, puis conservée dans un endroit sec et loin de la lumière.

I.1.5. Séchage

Une fois récolté, identifié et nettoyé, notre échantillon est séché à une température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière, pour :

- Obtenir une meilleure extraction
- Uniformiser le taux d'humidité résiduelle de nos échantillons et permettre un meilleur broyage.

I.2. Méthodes**I.2.1. Broyage et tamisage**

L'échantillon séché est réduit en poudre fine $\leq 250 \mu\text{m}$ grâce à un broyeur électrique « IKA A₁₁ Basic ». La poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives dans la poudre.

I.2.2. Préparation des extraits

La présente étude consiste à optimiser le solvant d'extraction des composés phénoliques totaux à partir d'*Artemisia herba alba* en utilisant quatre solvants d'extraction : eau, méthanol, éthanol et acétone,

Une prise d'essai de la poudre végétale (0,4g) est mise en contact avec 50ml de solvant d'extraction. Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique.

Après quatre heures d'agitation à l'abri de la lumière, les mélanges sont filtrés et les extraits obtenus sont conservés à 4°C.

I.2.3. Dosage des antioxydantes

I.2.3.1. Dosage des polyphénols

- **Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMoO_{12}O_{40}$) du réactif du Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{28}) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques contenus dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon et al. 1982**).

- **Mode opératoire**

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Goli et al., (2005)**

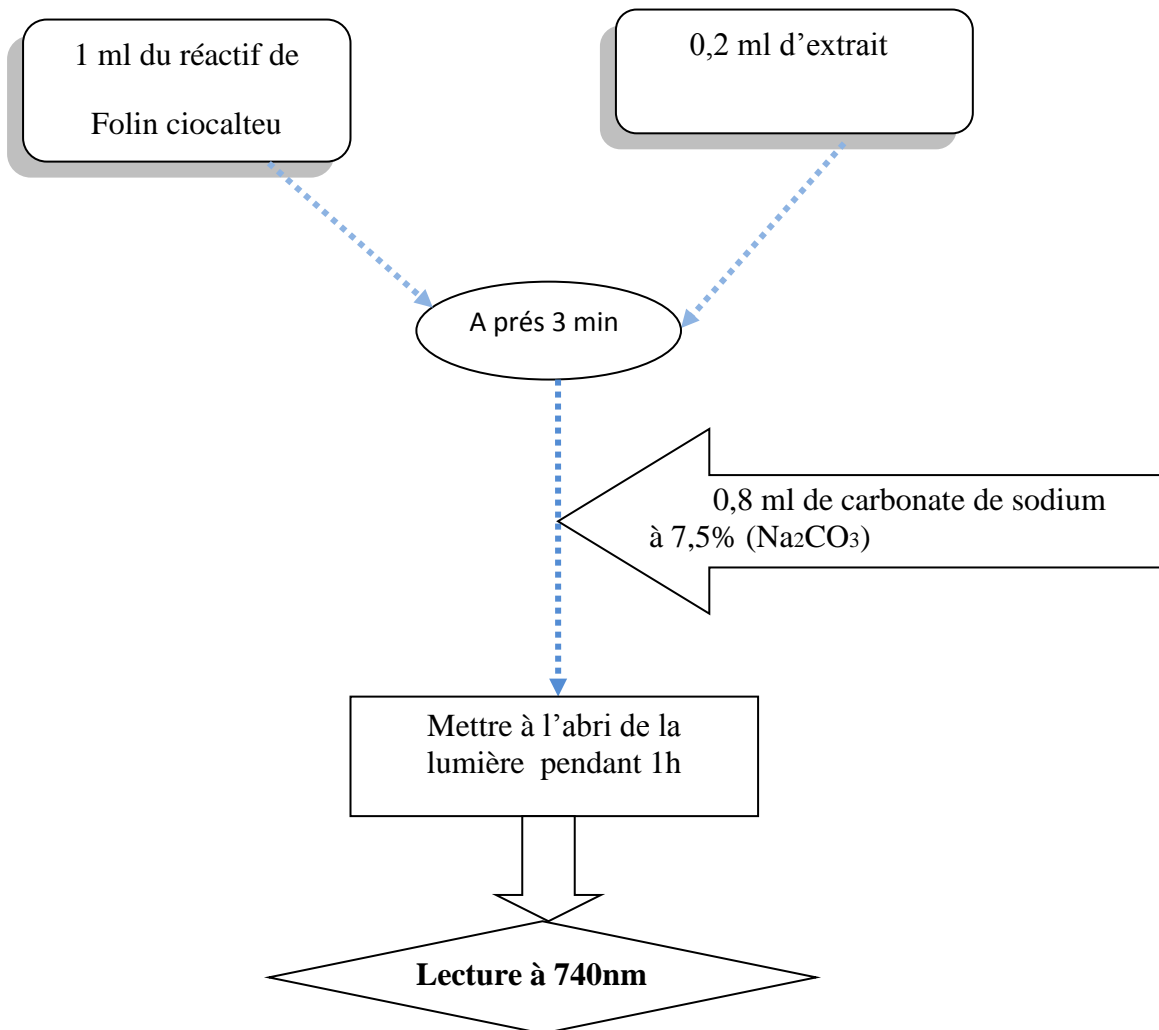


Figure N°08: Protocole de dosage des polyphénols (Goli et al., 2005)

La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en gramme par 100 g de matières sèches, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**Annexe 03, Figure 01**).

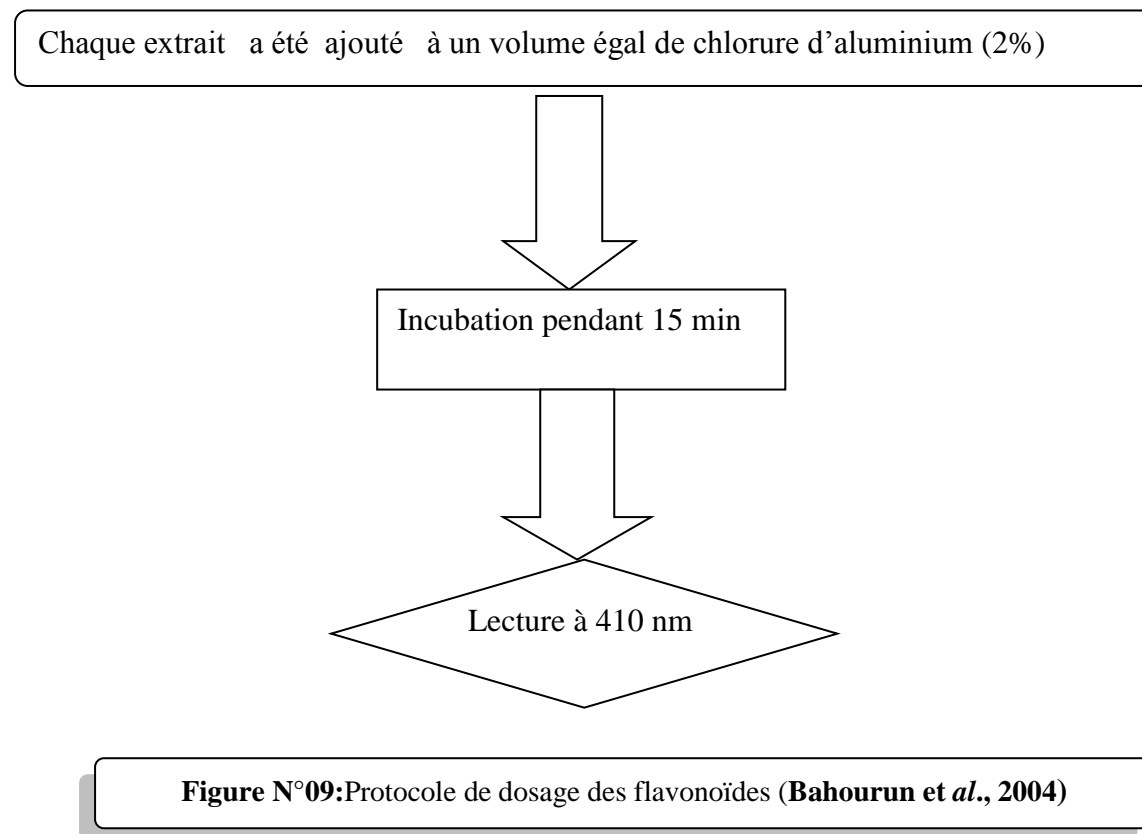
I.2.3.2 Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

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**

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Bahourun et al, (2004)**



Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine par 100 g de matières sèches à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**Annexe03, Figure 02**).

I.2.4. Détermination de l'activité antioxydante

I.2.4.1. Le pouvoir réducteur

- Principe

L'analyse du pouvoir réducteur, d'un antioxydant, est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe^{3+}), en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence des antioxydants réducteurs (Bijoyet *al.*, 2008).

- Mode opératoire

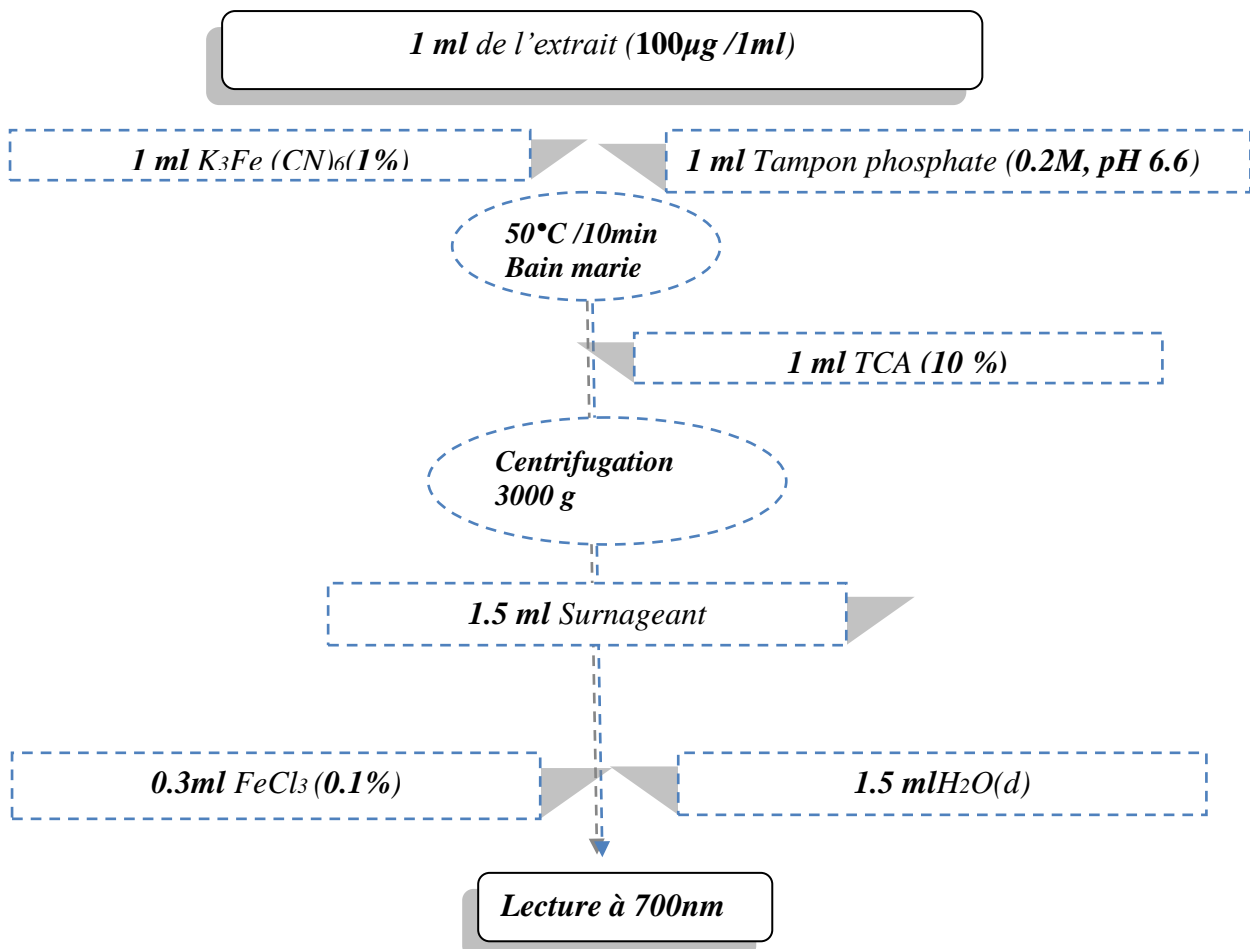
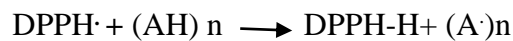


Figure N°10: Protocole d'étude du pouvoir réducteur (Amarowicz *et al.*, 2004)

I.2.4.2 Evaluation de l'activité antiradicalaire par DPPH

❖ Principe :

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense (Cavaret *et al.*, 2009). Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti oxydantes (AH), qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune (Gadow *et al.*, 1997). Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents (kroyer, 2003 ; Es Safi *et al.*, 2007). La réaction peut se résumer de la façon suivante :



• Mode opératoire

Le protocole expérimental utilisé est celui de Shon *et al.*, 2003

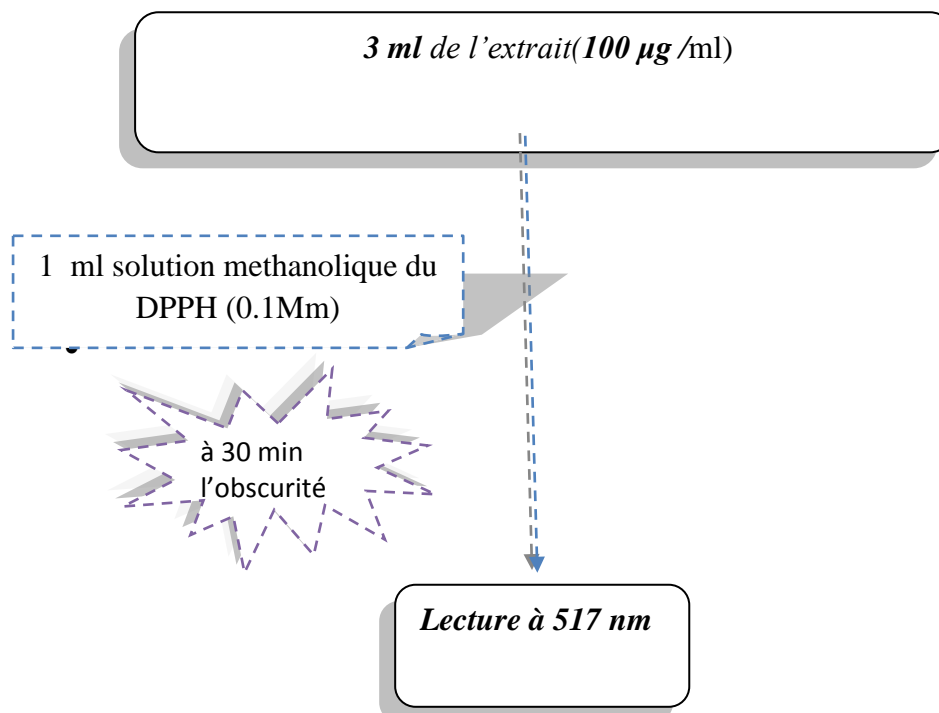


Figure N°11: Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH (Shon *et al.*, 2003)

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100$$

A témoin : absorbance du témoin (3ml méthanol+ 1 ml DPPH).

A échantillon : absorbance de l'extrait (3 ml extrait+1 ml DPPH).

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique et Butyl Hydroxy Anisol (BHA) pris comme antioxydants standards.

Dans ce test on définit la concentration inhibitrice à 50% « **IC₅₀** ».

Les **IC₅₀** sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé (**Torres et al ., 2006**).

I.2.4.3. Evaluation de l'activité antiradicalaire par ABTS

- **Principe**

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (**Re et al.,1999**). La diminution de l'absorbance (% d'inhibition) de la solution de radical cationique ABTS+traduit l'effet de l'échantillon antioxydant par comparaison avec une droite d'étalonnage réalisée à partir de Trolox, dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle du Trolox (**Re et al., 1999**).

- Mode opératoire

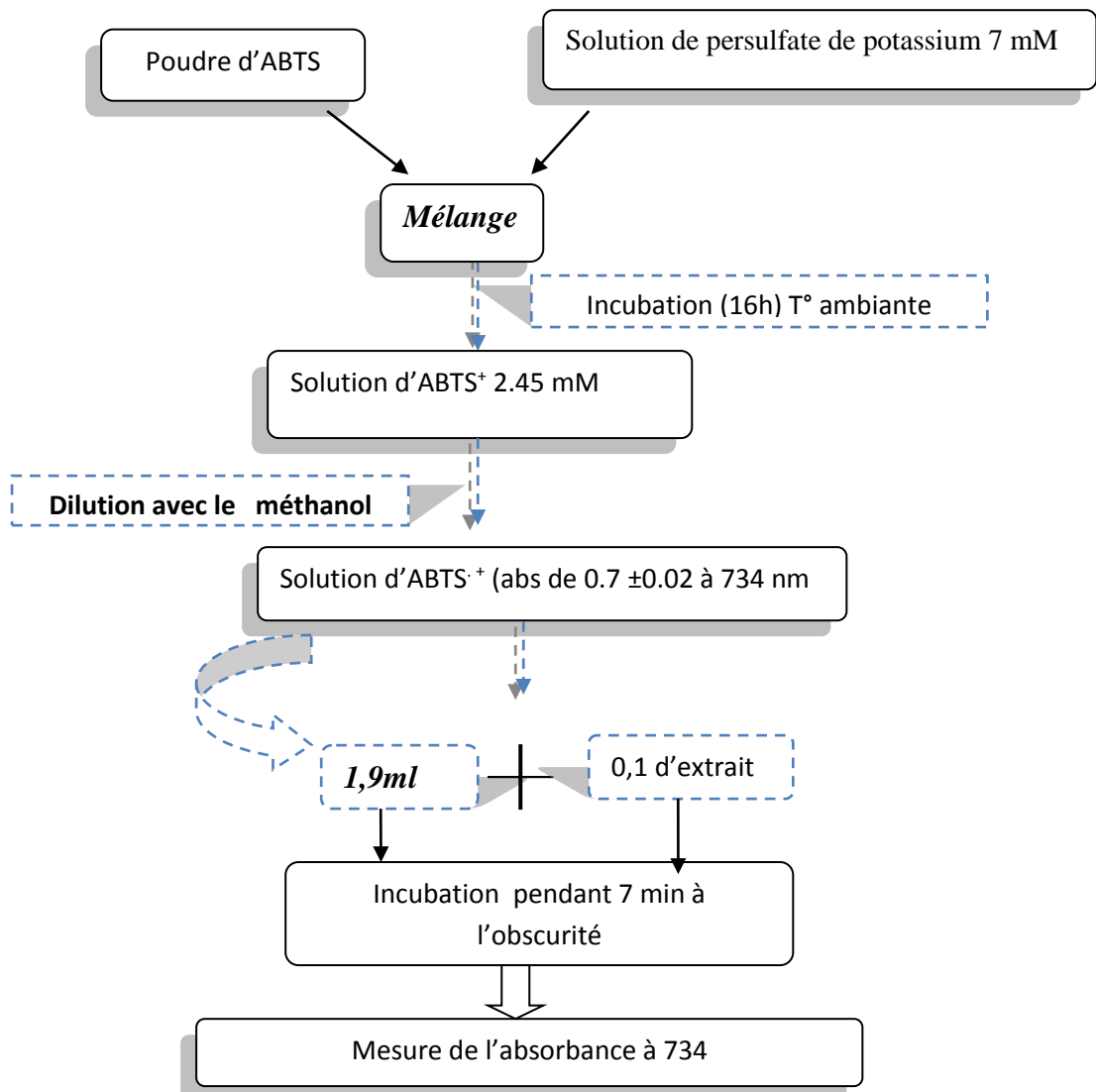


Figure N° 12: Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de l'ABTS^{•+} (Re et al., 1999).

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100$$

A témoin : (1ml de méthanol+1.9ml ABTS).

A échantillon : (0.1ml d'extrait +1.9ml ABTS).

I.2.5. Traitement statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA/MANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité $P < 0,05$.

II. Les antioxydants**II.1. Composés phénoliques**

L'extraction quantitative des composés phénoliques d'une poudre végétal pose plusieurs problèmes, notamment la présence dans les cellules végétales de différents types d'enzymes, susceptibles de modifier les composés phénoliques, en particulier les polyphénols oxydases et les glycosidases. Le séchage du végétal est une bonne méthode pour éliminer les activités enzymatiques mais, la température de séchage peut être un facteur destructeur des polyphénols (**Ribéreau-Gayon, 1968**). D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (**Goli et al.,2005 ; Naczk et Shahidi, 2006**).

Dans le présent travail, on procédé à l'optimisation du solvant d'extraction des composés phénoliques à partir *d'Artemisia herba alba* ainsi qu'à la détermination des activités antioxydantes des extraits obtenus.

Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés sont calculées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexes 03) dans une gamme de concentration allant de 0,02 à 0,14mg/ml.

L'étude statistique montre que la quantité des composés phénoliques extraite à partir *d'Artemisia herbe alba* présente des différences significatives selon le solvant utilisé ($p < 0,05$).

Les résultats sont représentés dans la Figure 13.

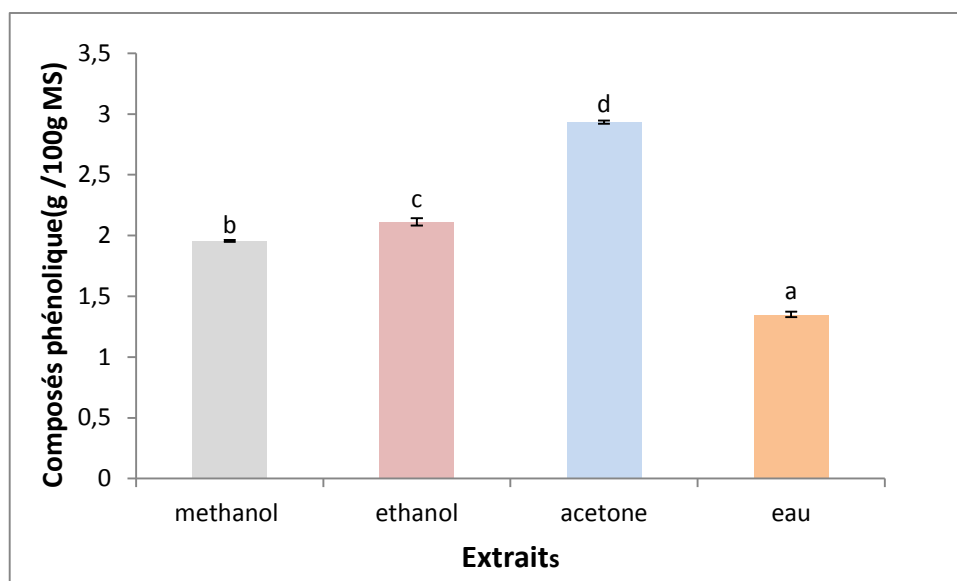


Figure N°13 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d'*Artemisia herba alba*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a < b < c < d$)

Les résultats montrent clairement que la meilleure teneur (2.93g /100g MS) a été obtenue avec l'acétone suivi par le méthanol (2.11g /100g MS) et l'éthanol (1.95g/100g MS). Tandis que l'extrait aqueux présente la plus faible teneur (1.35g/100gMS).

Les substances moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolées quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction (Cazes, 2005). Selon (Chirinos *et al.*, 2007), l'extraction par l'eau pure 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).

La solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant utilisé et le degré de leurs polymérisations (Nacz et Shahidi, 2004). Cependant, ces derniers sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganiques, ...) (Mompon *et al.*, 1996).

Yizhong et collaborateurs(2003) ont démontré que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de certaines plantes de la famille des astéracées (*Arctiuml appa*, *Artemisia annua*, *Artemisia argyiet Artemisia capillaris*), ils ont obtenus des teneurs qui varient de 1.94 à 3.74g EAG /g d'extrait, ces résultats sont similaires à ceux que nous avons obtenus avec l'extrait éthanolique 2.11mg EAC/g d'extrait.

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

Les teneurs en polyphénols diffèrent d'un auteur à un autre. Cela est probablement dû à différents facteurs comme la complexité de ces composés, la variété des plantes (différentes familles), le type et la concentration du solvant, la différence de la période et la région de récolte.

II.2. Les flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes d'*Artemisia herba alba* est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine (Annexe03, Figure 02) dans une gamme de concentrations allant de 0,002 à 0,016mg/ml les résultats sont représentées dans la figure 14.

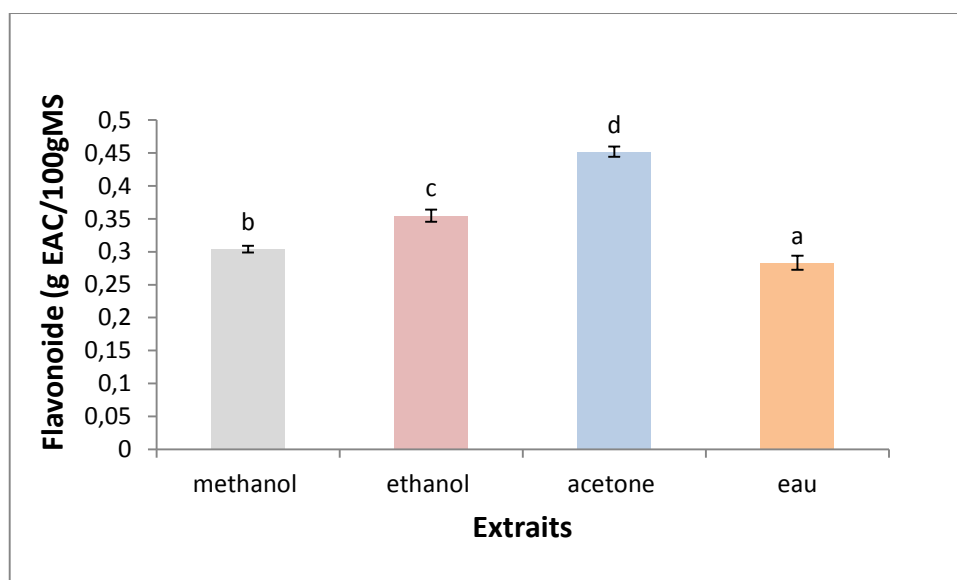


Figure N°14 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a < b < c < d$)

Les teneurs en flavonoïdes des extraits testés varient d'une manière significative ($p < 0,05$)

Suivant les résultats obtenus, l'acétone a permis d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïde (0.45g équivalent quercitine/100g MS). Cependant les plus faibles teneurs ont été trouvées dans le méthanol et l'extrait aqueux dont les valeurs sont égales à (0.30 et 0.28g équivalent quercitine/100g MS) respectivement

Néanmoins, toutes ces valeurs restant assez faibles comparées aux phénols. Cela pourrait être expliqué par le fait que les dosages ont été réalisés à partir des extraits obtenus d'*Artemisia herba alba* sachant que les flavonoïdes se localisent généralement dans les parties aériennes des végétaux vu qu'ils jouent un rôle important dans la protection contre les rayonnements solaires

Djeridane et al.(2006), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de 0,32mg équivalent quercitine /g pour *Artemisia arboresens* et une teneur de 0,74mg équivalent quercitine/g pour *Atemisia compestris* en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction. Ces résultats sont similaires à celle de nos extraits éthanoliques.

La solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (**Lapronik et al .,2005**).

II.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (**Tep et al.,2005**).

Les résultats des pouvoirs réducteurs des extraits d'*Artemisia herba alba* et des standards gallique et ascorbique à une concentration de 100µg/ml sont représentés dans les figure 15 et 16 respectivement.

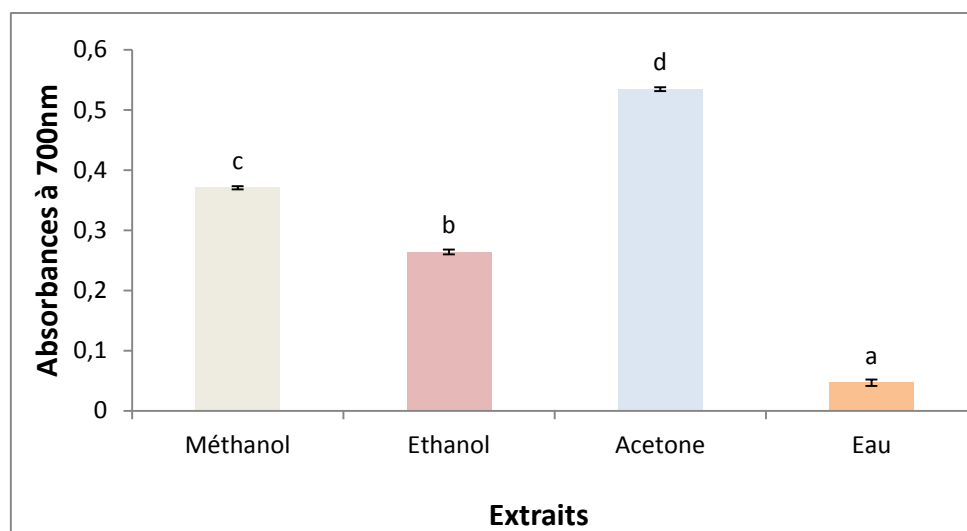


Figure N°15 : Pouvoir réducteur des extrait d'*Artemisia herba alba*

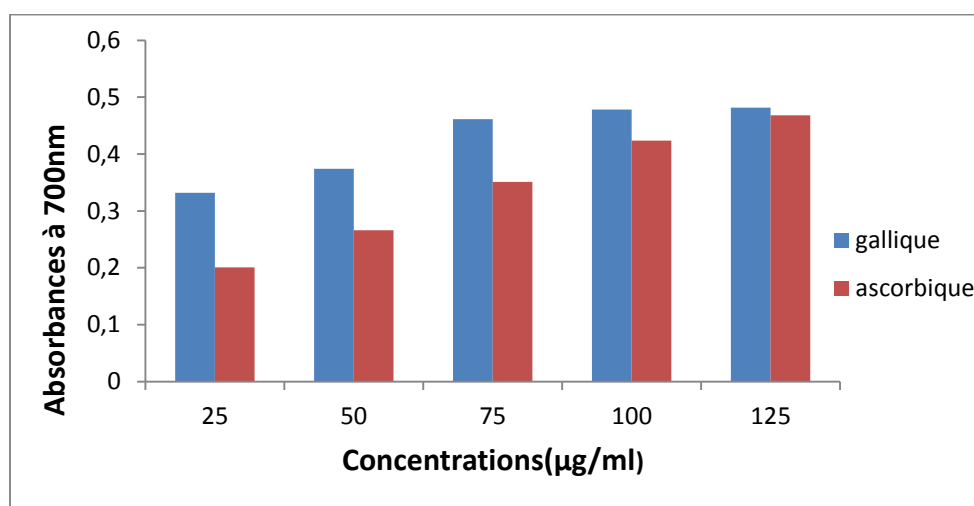


Figure N°16 : Pouvoir réducteur des standards à différentes concentrations

L'analyse statistique indique que les pouvoirs réducteurs obtenus présentent des différences significatives selon l'extrait utilisé ($p < 0,05$).

A partir de ces résultats, nous constatons qu'à la concentration de 100 µg/ml, l'extrait acétonique présente le meilleur pouvoir réducteur avec une absorbance de 0,53 supérieure à celle de l'acide gallique et de l'acide ascorbique avec une absorbance 0,47 et 0,42 respectivement.

A la même concentration (100 µg/ml), l'extrait aqueux présente une faible absorbance de 0,04 qui est inférieure à celle de l'acide gallique et de l'acide ascorbique.

La nature et la concentration des antioxydants modulent l'intensité du pouvoir réducteur ainsi intervient la position et le nombre de groupements hydroxyles.

II.4. Activité scavenger 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).

Les résultats de l'activité scavenging du radical DPPH et les standards sont illustrés dans les Figures 17, 18, 19.

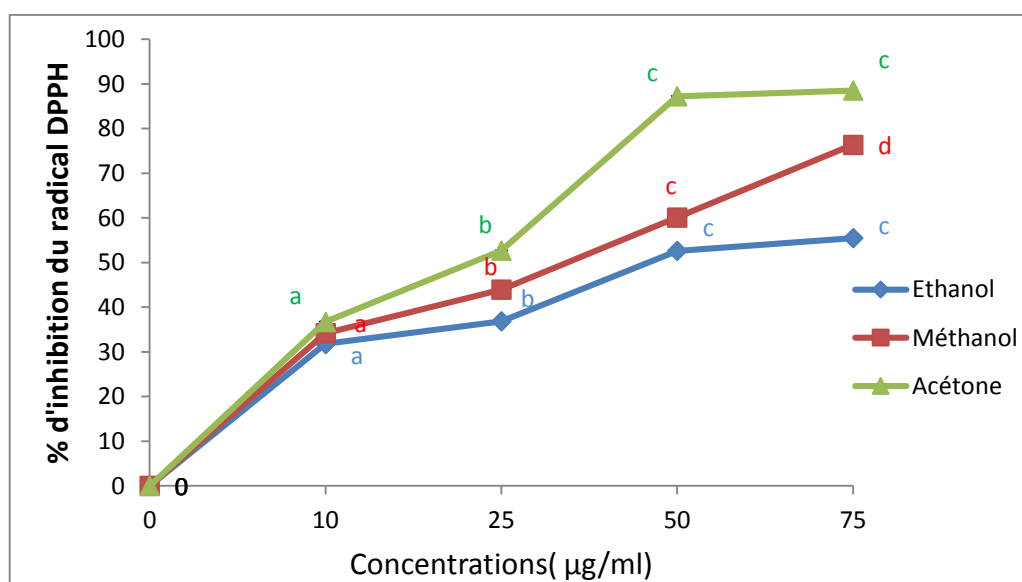


Figure N° 17 : Activité scavenging du radical DPPH des extraits éthanolique, méthanolique et acétonique d'*artémise herba alba*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a < b < c < d$)

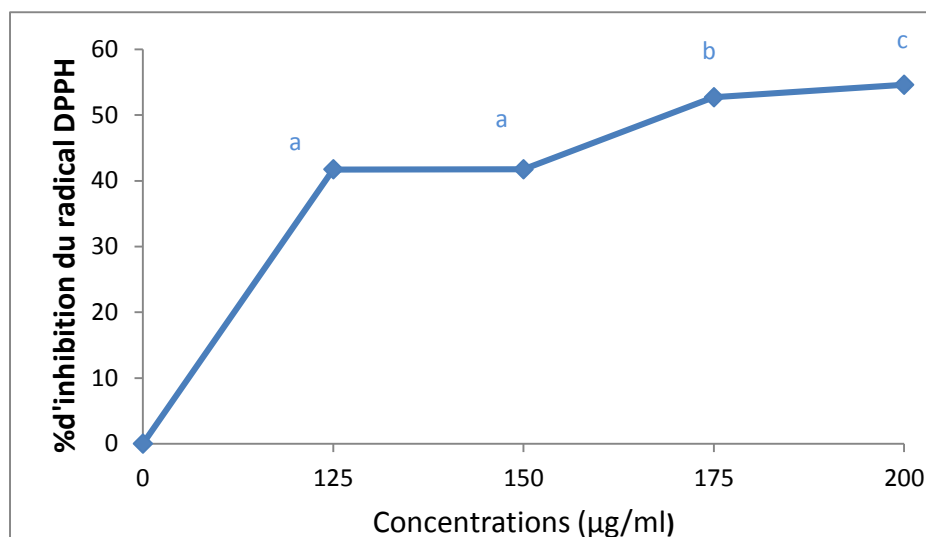


Figure N°18 : Activité scavenging du radical DPPH d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a < b < c < d$)

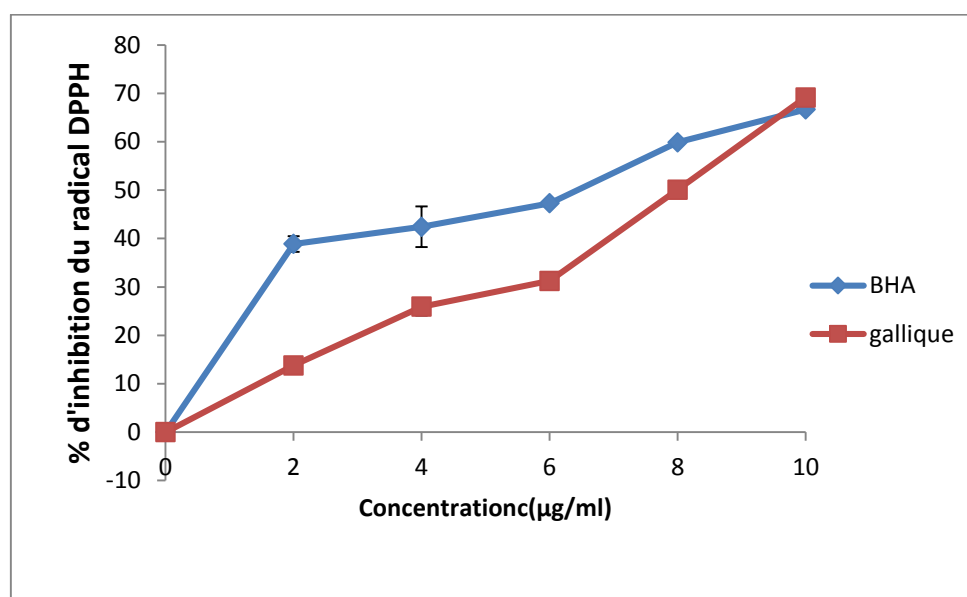


Figure N°19: Activité scavenging du radical DPPH des standards d'*Artemisia herba alba* à différentes concentrations

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a < b < c < d$)

Les analyses statistiques indiquent que tous les extraits ont une bonne activité contre le radical DPPH et présentent des différences significatives selon le solvant utilisé ($p < 0,05$).

Nous constatons que les extraits méthanolique et acétonique à une concentration de 10µg/ml ont permis de donner les activités antiradicalaires avec des pourcentages de (34,21% et 36,76%) respectivement, par contre, l'extrait éthanolique a donné le pourcentage de (32,37 %) largement inférieure à ceux de l'acide gallique et la BHA qui présentent des pourcentages de (69,18 % et 66,66%) respectivement à la même concentration. En revanche, l'extrait aqueux a montré un pourcentage de (54,62%) proche de celles des standards mais à une concentration de (54,54%).

Il est à noter, que c'est l'extrait d'acétone qui a montré la plus forte activité antiradicalaire, ce qui correspond aux résultats du dosage des flavonoïdes, ces molécules étant des puissants agents antioxydants (donneurs d'électrons et de protons).

II.4.1. Détermination des IC50 des extraits et des standards

La valeur IC50 (concentration inhibitrice à 50%) est déterminée pour les extraits et les standards utilisés. Elle est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH, ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour diminuer de 50% l'absorbance de la solution de DPPH. Les IC50 sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (Villano *et al.*, 2007).

Les IC50 des extraits et des standards sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : les IC50 des extraits et des standards.

Extrait	IC50 µg/ml
BHA	6,38
Acide gallique	8,07
Méthanol	33,55
Ethanol	35,04
Acétone	23,65
Eau	173,22

L'extrait de l'acétone a donné une IC₅₀ de l'ordre de 23,65µg/ml, cette valeur est supérieure aux IC₅₀ des standards, néanmoins, ce résultat reste satisfaisant, ainsi on peut considérer l'extrait d'acétone comme un puissant antioxydant .

II.5. Activité scavenger du radical ABTS

L'ABTS est l'une des molécules les plus exploitées dans les études des activités antioxydantes.

L'activité antioxydante d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu en le transformant en ABTS incolore, en présence de proton issu d'un antioxydant (Millers *et al.*, 1993 ; Re *et al.*, 1999)

Les résultats du test ABTS de l'activité antioxydante des extraits d'*Artemisia herba alba* et du standard Trolox à une concentration de 100µg/ml sont représentés dans les Figure 20 et 21 respectivement.

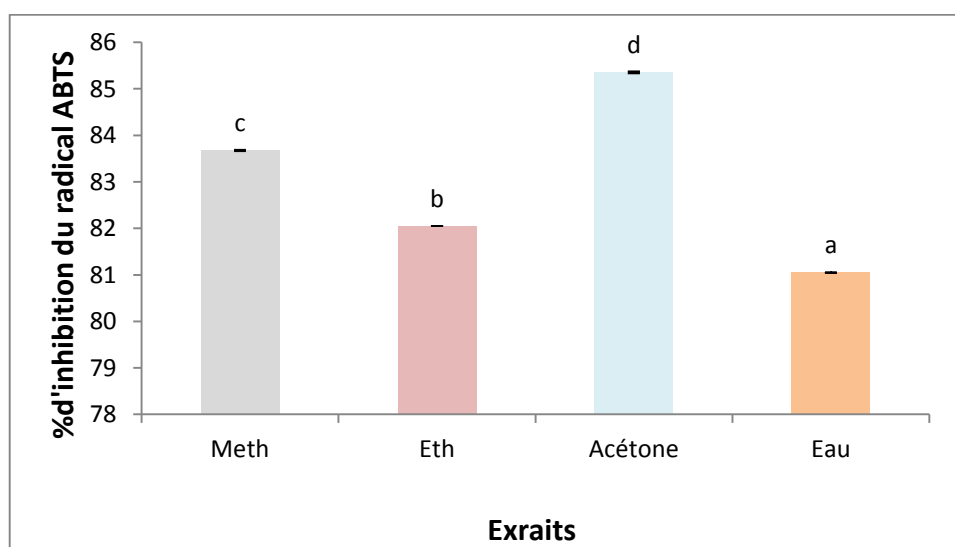


Figure N°20 : Activité scavenging du radical ABTS des extraits d'*Artemisia herba alba*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents (a<b<c<d)

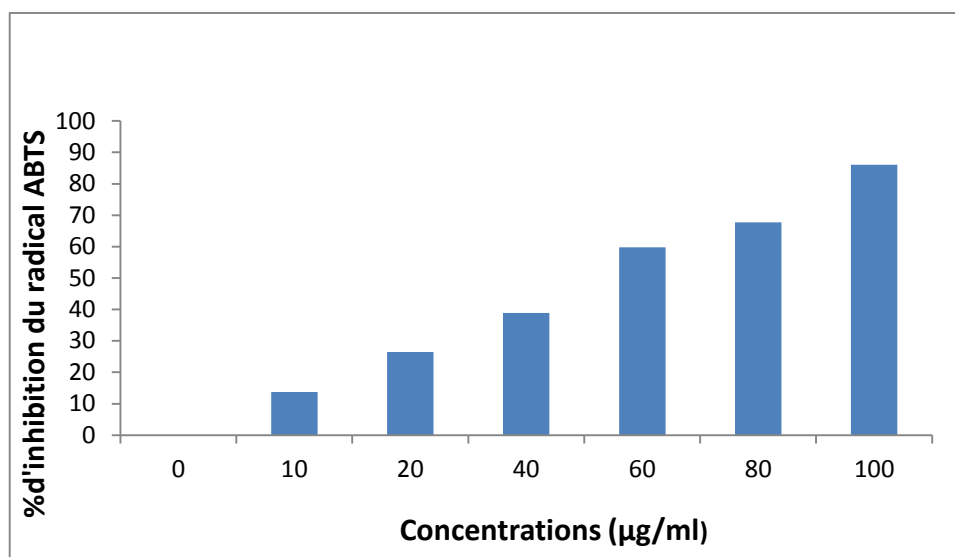


Figure N°21: Activité scavenging d'ABTS et du Trolox à différentes concentrations

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les trois extraits testés.

Nous constatons que tous les extraits présentent une activité antiradicalaire inférieure à celle exprimée par le standard à une concentration de $100\mu\text{g/ml}$.

L'extrait d'acétone a permis de donner l'inhibition la plus importante (85,35%) par comparaison aux autres solvants utilisés.

L'activité antiradicalaire élevée de l'extrait d'acétone pourrait être expliquée par l'aspect cinétique de la réaction de piégeage du radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$, qui est un marqueur de l'efficacité des antioxydants (Re et al., 1999 ; Akerstrom et al., 2007 ; Erken et al., 2008). La capacité antioxydante exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond à la concentration du Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine concentration. Ainsi, plus la valeur de TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (Schlesier et al., 2002).

Les résultats de l'activité scavenger exprimés en TEAC sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : capacités antioxydantes exprimées en équivalent Trolox

Extrait	TEAC (Mm α -Tocophérol)
Méthanol	2,42
Ethanol	2,37
Acétone	2,47
Eau	2,34

Les extraits d'acétone et du méthanol ont montré le TEAC le plus élevé (2,47Mm) et (2,42Mm) respectivement, ce qui implique qu'ils possèdent l'activité anti ABTS la plus efficace.

Ces résultats peuvent être dus au fait que notre plante contient différents types de polyphénols et la synergie entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir antiradicalaire important à piéger l'ABTS⁺.

Conclusion

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

Les résultats du dosage des composés phénoliques, à partir des extraits obtenus, ont clairement montré que l'acétone est le solvant le plus efficace qui présente une teneur de 2.93 g EAG/100g MS.

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que l'acétone a permis d'obtenir la teneur la plus élevée 0.45g équivalent de quercitine/100gMS.

Le pouvoir réducteur montre la plus grande absorbance avec l'extrait d'acétone, qui est supérieure à celle des standards : l'acide gallique et l'acide ascorbique.

L'étude de l'activité antiradicalaire du DPPH a montré que les extraits de méthanol et d'acétone présentent un pourcentage d'inhibition le plus élevé 34,21% et 36,76% respectivement. La comparaison des résultats des IC50 obtenus avec ceux des standards, nous a permis de déduire que l'activité antioxydante de l'ensemble des extraits testés est plus faible par rapport à celle des standards.

L'extrait d'acétone a permis d'inhiber le radical ABTS avec un pourcentage de 85,35% et il a donné la valeur de TEAC la plus élevée par rapport aux autres solvants testés (2,47Mm).

En perspectives, dans le but de compléter ce travail, on propose :

- ❖ D'étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de cette plante.
- ❖ De tester l'effet antimicrobien des polyphénols et des huiles essentielles de *Artémisia herba alba*.
- ❖ D'identifier les principes actifs de cette espèce avec des méthodes chromatographiques.

A

- **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.
- **Akerstrom, B., Maghzal, C.J., Winterboun, C.C., and Kettle, A. J. 2007.** The lipocalin-1-Microglobulin Has Radical Scavenging Activity. *The Journal of Biological Chemistry*. **282(43)**: 31493-3150.
- **Anne-Laure B., Vessela A-P., Jacques G., Barreau C. et Forget-Richard F. 2007.** Analyse de facteur biochimique interagissant dans le processus de biosynthèse des TCTB. *Colloque Fusariotoxines des Céréales-Arcachon*.
- **Aruoma O.I., Bahorun T. and Jen L.S. 2003.** Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*. **544**: 203-21

B

- **Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A. and 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.
- **Balasundram N., Sundram K. and Sammam S. 2006.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. **99**:191-203.
- **Bendjilali B., Richard H. et Liddle P.1984.** Chimotypes d'armoise Blanche du Maroc : *Artémisia herba alba*. 131-151p.
- **Bennick A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*, **13** (2):184-196.
- **Bijoy, M., Jayati, S. et Prabir, K.S. 2008.** Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International*. 41:5586-593.
- **Barati Elbaz et Le Marechal, 2008.** Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **43** : 309 - 311.

- **Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. 2007.** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et link. *Food Chemistry*, **105**, 146-155.
- **Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. **4** (6):7.
- **Bravo L. 1998.** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, **56** (1), 317-333.
- **Bruneton J. ; 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.

C

- **Cavar S., Maksimovic M., Vidic D. & Paric A. 2009.** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Aetemisia annua* L. From Bosnia. *Industrial Crops and Products*. **37**: 479-485.
- **Cazes D-J. 2005.** Encyclopedia of Chromatography In <<Phenolic Acids in Naturel Plants: Analysis by HPLC>>. P1806
- **Chen Y. and Hagerman A.E. 2004a.** Characterization of soluble son-covalent complexes between bovine serum albumin and β -1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-D-glucopyranose by MALDI-TOF MS. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **52**: 4008-4011.
- **Chen Y. and Hagerman A.E. 2004b.** Quantitative Examination of Oxidized Polyphenol-Protein Complexes. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **52**: 6061-6067.
- **Chew Y.L., Lim Y.Y., Omar M. and Khoo K.S. (2008).** Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*, **41**: 1067-1072.
- **Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. , et 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.
- **Cillard J. et Cillard P. 2006.** Mécanises de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *OCL*, volume13, numéro 1, 24-29.
- **Cowan, N.M. 1999.** Plant product as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**(4):564-582.

- **Chu W. L , Lim Y.W, Radhakrishnan A . K. & Lim P. E. 2010.** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementar and alternative Medicine*, **10**(59):2-8
- **Curtay J.-P. et Robin J.M. 2000.** Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*.

D

- **Derbel S. et Ghedira K. 2005.** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et Nutrition*. **1** :28-34.
- **Di Carlo G., MascoJo N., Izzo A.A., Capasso F. 1999.** Flavonoids: olei and new aspects of a class of naturaJ therapelltic drllgs. *Life Sci.*, **65**, 337-353.
- **Djeridane A., yousfi M., Nadjemi,B., Boutassouna, D., Stocker, p ., Vidal,N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97**:654-660.

E

- **Es-Safi, N., Kollmann, A., Khlifi, S. and Ducrot, P.H. 2007.** Antioxydative effect of compounds isolated from *Globularia alypum L.* Structure activity relationship. *L.W.T*, **40**: 1246-1252.
- **Erkan, N., Ayranci, G. and Ayranci, E. 2008.** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*), blackseed (*Nigella sativa L.*) essential oil, car,noisic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food chemistry*. **110**: 76-82.

F

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

G

- **Gadaw, A. V., Joubert, and Hansmann, C. F. 1997.** Comparaison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), *α*-Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **45**: 632-638.
- **Ghedira K. 2005.** Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.
- **Ghrabi Z. and Sand R.L. 2008.** *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49 - 49.
- **Goli A H., Barzeger M and sahari M A. 2005.** Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*. **92**:521-525.

H

- **Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. and Guessous Idrissi N. 2001.** *BSoc Pathol*, **94**: 29-31.
- **Hagerman A.E., Rice M.E. and Ritchard N.T. 1998.** Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin 16 (4f8) catechin (procyanidin). *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **46**: 2590-2595.
- **Havsteen B. H. 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeutics*, **96**, 67-202.

J

- **Jacques B, and André R. 2004.** *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.

K

- **Khanbabaee K. and Ree T.V. 2001.** Tannins: Classification and definition. *Natural Products Rep.*, **18**: 641-649.
- **Koivikko R., Loponen J., Honkanen K. and Jormalainen V. (2005).** Contents of soluble, cellwall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology*, **31** (1): 195-212.

- **Koivikko R., Loponen J., Eränen J.K. and Jormalainen V. (2008).** Variation of phlorotannins among three populations of *Fucus vesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification. *Journal of Chemical Ecology*, **34**: 57-64.
- **Kroyer , G.T. 2003.** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient innovative. *Food Science and Emerging Technologies*, **5**: 101-105.

L

- **Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. 2005.** Comparaison of extracts prepared from plant by- products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. **71**: 214-222.
- **Liyana-Pathirana C. M., and Shahidi F. 2005.** Antioxydantproprietes of commercial soft and hard winterwheats (*Triticumaestivium*L.) and their milling fractions. *J. Sci. of Food and Agriculture*. **86**: 477-485.

M

- **Macheix J.J., Fleuriet A et Sarni-Manchado P. 2006.** Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition *Technologie et document*. Paris, 380-398.
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Jimenez, L. 2004.** Polyphénols: food sources and bioacvailaability. *American Society for Clinical Nutrition*. **79**.727-747.
- **Makoi J.H.J.R., Ndakidemi P.A. 2007.** Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, **6**(12), 1358-1368.
- **Marc, F., Davin,A., Benbrahim, L.,Ferrand, C., Frich, P. 2004.** Méthodes D'évaluation du pontentiel antioxydant dans les aliments, *Médecine Science*.**20**:485-436.
- **Marco J.A. (1989).** Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **28**: 3121-3126.
- **Martin S. et Andriantsitohaina R. 2002.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**: 304-315.
- **Martinez-Cayuela M. 1995.** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem*.**77**: 147-161.

- **Maurice Nicole . 1997.** De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle, Ed : Lavoisier, Paris, 12-14.
- **Miller N. J., Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A. 1993.** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. **84**:407-412.
- **Mohamed H., El-Sayed M.A., Hegazy M.E., Helaly S.E., Esmail A.M. and 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.
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M. 1996.** Extraction des polyphénols Du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA (Bordeaux,France). 267p.
- **Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J. p et Canaud, B. 2002.** Stress oxidant, hémoincompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*. **5** : 201-208.

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 p.
- **Naczk M. et Shahidi F. 2006.** Phenolic in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**:1523-1542.
- **Naczk M. and Shahidi F. 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**: 95-111.
- **Nicholson R. et Vermerris W. 2006.** Phenolic compound biochemistry. *Edition :Springer*. New York. 01-48.
- **Nikolova M., Gussev C.H. and Nguyen T. 2010.** Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnol*, 21-23.

P

- **Pastre, J.O.C. 2005.** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120p.

- **Pinicemail J., Karine, B., Karine, C. et Jean-Olivier D. 2002.** Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. Physiological Action of Antioxydant Defences. *Nutritio Clinique et métabolisme*. **16**(6) :233-239.

Q

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

R

- **Rahim A.A., Rocca E., Steinmetz J., Kassim M.J., Ibrahim M.S. and Osman H. (2008).** Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, **107**: 200-207.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggebnte A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. 1999.** Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Science Inc.* **26**:1231-1237.
- **Ribéreau-Gayon P. 1968.** Notion générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. PP :1-27.
- **Ribéreau-Gayon P. 1982.** Notions générales sur les composés phénolique, méthodes générales d'études des composés phénoliques. In composés des végétaux. *Ed. Dunod*, Paris. P: 173-201.

S

- **Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I. and Abou-Zaid M.M. 1987.** Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **26**: 3059–3064.
- **Salah S.M. and Jager A.K. 2005.** Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol*, **97**: 145–149.
- **Saraf S., Ashawat S. M. and Saraf s. 2007.** Flavonoids: A nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages. *Pharmacognosy reviews*, **1**(1).
- **Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V. & Bitsch, R. 2002.** Assessment of antioxidant activity by using different invitro methods. *Free Radical Research*, **36**:177-187.
- **Shon M. Y., Kim T. H., Sung N. J. ,2003.** Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry* **82** 593–597.

T

- **Tang S. Y. et Halliwell B. 2010.** Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.
- **Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. and Tastekin A. 2006.** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, **50**: 235-238.
- **Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. et 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. et Polissiou M. 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. **90**:333-340.
- **Toth B.G. and Pavia H. (2001).** Removal of dissolved brown algal phlorotannins using insoluble polyvinyl polypyrrolidone (PVPP). *Journal of Chemical Ecology*, **27** (9): 1899-1910.
- **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 toxins isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *Toxicon*;(**40**),p: 885-891.
- **Toor R. and Deng Z. 2006.** Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*. **812**: 85-99.
- **Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J. 2007 .**Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, **55**(24), 9969-9976.

V

- **Valko M., Rhodes C.J., Moncol J. , Izakovic M. et Mazur M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. **160**:1-40.
- **Villano, D., Fernandez-Pachon, M. S., Moya, M. L., Traoncoso, A. M. and Garciparrilla, M. C. 2007.** Radical scaenvenging abityl of phénolic compods towards DPPH free radical. *Talanta*. **71**: 230-235.

W

- **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. and Xu Q. 2008.** Antiinflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J Ethnopharmacol*, **120**: 1–6.
- **Yizhong Caia., Qiong Luob., Mei Sunc. Et Harold Corkea. 2003.** Antioxidant acivity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Lif Sciences*.**74**:216-2161.

Z

- **Zimmer N. et Cordesse R. 1996.** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des rumaniments. *INRA productions animales*, **9**(3) :167-179.
- **Référence numérique :** hh/ :www.Bagayet.net.

Annexe n°1 : produit et matériel utilisés

1. Appareillage :

- Agitateur
- Balance analytique RADWAG
- Balance de précision RADWAG
- Barreau magnétique
- Bain-marie
- Béchers
- Broyeur électrique
- Bain Marie
- Centrifugeuse
- Cuve
- Papier aluminium.
- Papier filtre Wattman.
- pH mètre
- Spectrophotomètre UV visible
- Tamis.

2. produits chimiques :

- Butyl Hydroxy Anisole (BHA) ;
- Eau distillé(H_2O_D) ;
- Acide trichloracétique(TCA) ;
- Chlorure de sodium (NaCl) ;

Annexe n°2

-Diphénylepicryl-hydrazyle(DPPH) ;

-Ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$)

-Méthanol

Ethanol

Acétone

-Poudre d'ABTS pour préparer la Solution de l'ABTS⁺ ;

-Tampon phosphate ;

-Trolox.

-Quercétine

-Folin Ciocalteu

3. Préparation des solutions :

Préparation de tampon phosphate à pH=6,6

- K_2HPO_4 :13,608g /500ml d' H_2O_D .

- KH_2PO_4 :11,997g/500ml d' H_2O_D .

Préparation de ferricyanure de potassium:

-Ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à1% :1g/100ml d' H_2O_2 .

Préparation de l'acide trichloracétique :

-Acide trichloracétique(TCA) à1% :10g/100ml d' H_2O_2

Préparation ABTS(pour 7Mm):

-72mg d'ABTS+20ml d'eau distillée → Agitation

-Ajout de 13,24mg de persulfate de potassium, bien agiter

-Incubation durant 12 à 16h à T° c ambiante à l'abri de la lumière

-Mettre au réfrigérateur pour arrêter la réaction.

Annexe n°3

Courbes d'étalonnages

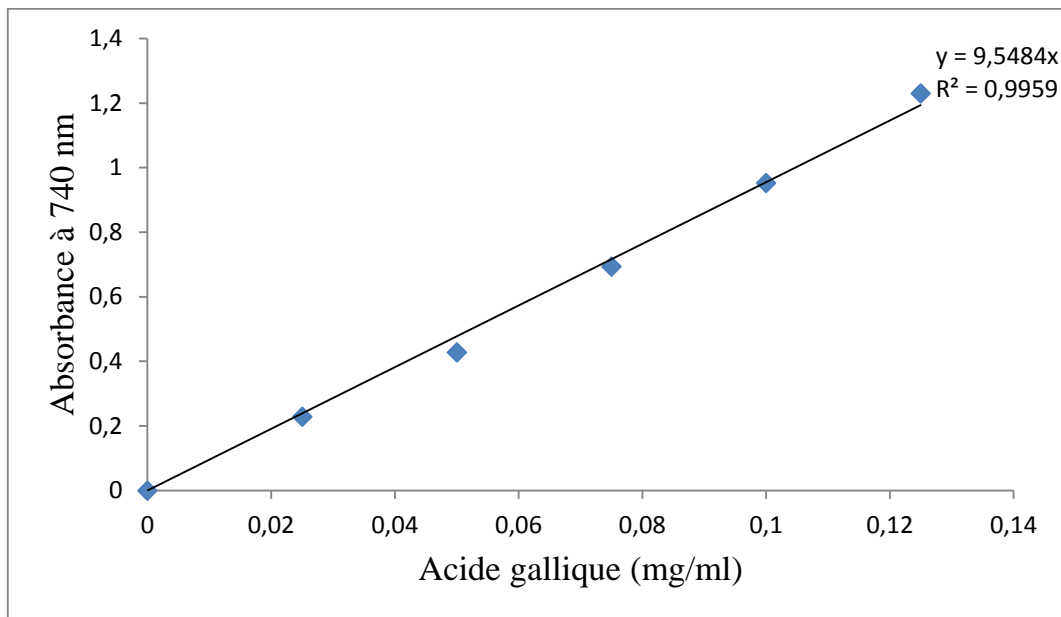


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques

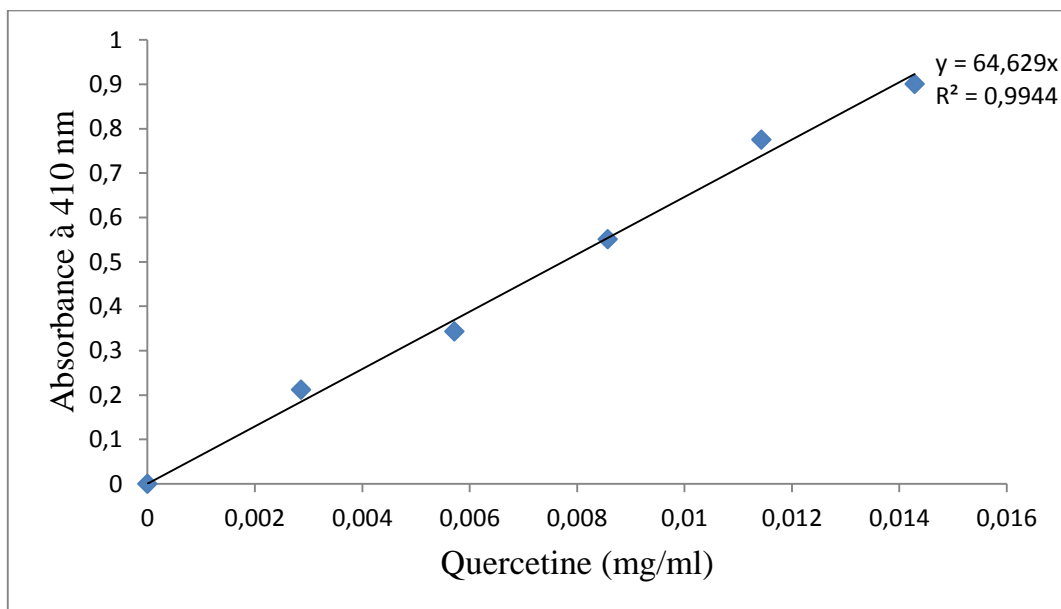


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Annexe n°4

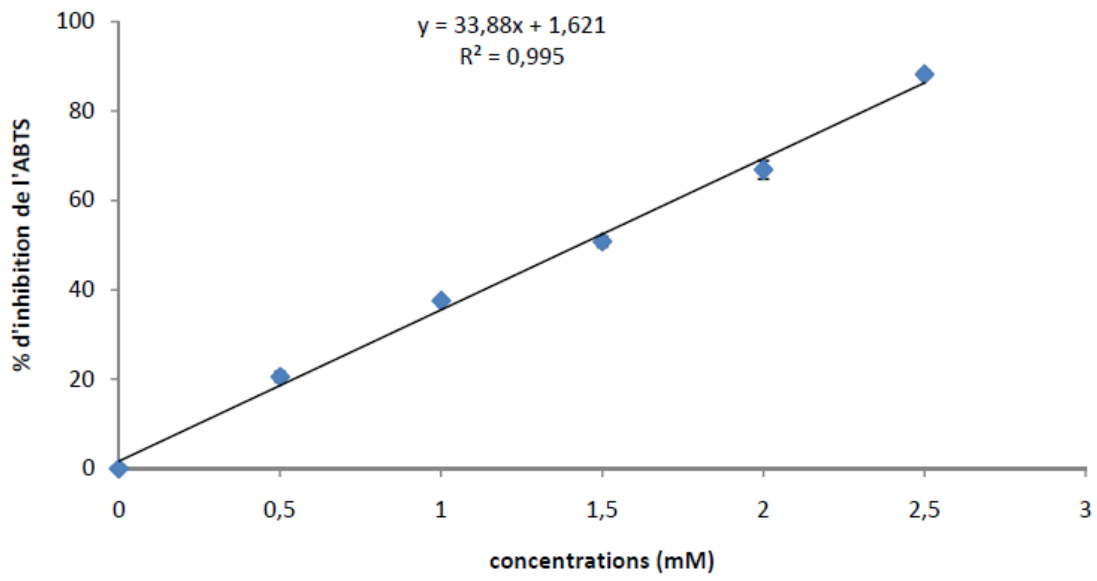


Figure 03 : Courbe d'étalonnage de Trolox.

La plupart des définitions des termes ont été pris à partir du dictionnaire **Le petit Larousse et la rousse : encyclopédie des plantes médicinales**

Aromatique : se dit d'une plante odorante, à huile essentielle le plus souvent.

Annuelle : plante vivant une seule année, celle de son semis. Elle grandit, fleurit, fructifie et meurt en l'espace d'un an.

Dressé : un organe ou une plante s'élevant verticalement.

Hermaphrodites : (grec : Hermaphrodite, nom mythique) : se dit d'une fleur portant androcée et gynécée fonctionnels, c'est-à-dire bisexuée.

Pubescentes : Couvert de poils doux et très fins.

Sessiles ou subsessiles : Se dit d'une feuille ou d'une fleur ayant une implantation fixe dépourvue de pétiole ou de pédoncule

Steppique : Formé de steppes

Steppe : formation discontinue de végétaux de petites tailles, adaptés aux milieux sec, souvent herbacés, des régions méditerranéennes subarides, des régions tropicales ou de celle de climat continental à hivers très froids et à étés très secs.

Hermaphrodite : Qualifie une fleur qui porte des organes mâles et des organes femelles, tous fonctionnels.

Glossaire médicale

Ascaris : est un ver rond parasite, qui provoque l'ascaridiose.

Emménagogues : des plantes médicinales qui stimulent le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus.

Glanduleux : pourvu d'une ou plusieurs glandes.

Phytothérapie : traitement de certaines maladies par plantes.

Vitamine : Substance azotée indispensable, en doses infinité simales au métabolisme de l'organisme.



Chapitre I
Matériel végétal

Chapitre II

Radicaux libres et antioxydants

Chapitre III

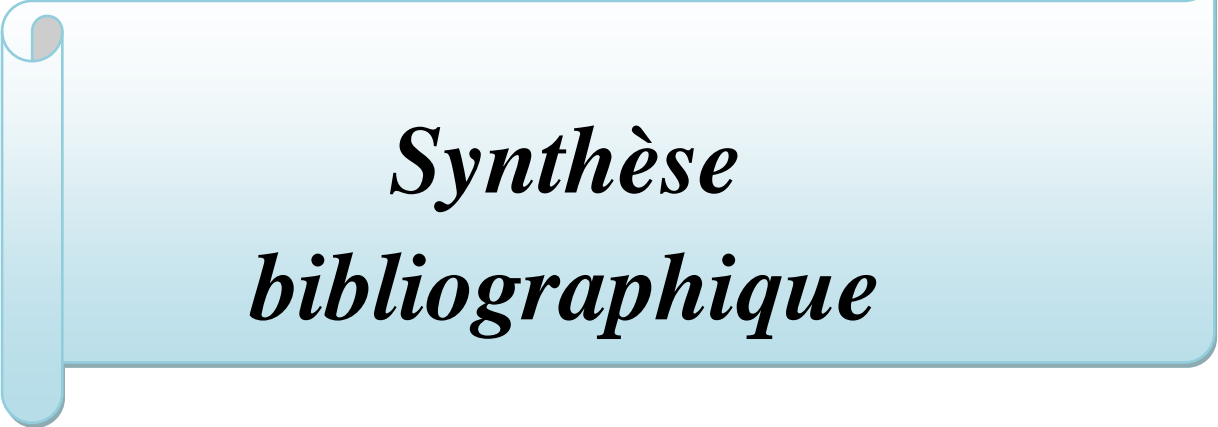
***L'extraction des alcaloïdes et leur activité
antioxydante***



Conclusion et perspectives



Introduction



*Synthèse
bibliographique*



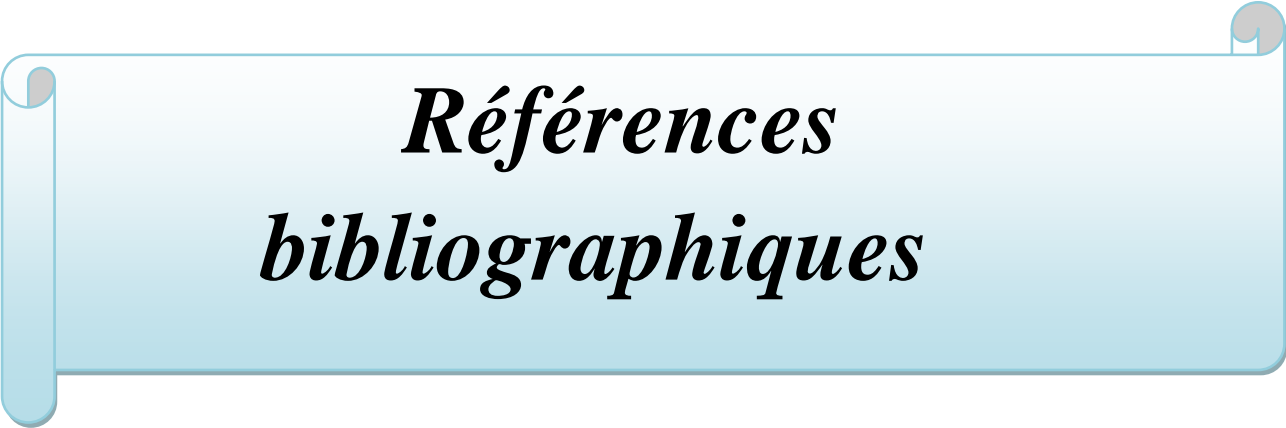
Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes



Chapitre II
Résultats et discussion



***Références
bibliographiques***



Annexes



Glossaire



Sommaire