



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE de TLEMEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de Biologie

*Laboratoire Antibiotiques Antifongiques :
Physico-chimie, synthèse et activité biologique*

Présenté par

Mme SLIMANI Sara et Mme HAMMOU Sabira

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En BIOCHIMIE APPLIQUEE

Thème

***Recherche in vitro de l'activité antioxydante et antidiabétique
de l'extrait eau-acétone d'Artemesia herba alba (Asso)
.Armoise blanche.***

Soutenu le :21-07-2021 devant le jury composé de :

Examinatrice 1	Dr. MEDJDOUB H.	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice 2	Dr. AMAMOU. F.	MCB	Université de Tlemcen
Encadrant	Dr. BENARIBA N.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

REMERCIEMENTS

Même si parfois les mots perdent son éclat à côté de la profondeur des sentiments, il faut pourtant les concrétiser en remerciements pour honorer tous ceux qui ont aidé ce travail.

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu, le tout puissant de m'avoir guidé, aidé et donné le courage et la force pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur **Dr. Benariba N.**, Maître de conférences au Département de Biologie faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'univers, à l'Université de Tlemcen, pour ces conseils précieux, sa sincérité, ainsi que sa gentillesse, qui nous a accompagné et guidé tout au long de la formation agréable et la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier notre examinatrice **Dr. Madjdoub H.**, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nous tenons également à remercier notre examinatrice **Dr. Amamou F.** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent à **Mlle Fekhikher Z.** et **Mlle Benramdane H.**, doctorantes en biochimie pour leur aide, leur présence, et leurs précieux conseils au cours de la réalisation de la partie expérimentale du travail.

Nos sincères remerciements s'adressent à **Mme Zazoua L.**, **Mr Ferouani M.** et **Mr Habi S.**, ingénieurs des laboratoires de pédagogie de biochimie au département de biologie, pour leur disponibilité et leur aide au cours de la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Avant toute chose je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé,
la patience et le courage pour réaliser ce travail.*

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail

*à mes parents, qui m'ont toujours encouragé et conseillé, tous les mots ne
puissent exprimer mon amour et mon respect*

À mon mari qui m'a beaucoup encouragé tout au long de ce travail.

Merci d'avoir montré beaucoup de patience avec moi durant les moments les

Plus stressants, merci pour ta fidélité et ta gentillesse

A mon frère et ma sœur

A mon petit prince

A mes beaux parents

A mon encadreur Dr. BENARIBA Nabila

*À mon binôme Sabira j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi de
notre travail.*

Sara

Dédicaces

A ma très chère mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, ton encouragement, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon père décédé trop tôt, j'espère du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A mon cher mari

A mon cher mari Salah Eddine d'avoir donné un sens à ma vie, merci pour ton amour, et tes encouragements qui ont toujours été pour moi d'un grand réconfort, pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitude.

A ma petite fille Malak

Aucune dédicace, ne peut valoir pour exprimer toute ma tendresse et mon affection vis-à-vis d'elle, ma princesse car le fait de savoir qu'elle est là me donner davantage le courage et la volonté de mener à bien mes travaux.

Puisse le bon DIEU daigne le faire grandir dans la sagesse, la bonne santé et l'intelligence nécessaire.

A ma chère sœur et son mari

Pour son soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes frères, Mehdi et Salim

A mon cher oncle Mohammed

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A mes beaux parents

Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu vous donne une longue vie et une bonne santé merci pour votre soutien et encouragement.

A mes belles sœurs : Fatima Zohra, khatima, Zahra et rahima

A tous mes collègues de la promotion 2020-2021

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance. Sans oublier mon binôme Sarra pour son soutien de moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Sabira

Liste des figures

Figure n°01 : la balance entre les ERO et les antioxydants.

Figure n°02 : origines du stress oxydant

Figure n°03 : Neutralisation des radicaux libres par les antioxydants.

Figure n°04: Source de la production des radicaux libres.

Figure n°05 : structure des eudesmanolide.

Figure n°06 : structure la quercitrine-3-glucoside.

Figure n°07 : structure de base des flavonoïdes.

Figure°08: *Artemisia herba alba*: (A) la plante au début de la saison de floraison, (B) la plante à la fin de la saison de floraison.

Figure n°09 : *Artemisia herba alba* sèche (Photo prise au laboratoire).

Figure n°10 : Montage d'extraction à chaud sous reflux d'*Artemisia herba alba*.(Photo prise au laboratoire).

Figure n° 11 : Filtration de décocté d'*Artemisia herba alba*.

Figure n° 12 : Organigramme explicatif de la préparation de l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba*

Figure n° 13 : Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH).

Figure n°14 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

Figure n°15: Courbe étalon de la catéchine .

Figure n°16 : Courbe étalon de l'acide gallique.

Figure n°17 : Effet de l'acide ascorbique d'*Artemisia herba alba* sur la réduction du DPPH.

Figure n°18 : Effet de l'extrait d'*Artemisia herba alba* sur la réduction du DPPH,

Figure n°19 : Effet de BHA *d'Artemisia herba alba* sur la réduction du fer FRAPP.

Figure n°20 : Effet de l'extrait *d'Artemisia herba alba* sur la réduction du fer FRAPP.

Figure n°20: Effet de l'extrait *d'Artemisia herba alba* sur l'activité alpha amylase.

Figure n°21 : Effet de l'acarbose *d'Artemisia herba alba* sur l'activité alpha amylase.

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Différents types des espèces réactives.

Tableau n°02 : Effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la réduction du DPPH.

Tableau n°03 : Effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur quelques activités biologiques.

Tableau n°04: Classification d'*Artemisia herba alba*.

Tableau n°05 : Dosage de polyphénols totaux dans l'extrait d'*Artemisia herba alba*.

Tableau n°06 : Dosage de flavonoïdes totaux dans l'extrait d'*Artemisia herba alba*.

Tableau n° 07 : Mesure de l'activité anti radicalaire des extraits d'*Artemisia herba alba* par la méthode de DPPH.

Tableau n°08: Mesure du pouvoir réducteur du fer par les extraits d'*Artemisia herba alba*.

Tableau n°09: Evaluation de l'effet de l'extrait d'*Artemisia herba alba* sur l'activité alpha amylase.

Tableau n°10 : Caractéristique d'extraits d'*Aertemisia herba alba*.

Tableau n°11 : Taux de polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits d'*Aertemisia herba alba*.

Tableau n°12 : Effet antioxydant de l'acide ascorbique et l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba* sur le DPPH exprimé en pourcentage et IC50.

Tableau n°13 : Effet antioxydant de BHA et l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba* sur le FRAPP exprimé en pourcentage et EC50.

Tableau n°14: Effet de l'acarbose sur l'activité d' α -amylase exprimé en pourcentage d'inhibition et IC50.

OH•: Radicale hydroxyle

ONOOH: Peroxynitrite

PG : la gallate propylée

Ps: poids sec.

RNS: Espèces Réactives Nitrogénée

RO•: Radical alkoxyde

ROO•: Radicale peroxyde

ROOH: peroxyde organique

RL: radicaux li

SOD : Superoxyde dismutase

¹O₂: Oxygène singulet

µg EC/mg E : microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait

µg EAG/mg E : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

mg EAG/g E : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

Sommaire

Introduction.....	01
Synthèse bibliographique.....	02
Matériel et méthode.....	14
Matériel végétal	14
Analyse phytochimique.....	14
Préparation de l'extrait eau-acétone.....	15
Calcul du rendement de l'extraction.....	16
Dosage des composées phénoliques.....	18
Dosage de polyphénols totaux.....	19
Principe.....	19
Mode d'opération.....	19
Dosage des flavonoïdes totaux.....	19
Principe.....	20
Mode d'opération.....	21
Evaluation de l'effet antioxydant de l'extrait <i>d'Artemisia herba alba</i>	21
Test de piégeage de radical libre DPPH.....	21
Principe.....	21
Mode d'opération.....	22
Test du pouvoir réducteur du fer FRAPP.....	22
Principe.....	23
Mode d'opération.....	23
Evaluation de l'effet d'extrait <i>d'Artemisia herba alba</i> sur l'activité alpha amylase.....	24
Principe.....	24
Préparation des réactifs.....	25
Solution d'enzyme : alpha amylase.....	25
Solution de substrat : amidon soluble.....	25
Réactif 3,5-dinitrosalicylique acide (DNSA).....	25
Solution d'acarbose.....	25
Solution de l'extrait.....	25
Mode d'opération.....	26
Résultat et interprétation.....	27

Rendement d'extraction.....	27
Taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux.....	27
Activités antioxydantes.....	28
Test de piégeage de radical libre DPPH.....	29
Test de réduction du fer FRAPP.....	30
Effet d'extrait d' <i>Artemisia herba alba</i> sur l'activité alpha amylase.....	31
Discussion.....	33
Conclusion.....	36
Références	37
bibliographiques.....	

Résumé

L'armoise blanche « *Artemisia herba alba* » est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracées, connue sous le nom vernaculaire « Chih ». Elle est très répandue dans le sud algérien, et très utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus.

L'objectif de ce travail est d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante et antidiabétique de l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba* préparé par une décoction sous reflux.

Le dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux a montré une teneur élevée de l'ordre de 542,7 µg EAG/mg E et 267,28 µg EC/mg E, respectivement. En ce qui concerne l'étude de l'activité antioxydante, en utilisant la méthode de piégeage du radical DPPH et de réduction du fer (FRAP) nous avons révélé une importante activité avec des valeurs de IC₅₀ de 30,51 µg/ml et d'EC₅₀ égale à 128,88 µg/ml, respectivement. L'extrait eau-acétone a montré *in vitro* une activité antidiabétique remarquable en inhibant l'activité de l'α-amylase, dont la valeur d'IC₅₀ est de 606,18 µg/ml. L'activité antioxydante (FRAP, DPPH) et antidiabétique par inhibition de l'α-amylase de l'extrait d'*Artemisia herba alba* sont probablement reliés à la richesse de cet extrait en polyphénols et en flavonoïdes.

L'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba* a révélé sa richesse en composés phénoliques, et ses capacités, antioxydante intéressante en présentant un pouvoir anti radicalaire et réducteur du fer, et antidiabétique en inhibant l'activité de l'α-amylase. En conclusion, ces résultats permettent de qualifier *Artemisia herba alba* comme plante antioxydante et antidiabétique.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, composés phénoliques, DPPH, FRAP, α-amylase.

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. Elles sont considérées comme étant la base des pratiques systématiques de la médecine traditionnelle durant plusieurs siècles dans le monde (**Pan et al., 2009**).

La grande majorité des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques, car elles sont riches en métabolites secondaires qui constituent des principes actifs, et qui agissent directement sur l'organisme. Ces métabolites sont dotés de divers effet thérapeutiques, analgésique, antifongique, anticancéreux, anti-inflammatoire, antiviral, et antioxydant (**Ghedira., 2005 ; Benhamou., 2012 ; Kabera et al., 2014**).

Les effets secondaires induits par les médicaments incitent les utilisateurs de s'orienter vers les traitements à base de plantes. Le développement de nouveaux médicaments plus efficaces, moins toxiques et moins couteux pour les patients a suscité un grand intérêt de la recherche scientifique dans le domaine pharmaceutique, et s'appuie largement sur l'exploitation des plantes médicinales comme source de nouveaux principes actifs d'origine végétale.

Dans ce cadre s'affiche l'objectif de notre étude qui s'intéresse à la recherche et l'évaluation de l'activité antioxydante et antidiabétique d'*Artemisia herba alba*, plante de la famille des astéracées, connue sous le nom de Chih. Elle est largement utilisée en médecine traditionnel pour traiter les troubles digestives, les crampes abdominales, les diarrhées, les brulures, le diabète... (**Bouraoui., 2003**).

L'approche expérimentale du présent travail consiste à déterminer la teneur en composés phénoliques dans l'extrait eau-acétone de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* et l'évaluation *in vitro* de ses activités, antioxydante en utilisant le test du piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP), et antidiabétique en évaluant l'effet de l'extrait préparé sur l'activité de l' α -amylase.

Synthèse

Bibliographique

Le stress oxydant est une situation inhabituelle qui est parfois vécue par les cellules ou les tissus issus d'un déséquilibre de la balance pro oxydant/ antioxydant (**figure n° 01**) en faveur des oxydants, et entraîne des dommages cellulaires importants (**Sies, H., 1997 ; Atamer et al., 2008**). Ce déséquilibre est soumis à la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (**ERO**) et/ou d'espèces réactives de l'azote (RNS) et des systèmes de défense endogènes limités, cette instabilité peut altérer les lipides, protéines et la molécule d'ADN (**J, Liu X et al., 2016**).

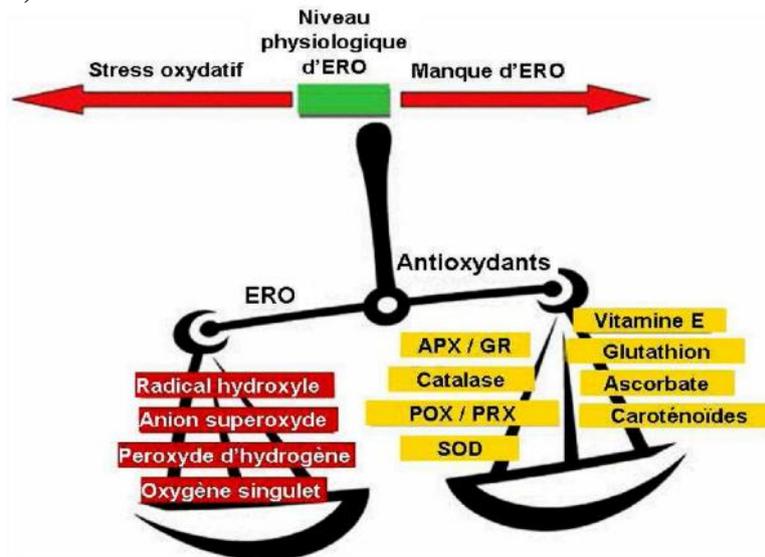


Figure n°1 : La balance entre les ERO et les antioxydants (**Pourrut, B. 2008**)

Le stress oxydatif peut provenir de nombreuses sources (**figure n°02**), comme la surproduction endogène de pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit de nutrition en antioxydants, ou encore l'exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques (**Magder, S., 2006**)

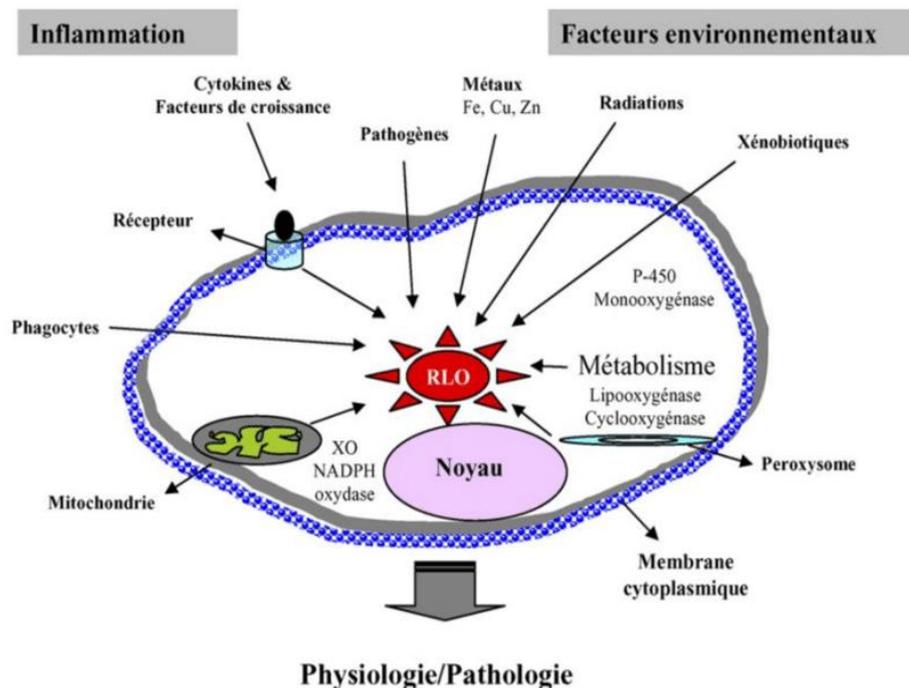


Figure n°02 : Origines du stress oxydant (Guillouty, A., 2016).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux libres, en favorisant l'apparition des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme :

- **Le cancer :** les ERO semblent également jouer un rôle non négligeable dans la cancérogénèse, puisqu'elles peuvent être responsables de la mutation dans l'ADN (Migliore, L., & Coppède, F., 2002).
- **Le diabète :** l'hyperglycémie a comme traduction immédiate la production des radicaux libres qui réduisent l'activité d'une des enzymes de la glycolyse, la glyceraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase (GAPDH) (Leverve, X., 2006)
- **L'athérosclérose :** est une atteinte des artères par une accumulation de graisses dans la paroi artérielle. Cette accumulation forme les plaques d'athérome, qui sont des composés de LDL oxydé (Sorg, O., 2004).
- **Les maladies neurodégénératives :** Dans la maladie de Parkinson, c'est la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire par leur anti-oxydation qui est responsable de la pathologie. (Sorg, O., 2004).

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui portent un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs couches électroniques externes (**Leverve, X., 2009**), c'est-à-dire des électrons qui ne se couplent pas avec le spin opposé (**figure n°03**). Cela conduit à une réactivité chimique très élevée avec les éléments voisins (**Rochette, L., 2008**). Les substances radicalaires sont électrophiles et tenteront d'arracher un électron aux molécules voisines afin d'apparier leurs électrons uniques. Par conséquent, cet état n'est que temporaire, environ une microseconde, car le radical libre va accepter un autre électron ou transférer un électron libre à une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) pour coordonner ses électrons individuels, de manière à obtenir un état plus stable (**Fontaine, E., et al., 2002 ; Aicha, L., & Hamida, T., 2020**). C'est donc un intermédiaire de réaction, cela provoquera une réaction en chaîne pour produire de nouveaux radicaux libres qui attaquent les molécules où ses dernières se transforment elles-mêmes en espèce réactive de l'oxygène (ERO).

Les ERO sont essentiels à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques dans le processus de croissance ou de défense du corps. En effet, ils sont impliqués dans le fonctionnement de certaines enzymes, la transduction des signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les pathogènes, l'apoptose des cellules tumorales, le cycle cellulaire, le fonctionnement de certains neurones, notamment la fonction de mémoire, fécondation des œufs, régulation des gènes (**Favier, A., 2003**).

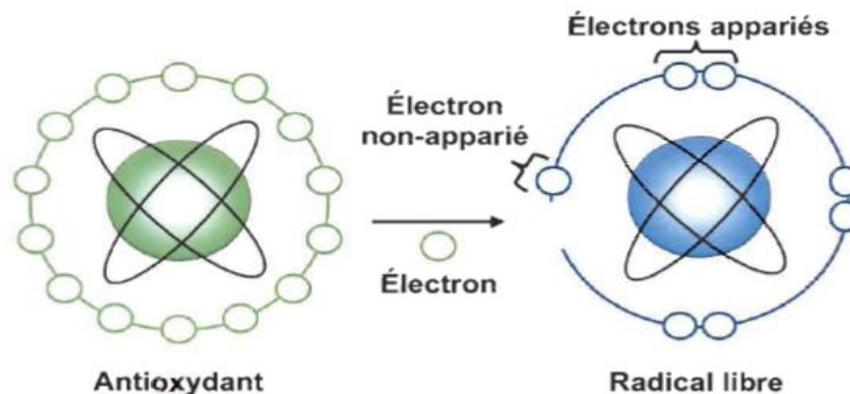


Figure n°03 : Neutralisation des radicaux libres par les antioxydants (**Carange, J., 2010**).

Radicaux primaires : Dérivé de l'oxygène par réduction en électron tels l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) et le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}).

Radicaux secondaires : espèces dérivées de l'oxygène appelés espèces actives de l'oxygène, tels que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde

(**ONOOH**), Ils sont formés par la réaction de ces radicaux libres primaires aux composés biochimiques de la cellule. (**Favier, A., 2003**).

Tableau n°01 : Différents types des espèces réactives (**Godowsky, M. and Kowalczyk, S., 2013**).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}	Oxygène singulet	1O_2
Radical alkoxyde	RO^{\cdot}	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO^{\cdot}	Peroxynitrite	ONOOH

Les radicaux libres peuvent avoir deux origines, endogènes ou exogènes d'ERO : (**Figure n°04**)

Source endogène : La formation de ces RL survient par l'activation de l'oxygène qui va amorcer la réaction soit par un gain d'énergie (cas rare), soit par un gain unitaire d'électron (voie de la réduction univalente de l'oxygène) Il s'agit là de formes dites activées de l'oxygène (RLO). Cette voie résulte de l'auto-oxydation de plusieurs produits intracellulaires (épinéphrine, ferrédoxine, hémoglobine) ou lors de processus d'oxydoréduction le long des chaînes respiratoires des mitochondries ou des membranes des polynucléaires ou des macrophages. Il existe aussi des systèmes enzymatiques qui, dans des conditions normales ou physiopathologiques, sont capables de produire l' $O_2^{\cdot -}$ et ses dérivés.

Source exogène : Les facteurs exogènes sont liés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres. Parmi ces facteurs, on retrouve l'alimentation, antibiotiques, alcool, aliments riches en protéines et/ou en lipides, Le CO atmosphérique, Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique), Les métaux lourds, Les médicaments, Les radiations (**BAITI, I., 2013**).



Figure n°04: Source de la production des radicaux libres (Melle Hocine Farah Meriem2017).

Les radicaux libres peuvent provoquer des dommages oxydatifs à différents niveaux des biomolécules tels que :

Les dommages oxydatifs à l'ADN : qui est une cible privilégiée pour les ERO, ces espèces peuvent donc provoquer des dysfonctions cellulaires et des effets mutagènes, voir létaux, en cas de mauvaise ou non réparation qui conduire à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer. (Vallard, A., et al., 2017).

Les dommages oxydatifs aux lipides : l'oxydation des lipides, notamment les acides gras polyinsaturés, induit une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques de macrophages qui transforment en cellules spumeuses, constituant une étape dans la formation de l'athérosclérose. (Nakajima, K., et al., 2006).

Les dommages oxydatifs aux protéines : Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de quelques résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des

dommages sont irréparables et peuvent provoquer des modifications fonctionnelles essentielles. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire. (**Haleng, J., et al., 2007**).

Dans certaines mesures, l'organisme est capable de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense appelés antioxydants, (**Hannebelle, T., 2006**), qui est défini comme une substance, lorsqu'il est ajouté à un produit à faible dose il peut s'oxyder spontanément dans l'air et ralentir ou inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie, de sorte que le terme « antioxydant » englobe toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques des effets potentiellement nocifs du processus ou réactions qui déclenchent une oxydation élevée. (**Park, P. J., et al., 2001**). Afin de lutter réellement contre les dégâts oxydatifs, le corps est équipé de plusieurs systèmes de défense ; systèmes de réparation (enzymes de réparation de l'ADN), exclure les molécules endommagées par les ERO ou le système dit de prévention paralyse la naissance de radicaux libres, notamment en chélatant les métaux de transition. Des protéines comme l'albumine, le ceruloplasmine (**Galdston, M., et al., 1987**), ou la ferritine (**Cairo, G., 1995**), et des hormones comme les œstrogènes (**Behl, C., 2002**), ou la mélatonine (**Reiter, R. J., 2000**), sont également indirectement impliquées dans la lutte contre le stress oxydatif.

Les antioxydants peuvent être divisés en trois catégories : système antioxydant enzymatique (antioxydants primaires) et système antioxydant non enzymatique (antioxydants secondaires) et les antioxydants de synthèse.

Les antioxydants enzymatiques sont les premières lignes de défense contre les entités oxydantes. Parfois ces enzymes nécessitent les oligoéléments (Cu ; Zn ; Se ; Fer) comme cofacteurs.

Le superoxyde dismutase : SOD réagissent contre les substances toxiques de métabolisme cellulaire et catalyse la dismutation d' $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 et une molécule d'oxygène (**R01**). (**Papa et al., 2014**). Cette enzyme associée à des cofacteurs métalliques : les SOD à cuivre-zinc (Cu/Zn-SOD) qui se trouvent dans le cytoplasme, les SOD à manganèse (localisées) dans la mitochondrie (Mn-SOD) et les SOD extracellulaire (EC-SOD) localisées dans les fluides extracellulaires (**Peng et al., 2014**).



La catalase (CAT) est une enzyme qui présente un hème comme groupement prosthétique et joue un rôle essentiel dans la protection des cellules aux dommages oxydatifs liées aux fortes concentrations du H_2O_2 dismuté en H_2O et en oxygène moléculaire (**R02**). Cette enzyme se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules (**Bonnefont-Rousselot et Collin., 2010, Tokarz et al, 2013 ; Dominique., 2017**).



La glutathion peroxydase (GPx) est un sélénoprotéine qui peut détoxifier les hydroperoxydes dans les lipides membranaires directement, en réduisant ainsi les dommages au fonctionnement de la membrane et prévenant la génération de produits réactifs dérivés de la peroxydation lipidique. La GPx agit en synergie avec le SOD puisque son rôle est d'activer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (**GSH**) sont oxydées en glutathion-disulfure (**GSSG**) (**R04/ R05**). (**Mates et al. ,1999**) ; **William et al. ,2017**)



En ce qui concerne les antioxydants non enzymatiques on distingue:

Le glutathion (GSH) : Un tripeptide constitué de cystéine, glutamine et glycine, situé au niveau du cytosol et des mitochondries. Il constitue le cofacteur de plusieurs antioxydants, et joue un rôle nécessaire dans la protection des tissus et la réparation des protéines oxydées. (**Zhang et Forman., 2012 ; Carocho et Ferreira., 2013**).

L'acide urique : est un produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, soit excrété par la bile et l'intestin où il sera dégradé en allantoïne par l'uricase des bactéries coliques. L'acide urique est un puissant réducteur des radicaux libres, il réduit les radicaux peroxydes, hydroxydes et neutralise aussi l'anion superoxyde. (**Lachraf, A., & Bouallaga, I., 2018**). L'acide urique représente 60 % de la capacité antioxydante plasmatique. (**Letontier., 2002**).

L'acide ascorbique (vitamine C) est le principal antioxydant, il est synthétisé à partir du glucose dans le foie de la plupart des espèces de mammifères mais pas par l'Homme, il donc doit être ingéré dans l'alimentation. En effet l'acide ascorbique fonctionne comme un piègeur des ERO, afin de prévenir ses effets nuisibles (**Asima et al., 2014**).

L' α -tocophérol (vitamine E) est un antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. La forme naturelle de cette vitamine comporte quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ . la forme la plus active est L' α -tocophérol, elle piège les radicaux libres organiques arrivant de l'oxydation des lipides et contribue à réduire la peroxydation lipidique (**Azzi, A., 2018**).

Les caroténoïdes sont des pigments synthétisés par les végétaux, responsables des couleurs orange, rouge et jaune des fruits et légumes. Les plus importants sont le β -carotène et le lycopène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante dont ils sont notamment capables de piéger les radicaux hydroxyles HO \cdot et peroxydes ROO \cdot et ainsi de bloquer les chaînes de peroxydation lipidique. Ils neutralisent également l'oxygène singulet (**Combris, P., et al., 2008 ; Beaudoux et Geneviève., 2011**).

Les oligo-éléments fonctionnent comme cofacteurs d'enzymes primordiaux dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc ; le sélénium et manganèse (**Pastre, J., 2005**).

Pour la classe des antioxydants de synthèse chimique Le derniers type c'est les antioxydants de synthèse il existe plusieurs molécules, dont la structure de base est souvent dérivée des antioxydants naturels. Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (**BHA**), le butylhydroxytoluène (**BHT**), et la gallate propylée (**PG**), sont très utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins couteux que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est à discute, car ils sont susceptibles de manifester des effets secondaires et même toxiques (**Lisu et al., 2003 ; Lee et al., 2009**).

Les effets dangereux du stress oxydant sur la santé des personnes sont devenus un problème critique. Les antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT), ont été considérés couramment comme antioxydants dans l'industrie alimentaire et peuvent être responsables des dommages du foie et de la carcinogenèse, l'activité antioxydante est évaluée par la méthode de balayage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). (**Bouyahya, A.,**

et al., 2017). Le tableau ci-dessous (**tableau n°02**) résume les résultats de certains travaux scientifiques sur les plantes à activités antioxydantes sur le DPPH.

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées, le **tableau n°03** présente l'effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur différentes activités biologiques avec différents extraits (**Bougandoura, N., & Bendimerad, N., 2013**).

De nombreuses plantes aromatiques et médicinales sont testées pour leur effet antioxydant. Cependant, le **tableau 2** résume quelques exemples des plantes qui ont une activité anti radicalaire sur le DPPH.

Tableau n° 02: Effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la réduction du DPPH.

Plante	Drogue	Extrait	IC ₅₀	Référence
<i>Berberis vulgaris</i>	Ecorce de racines	Hydrométhanolique Alcaloïdes totaux	1,40 mg/ml 2,80 mg/ml	Mezouar., 2013.
<i>Pituranthos scoparius</i>	Partie aérienne et racinaire	Extrait aqueux Fraction acétate d'éthyle	45µg/ml 51,25µg/ml	Adida et al., 2016.
<i>Conocarpus erectus</i>	Fruits	Extrait n-butanol	4µg/ml	El sayed et al., 2012
<i>Punica grantum</i>	Ecorces	Extrait aqueux	0,094mg/ml	Ricci et al., 2006.
<i>Portulaca oleracea</i>	Plante entière	Extrait méthanolique	12,67µg/ml	sanja et al., 2009.
<i>Brynoia dioica Jacq</i>	Racines	Botanique Aqueux macération Aqueux décoction	51,25µg/ml 726,75µg/ml 241,25µg/ml	Chekroun, 2016.

La biodiversité climatique et végétale en Algérie lui accorde une richesse en plantes médicinales largement utilisées en médecine traditionnelle locale. Plusieurs études scientifiques s'intéressent à une gamme de plantes médicinales locales, pour étudier leurs propriétés phytochimiques et biologiques. Dans le présent travail nous nous sommes

intéressées à l'étude phytochimique et activité antioxydante et antidiabétique de l'extrait eau-acétone *Artemisia herba alba*.

C'est une plante fourragère de base très appréciée des bovins, elle a l'odeur et l'amertume caractéristique de l'huile de thymol, et un goût astringent (Nabli., 1989). *A. herba alba* signifie herbe blanche ou l'armoise blanche qui a plusieurs noms, comme le thym des prairies et l'absinthe du désert. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, on l'appelle généralement "Shih" ou "Chih (CHIH KHERSANI)" (selon la région). L'armoise blanche possède des caractéristiques morphologiques et physiologiques qui lui permettent de s'adapter aux conditions climatiques arides et de résister contre la sécheresse (Ferchichi et al., 2004).



Figure°05 : *Artemisia herba alba* (MESSAI, 2011).

L'armoise blanche est une plante des climats arides et semi-arides qui pousse dans les hautes plaines steppiques, les déserts du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. C'est est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, blanches et laineuses et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre (Bezza et Mannarino., 2010). Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées (tableau n°4).

Tableau n°04: Classification d'*Artemisia Herba Alba*. (Boudjelal A., 2013 ; Bouchaiba S et Hendi L., 2017).

Systematique de la plante

Règne : <i>Planate</i>	Ordre : <i>Asterales</i>
Sous –règne : <i>Tracheobionta</i>	Famille: <i>Asteraceae</i>
Dévision: <i>Magnoliophyta</i>	Genre : <i>Artemisia</i>
Espèce: <i>A. herba alba</i> (Asso)	
Embranchement: <i>Spermaphytes</i> (<i>Phanérogames</i>) ou « <i>plantes à graines</i> »	Sous- embranchement: <i>Angiospermes</i> (<i>Plantes à fleurs</i>)
Tribu: <i>Anthemideae</i>	Sous- tribu: <i>Artemisinae</i>
Classe : <i>Magnoliopsida</i>	Sous-classe: <i>Asteridae</i>
Nom vernaculaire: <i>Chih</i>	Nom français: <i>Armoise blanche</i>
Nom binominal: <i>Artemisia herba alba</i> (Asso)	

L'armoise blanche est largement utilisée dans la médecine traditionnelle principalement pour le traitement des troubles gastriques 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**). *Artemisia herba alba* a été utilisée depuis longtemps comme aromatisant du thé et café (**Bendjilali. B, et al., 1984**).

Plusieurs, études ethnopharmacologies ont également prouvées l'utilisation de l'armoise blanche en tant que plante antidiabétique (**Tastekin D, et al. 2006**), Leshmanicide (**Hatimi S., Boudouma M., et al., 2001**), antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Yin Y., et al.,2008**).

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés à partir de *Artemisia Herba alba*, dont la plus importante est la lactone sesquiterpène, comme les eudesmanolides et la lactone de germanium (**figure n° 5**) (**Marco, J. A., 1989**). Les flavonoïdes détectés dans l'armoise ont également montré une diversité structurale ; 49 composés phénoliques ont été identifiés, principalement, l'acide choloregénique, hispiduline, Cirsilineol, la **figure n°6** résume la structure chimique de certains composés identifiés dans cette espèce(**Saleh, N. A., et al., 1987 ; Salah, S. M., & Jäger, A. K., 2005**).

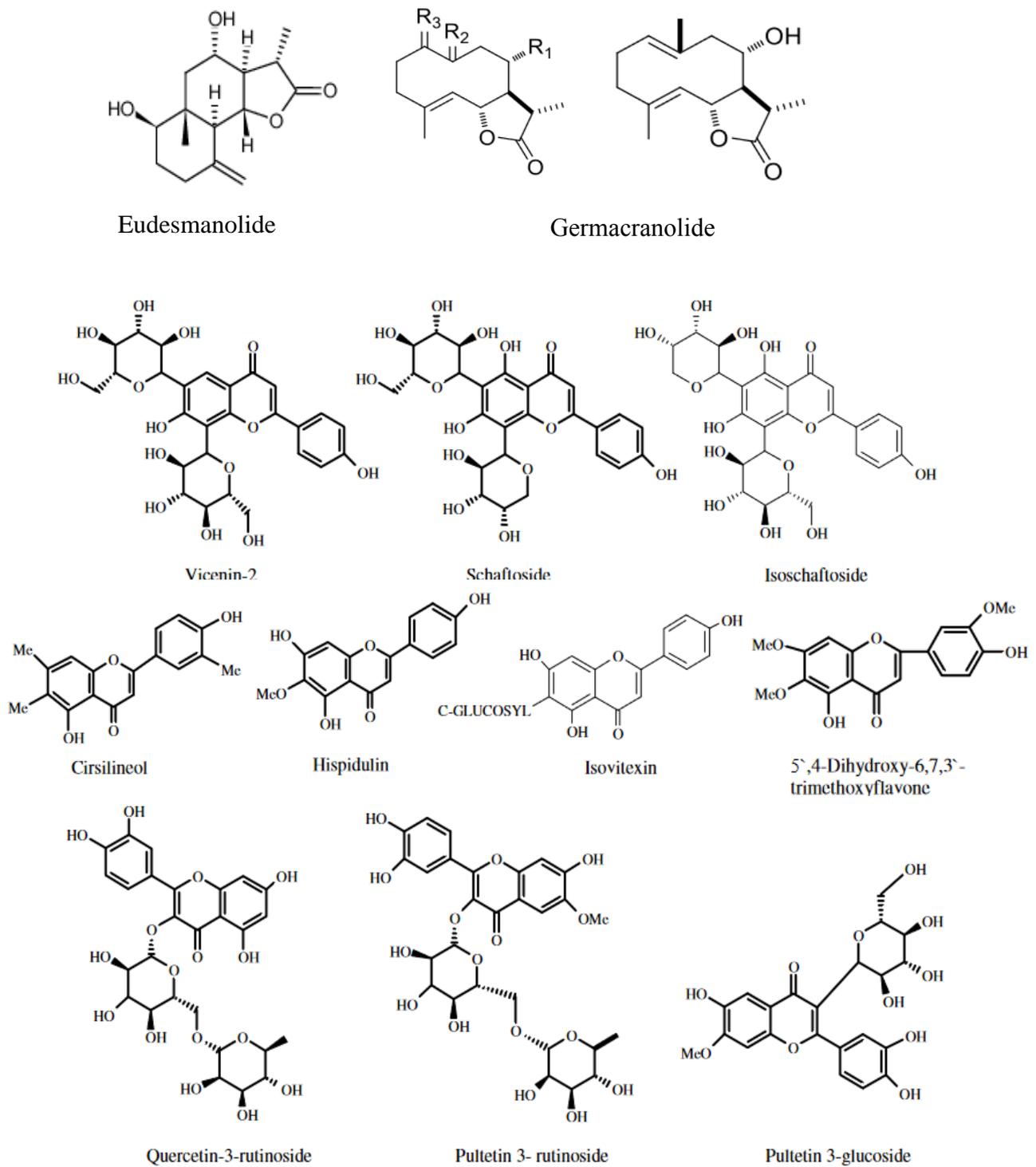


Figure n°06 : Les flavonoïdes isolés de *A. herba alba* (Mohamed, A.E. H. H., El-Sayed, et al., 2010).

En plus des lactones et des flavonoïdes sesquiterpéniques, l'analyse phytochimique a également montré que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est riche en monoterpènes, triterpènes pentacycliques, santonines, coumarines et tanins cycliques, sandonine (**Mohamed et al., 2010**).

Matériel et méthode

Notre étude réalisée au sein du laboratoire pédagogique de biochimie, Département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, regroupe trois parties :

- La première partie concerne la préparation de l'extrait brut eau-acétone à partir de la partie aérienne de *Artemisia herba alba* (feuilles, fleurs et tiges) et le dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans cet extrait.
- La deuxième partie concerne l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait récupéré en utilisant le test du piégeage du radical libre DPPH et du pouvoir réducteur du fer FRAP.
- La troisième partie concerne l'évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique réalisée par le test de l'effet de l'extrait préparé sur l'activité de l' α -amylase.

1. Matériel végétal

La plante étudiée *Artemisia herba alba* a été récoltée durant le mois d'avril 2021 dans la région de Beni Ouarsous, Wilaya de Tlemcen. Au laboratoire, les tiges et les feuilles de L'armoise blanche ont été séchées à l'abri de la lumière et à température ambiante, puis conservées jusqu'au jour de leur utilisation (**Figure 9**)



Figure n°09 : *Artemisia herba alba* sèche (Photo prise au laboratoire)

2. Analyse phytochimique

2.1. Préparation de l'extrait eau-acétone

Les tiges et les feuilles sèches de *Artemisia herba alba* ont été découpées en petits morceaux pour préparer l'extrait hydroacétonique. 30g du matériel végétal est mélangé avec 300ml du mélange eau / acétone (30/70 : v/v) dans un ballon surmonté d'un réfrigérant. Le mélange est porté à une décoction sous reflux pendant 30min (**figure n°10**). Après refroidissement, le décocté est filtré et évaporé au rotavapeur (50°C) afin d'éliminer l'acétone (**Figure°11**). L'extrait récupéré est soumis à une extraction par l'éther de pétrole pour éliminer les lipides et les chlorophylles. La phase aqueuse obtenue est séchée et l'extrait récupéré sous forme solide est conservé pour des tests ultérieurs.

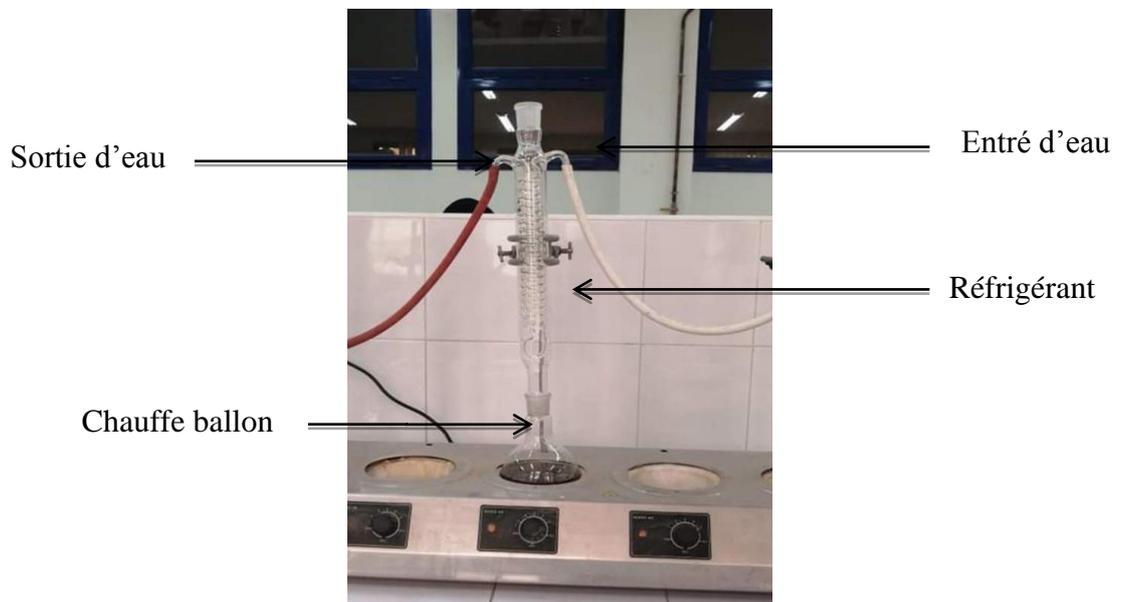


Figure n°10 : Montage d'extraction à chaud sous reflux d'*Artemisia herba alba*.

(Photo prise au laboratoire)



Figure n° 11 : Filtration du décocté d'*Artemisia herba alba*

2.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait récupéré après l'évaporation du solvant d'extraction et la masse de matière végétal sèche initial, exprimé en pourcentage :

$$\mathbf{R\% = m / M * 100}$$

R : rendement exprimé en %

m : La masse de l'extrait récupéré.

M : La masse de la matière végétale sèche initiale.



Figure n° 12 : Organigramme explicatif de la préparation de l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba*

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage de polyphénols totaux

a. Principe :

Afin de doser les polyphénols totaux dans l'extrait hydro-acétone de notre plante, nous avons suivi une méthode de dosage qui repose sur une réaction colorimétrique par le réactif Folin-Ciocalteu, un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), de couleur jaune. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un complexe de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8W_{23}) de couleur bleu. Ce dernier a un maximum d'absorption à 700nm. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans l'échantillon (**Boizot et Charpentier, 2006**).

b. Mode d'opération :

- Mélange de 0,1ml de chaque extrait (1mg /ml) avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2% ;
- Agitation et incubation des tubes à température ambiante pendant 5min.
- Ajout de 0,1ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 0,2N ;
- 2^{ème} incubation pendant 30min à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Mesure de l'absorbance à 700 nm.

Une gamme d'étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (50, 100, 200, 300, 400, 500 $\mu g/ml$).

Tableau n°05 : Dosage de polyphénols totaux dans l'extrait *d'Artemisia herba alba*

Acide gallique (µg/ml)	50	100	200	300	400	500	Extrait	Blanc
Acide gallique (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Extrait (ml)							0,1	
Eau distillée (ml)								0,1
Na ₂ CO ₃ (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
1^{ère} incubation pendant 5min à température ambiante								
Folin-Ciocalteu (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
2^{ème} incubation pendant 30min à température ambiante et à l'obscurité								
Mesure de DO à 700nm								

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg Eq AG / mg ES) selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a.f/C$$

a : concentration des polyphénols déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution (*22)

C : concentration de l'extrait

2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

a. Principe :

Pour estimer le taux de flavonoïdes totaux contenus dans la plante étudiée, nous avons réalisé la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et la soude (NaOH). Dans cette méthode, Les flavonoïdes forment un complexe jaune-orange avec le trichlorure d'aluminium qui vire en couleur rose en présence de la soude et qui absorbe à 510 nm (**kim et al. 2003**).

b. Mode de préparation :

Le dosage de flavonoïdes totaux a été réalisé selon le protocole de Benariba et al, (2013) résumé dans le **tableau n°06**:

- Mélanger 500 µl de l'extrait (1mg/ml) avec 2ml d'eau distillée ;
- Ajouter 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15% ;
- Incuber pendant 6min à température ambiante ;
- Ajouter 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃·6H₂O) à 10% ;
- Incuber une 2^{ème} fois pendant 6min à température ambiante ;
- Ajouter 2ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% ;
- Compléter le volume totale à 5ml avec de l'eau distillée ;
- Agiter et incuber les tubes pendant 15min à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 510nm contre le tube de blanc au spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (100 ; 200 ; 300 ; 400 ; 500).

Tableau n°06 : Dosage de flavonoïdes totaux dans l'extrait d'*Artemisia herba alba*.

Catéchine (µg/ml)	100	200	300	400	500	Extrait	Blanc
Volume de la catéchine (µg/ml)	250	250	250	250	250		
Volume des extraits (ml)						250	
Eau distillée (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1250
NaNO₂ (µl) 15%	75	75	75	75	75	75	75
1^{ère} incubation pendant 6min à température ambiante							
AlCl₃ (µl) 10%	75	75		75	75	75	75
2^{ème} incubation pendant 6min à température ambiante							
NaOH 4% (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ajuster le volume total à 2500 µl							
3^{ème} incubation à température ambiante pendant 15min							
Lecture au spectrophotomètre à 510nm							

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec (µg EqC/mg ES) calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïde}] = a.f/C$$

a : concentration de flavonoïdes déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution (*10).

C : concentration de l'extrait.

1. Evaluation de l'effet antioxydant des extraits d'*Artemisia herba alba*

Il existe plusieurs méthodes pour mettre en évidence l'activité antioxydante des plantes médicinales *in vitro*. Dans notre étude nous avons évaluées l'effet antioxydant de l'extrait eau-acétone d'armoise blanche par le test du piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP).

3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

a. Principe :

Le piégeage de radical libre DPPH est un test largement utilisé dans l'étude de l'activité antioxydante du fait sa simplicité et sa facilité. Le DPPH ou le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, un radical libre stable de couleur violette, qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires tels que les composés phénoliques, ce radical est réduit en DPPH'H de couleur jaune pâle **figure n°12**. (Popovici et al. 2009 ; Roginsky et lissi, 2005).

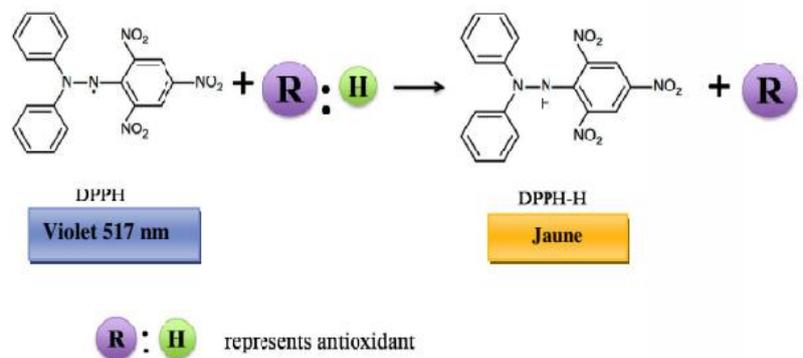


Figure n° 13 : Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH) (Ababsa, N et Boukaous, H., 2018)

b. Mode d'opération :

- Ajout de 1950 µl de la solution du DPPH (0,025mg/ml) à 50 µl de l'extrait à différentes concentrations (12,5-87,7µg/ml) ;
 - Incubation pendant 30 min à l'abri de la lumière ;
 - Mesure de l'absorbance à 517nm contre un tube blanc.
- En parallèle et dans les mêmes conditions opératoires, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations (12,5 ; 25 ; 37,5 ; 50 ; 75 ; 87,5 µg/ml).

Tableau n° 07 : Mesure de l'activité anti radicalaire des extraits d'*Artemisia herba alba* par la méthode de DPPH.

Acide ascorbique (µg/ml)	12,5	25	37,5	50	75	87,5	Extrait	Contrôle
Acide ascorbique (ml)	50	50	50	50	50	50		
Extrait (µl)							50	
Méthanol (µl)								50
DPPH (µl)	1950	1950	1950	1950	1950	1950	1950	1950
Incubation pendant 30min à température ambiante et l'obscurité								
Mesure de DO à 517 nm								

Chaque concentration a été répétée trois fois dont la moyenne de la mesure de l'absorbance nous a permis de calculer le pourcentage de réduction du DPPH selon la formule suivante :

$$DPPH\% = [(Absc)-(AbsE)/ (Absc)] *100$$

DPPH(%) : Pourcentage de réduction du DPPH

AbsE : Absorbance de l'échantillon

Absc : Absorbance de tube de contrôle

La valeur de IC₅₀ ou la concentration qui correspond à 50% d'inhibition du DPPH est déterminée graphiquement à partir de la courbe pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits.

3.2. Test du pouvoir réducteur du Fer (Ferric reducing antioxidant power FRAP)

a. Principe :

Le pouvoir antioxydant d'un extrait est associé en partie à son pouvoir réducteur des ions métalliques, sachant que le Fe^{3+} assure la formation d' OH^\bullet par la réaction de fenton, sa réduction en Fe^{2+} évite la production de ce radical. Cette technique est basée sur la capacité réductrice du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par un virage de couleur du jaune au bleu vert du complexe bleu Prusse ($\text{Fe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]^-$) qui est mesuré au spectrophotomètre à 700nm (Oyaizu, 1986 ; Berker et al., 2007; Karagozeler et al., 2008).

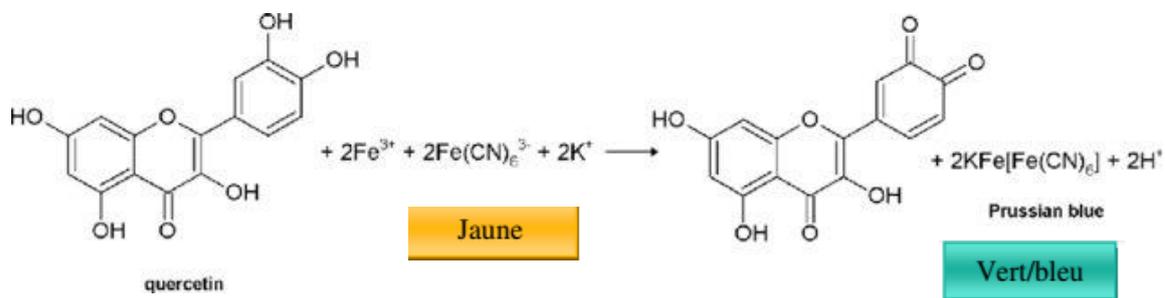


Figure n°14 : Test du pouvoir réducteur du Fer (Ferric reducing antioxidant power : FRAP) (Karagozeler et al., 2008)

a) Mode opératoire (Karagozler et al. 2008)

- Un volume égal à 100 μl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 250 μl d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH = 6,6) et 250 μl d'une solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% ;
- L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à température ambiante ;
- Ensuite, 250 μl d'acide trichloracétique à 10% est ajouté pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 2000 rpm pendant 10minutes ;
- A 500 μl du surnageant, on a ajouté 500 μl d'eau distillée et 100 μl d'une solution de ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à 0,1% ;
- La lecture des absorbances se fait contre un tube blanc à 700 nm au spectrophotomètre

le BHA a été utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations (15, 30, 90, 180, 300, 480 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Tableau n°08: Mesure du pouvoir réducteur du fer par les extraits d'*Artemisia herba alba*

Concentration	500	1000	1500	2000	3000	Extrait Blanc	
BHA (µg/ml)							
BHA (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Extraits (ml)						0,1	
Eau distillée (ml)							0,1
PBS (0.2N ; ph=6.6) (ml)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
K₃Fe(CN)₆ 1%(ml)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Incubation dans l'étuve pendant 20 min à 50°C							
TCA 10%(ml)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Centrifugation des tubes pendant 10 min à 2000tour/min							
Surnageant	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Eau distillée ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
FeCl₃ (0.1%) ml	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Mesure de l'absorbance à 700 nm							

La concentration efficace correspondante à 0,5 d'absorbance (EC₅₀) est déterminée à partir de la courbe absorbance en fonction des concentrations de l'extrait.

III. Evaluation de l'effet d'extrait d'*Artemisia herba alba* sur l'activité d' α -amylase :

a. Principe :

L' α -amylase est responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle qui va conduire à l'absorption du glucose et donc l'augmentation de la glycémie (**Gotez. P, 2007**). De ce fait, l'inhibition de cette enzyme permet une diminution de la glycémie postprandiale, dont le principe est basé sur la réduction du réactif 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) et l'oxydation des sucres selon la méthode de (**Benfled.P.,1955**)

Préparation des réactifs (Benfeld., 1995)

Solution d'enzyme : α -amylase

L'enzyme utilisée est α -amylase isolée du pancréas du porc avec une activité spécifique de 13 UI/mg, conservée à +4 °C. 3mg d'amylase porcine est solubilisée dans 10 ml de solution tampon phosphate (0,02 M ; pH 6,9). La solution obtenue contient une activité α -amylase de 1.3 UI/ml. L'activité optimale de cette enzyme est à pH 6,9 et à 37°C.

Solution du substrat : Amidon soluble

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre. La solution de substrat est préparée dans le tampon phosphate (0,02 M ; pH 6,9) à une concentration de 1 % sous agitation et en chauffant à une température de 60°C.

Réactif 3,5-dinitrosalicylique acide (DNSA) :

On solubilise sous agitation 30g de tartrate double de sodium et de potassium dans 20 ml de NaOH (2N) préalablement chauffé à 60 °C. En parallèle, 1g de DNSA est solubilisé délicatement dans 40 ml d'eau distillée préchauffé à 60 °C (solution jaune opaque) ; puis on mélange les deux solutions sous agitation (solution obtenue de couleur orange). Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée, le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à 4 °C.

Solution d'acarbose :

L'acarbose est utilisé dans cette expérience comme molécule de référence. On solubilise 1 comprimé de 50 mg dans un volume de 25 ml PBS sous agitation pour avoir une concentration de 2 mg/ml à partir de laquelle on prépare des dilutions (0,025 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 mg/ml). Il faut filtrer la solution mère d'acarbose sur papier filtre afin d'éliminer les excipients insolubles.

Solutions d'extrait :

Différentes concentrations de l'extrait eau-acétone de *Artemisia herba alba* (100 ; 1500 ; 2000 ; 3000 ; 3500 ; 4000 mg/ml) ont été préparées dans le tampon phosphate (0.02M, pH 6,9) Afin d'évaluer son effet sur l'activité enzymatique de l' α -amylase.

b. Mode opératoire :

L'effet de la plante étudiée l'armoise blanche sur l'activité alpha amylase été testé selon la méthode de **Benfeld. 1955**. Le tableau suivant résume les différentes étapes du test.

Tableau n°09: Evaluation de l'effet de l'extrait d'*Artemisia herba alba* sur l'activité alpha amylase.

Tube extrait	Tube blanc extrait	Tube contrôle	Tube blanc contrôle
200µl extrait 200µl enzyme	200µl extrait 200µl PBS	200µl PBS 200µl Enzyme	200µl PBS 200µl PBS
Incubation pendant 10 min à 37 C°			
200µl amidon	200µl amidon	200µl amidon	200µl amidon
2ème Incubation pendant 15 min à 37 C°			
600 µl DNSA	600 µl DNSA	600 µl DNSA	600 µl DNSA
Dénaturation de l'enzyme au bain marie pendant 8 min a 100C° suivi par un choc thermique au bain de glace pendant 3 min			
1 ml eau distillée	1 ml eau distillée	1 ml eau distillée	1 ml eau distillée
Mesure de l'absorbance à 540 nm			

L'effet de l'extrait hydro-acétone de *Artemisia herba alba* sur l'activité de l' α -amylase est exprimée en pourcentage d'inhibition calculé selon la formule suivante :

$$\%inhibition = [(DO c) - (DO éch) / DO c] * 100$$

DO éch : Densité optique de l'échantillon

DO c : Densité optique du tube contrôle.

Résultats et interprétation

1-rendement d'extraction :

Le rendement de l'extrait préparé à partir de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* été calculé -par rapport à la masse végétale initiale. Les résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°10 : Caractéristique d'extraits d'*Aertemisia herba alba*.

	Aspect	Couleur	Rendement (%)	Solubilité
Eau – Acétone	Poudre	Marron	5,6	Eau-Méthanol (v/v)

D'après les résultats obtenus nous avons noté que l'extrait eau acétone récupéré sous forme de poudre de couleur marron présente un rendement de 5,6% par rapport au poids sec de la matière végétale utilisée.

2-Taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux

L'analyse quantitative de polyphénols et de flavonoïdes totaux a été déterminée à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnages de l'acide gallique et de la catéchine. **Figures n°15 et16**, respectivement.

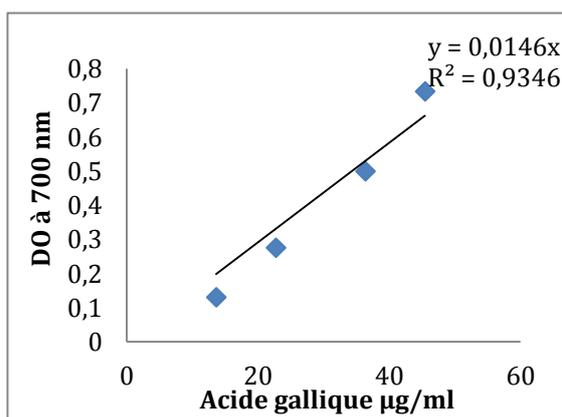


Figure n°15: Courbe étalon de l'acide gallique

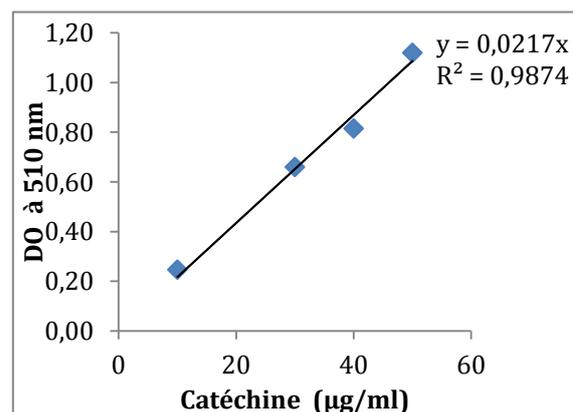


Figure n°16 : Courbe étalon de la catéchine

Le tableau n°11 représente le taux de polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait de *Artemisia herba alba*, dont les résultats sont exprimés respectivement en µg EAG/mg E et en µg EC/ mg E. Selon les résultats obtenus, nous avons constaté que l'extrait hydro-acétone préparé

présente un taux important en polyphénol $542,47\mu\text{g EAG/ mgE}$ et en flavonoïde $267,28\pm 0,03\mu\text{g EC/mgE}$.

Tableau n°11 : Taux de polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits d'*Artemisia herba alba*.

	Polyphénols ($\mu\text{g EAG/ mgE}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EC/mgE}$)
Eau-acétone	$542,47\pm 0,06$	$267,28\pm 0,03$

3-Activité antioxydante

Notre étude vise à évaluer l'effet antioxydant que pourraient avoir les métabolites secondaires l'extrait étudié. Pour cette étude nous avons réalisé deux tests : test de piégeage du radical libre DPPH et le test de réduction de fer (FRAP).

3-1 Test de piégeage de radical libre DPPH

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait. Dans cette expérimentation nous avons utilisé l'acide ascorbique comme contrôle positif à différente concentration et qui montre une augmentation proportionnelle des pourcentages de réduction du DPPH en fonction des concentrations de la vitamine C.

Tableau n°12 : Effet antioxydant de l'acide ascorbique et l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba* sur le DPPH exprimé en pourcentage et en valeur d IC_{50} .

	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)						IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
	1,5	2	2,5	3	75	87,5	
Acide ascorbique	$43,52\pm 0,02$	$52,15\pm 0,01$	$61,17\pm 0,03$	$75,29\pm 0,02$			$1,87\pm 0,01$
Extrait eau-acétone	$36,27\pm 0,05$	$49,01\pm 0,02$	$51,50\pm 0,07$	$60,47\pm 0,03$	$95,81\pm 0,01$	$98,8\pm 0,01$	$30,51\pm 0,05$

Les résultats de l'effet de la vitamine C et l'extrait de l'armoise blanche sur le piégeage du DPPH sont représentés dans le tableau suivant (**Figure n°17** et **18**).

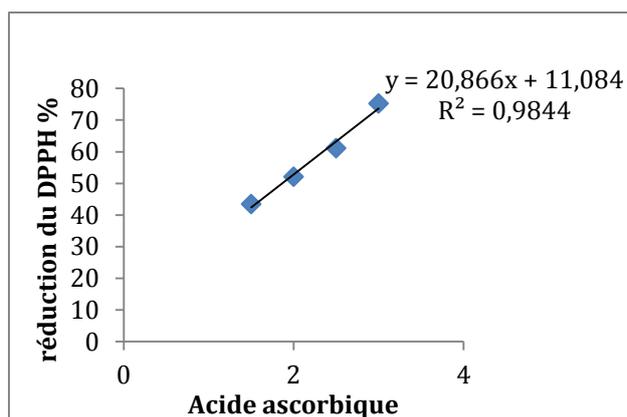


Figure n°17 : Effet de l'acide ascorbique sur la réduction de DPPH

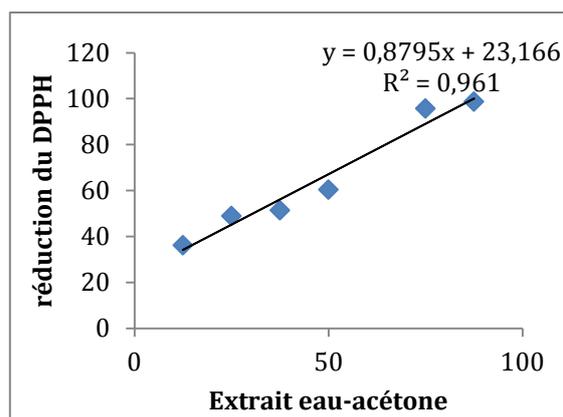


Figure n°18: Effet de l'extrait eau-acétone sur la réduction du DPPH.

Les résultats révèlent que l'acide ascorbique présente une forte activité antioxydante sur le DPPH avec une IC_{50} de 1,87 $\mu\text{g/ml}$, de même, l'extrait eau-acétone a montré une IC_{50} importante de l'ordre de 30,51 $\mu\text{g/ml}$. En fonction de ces résultats on constate que l'extrait eau-acétone présente une activité antiradicalaire intéressante responsable du piégeage du radical DPPH.

3-2 Test de réduction du fer FRAP

Les résultats obtenus révèlent une forte activité réductrice du BHA (molécule de référence) à faible concentration. Cette activité est ainsi exprimée par la concentration efficace déterminée graphiquement et qui correspond à une absorbance de 0,5 à 700 nm.

Les résultats obtenus montrent une augmentation des absorbances proportionnelles à l'augmentation des concentrations des composés. L'extrait eau-acétone possède un pouvoir réducteur du fer exprimé par une valeur remarquable d' EC_{50} de l'ordre de 128,88 $\mu\text{g/ml}$, mais qui reste supérieur à celle du BHA antioxydant de référence qui a présenté une EC_{50} de 51,33 $\mu\text{g/ml}$. (**Figure n°18 et 19**).

Tableau n°13 : Pouvoir réducteur du fer par le BHA et l'extrait eau-acétone d'*Artemisia herba alba*.

	Concentration $\mu\text{g/ml}$ (% d'inhibition \pm ES)				EC50 ($\mu\text{g/ml}$)
	8,33	16,67	50	66,67	
BHA	0,05 \pm 0,01	0,17 \pm 0,04	0,46 \pm 0,18	0,67 \pm 0,34	51,33 \pm 0,57
Extrait eau-acétone	83,33	166,66	250	333,33	128,88 \pm 0,04
	0,34 \pm 0,03	0,6 \pm 0,05	1,09 \pm 0,05	1,44 \pm 0,06	

Le potentiel antioxydant sur la réduction du fer de l'extrait d'*Aertemisia herba alba* a été déterminé en utilisant comme contrôle positif le Butyl Hydroxy Anisole (BHA) dont les résultats obtenus sont motionnés dans (**figure n°18 et 19**).

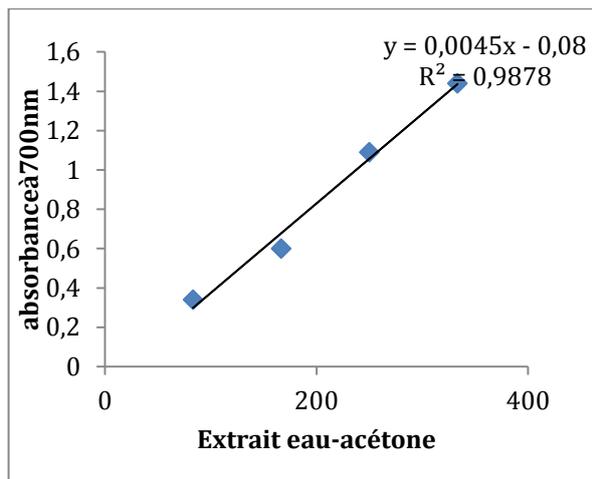


Figure n°18: Effet de l'extrait sur la réduction du Fer

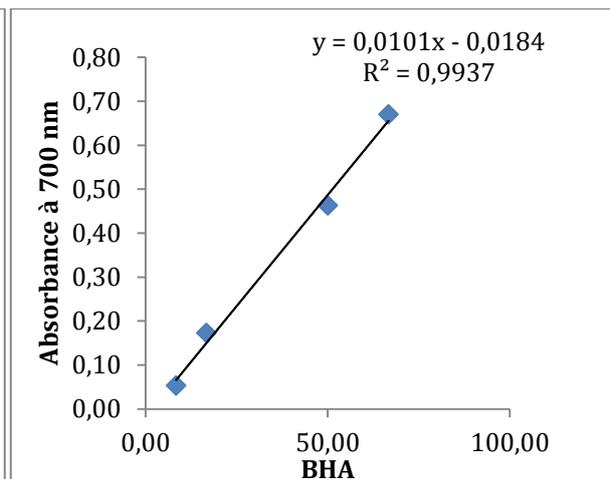


Figure n°19 : Effet du BHA sur la réduction du Fer (FRAP)

4-Effet de l'extrait d'*Aertemisia herba alba* sur l'activité de l' α -amylase :

Afin de déterminer l'effet de l'extrait d'*A. Herba alba* sur l'activité de l' α -amylase in vitro, nous avons testé l'effet de différentes concentrations de l'extrait sur l'activité de l'enzyme vis-à-vis son substrat amidon soluble (1 g/l). Les résultats représentés dans le tableau n°14 exprimés en pourcentage d'inhibition de l'enzyme.

Tableau n°14: Effet de l'acarbose et l'extrait eau-acétone sur l'activité d' α -amylase exprimé en pourcentage d'inhibition et en IC₅₀.

	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)								IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
	6	12,5	25	50	100	500	1000	2000	
Acarbose	9,2± 0,01	24,61± 0,01	60,77± 0,03	71,6± 0,01	73,7± 0,04	86,3± 0,01	92,3± 0,01	92,7± 0,01	35,10 ±0,01
Extrait eau- acétone	166.6 37± 0.02	333.33 43,33± 0,01	500 46,67± 0,02	666,67 51,67 ±0,00					306,18± 0,01

L'acarbose est utilisé comme molécule de référence pour contrôler l'inhibition de l' α -amylase, elle est plus efficace et présente des pourcentages élevés pour de très faible concentration. **Figure n°20,21.**

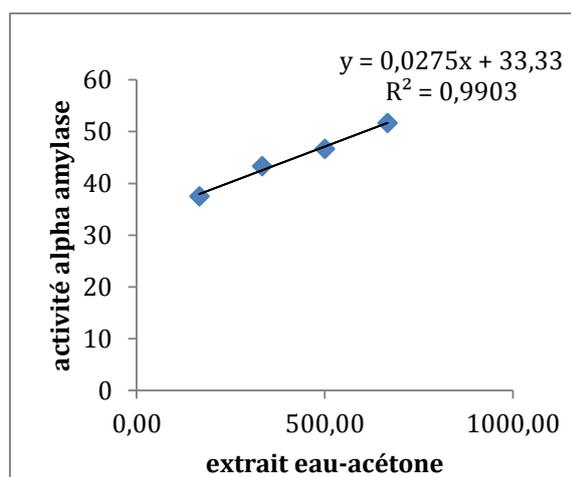


Figure n°20 : Effet de l'extrait e sur l'activité alpha amylase

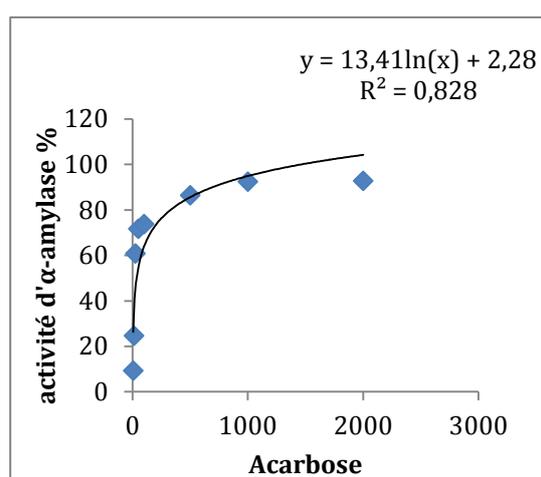


Figure n°21 : Effet de l'acarbose sur l'activité α -amylase

Les résultats de l'inhibition de l'activité alpha-amylase sont représentés de deux manières à savoir les pourcentages d'inhibition et les valeurs d'IC₅₀. L'acarbose (6 à 2000 µg/ml) a montré des pourcentages d'inhibition qui varient entre 9,24% et 92,72% et une IC₅₀ de 35,10 µg/ml. Tandis que l'extrait de l'armoise blanche présente une valeur d'IC₅₀ égal à 306,18 µg/ml et des pourcentages d'inhibition variables entre 37,5 et 51,67 %.

Discussion

Les plantes médicinales n'ont jamais été totalement abandonnées et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (**Delille, 2013**). Les plantes médicinales riches en molécules bioactives sont largement utilisées comme thérapie alternative et constituent une source de principe actif de nouveaux médicaments d'origine végétale.

L'objectif de ce travail est porté sur l'étude phytochimique de l'extrait eau-acétone de la partie aérienne de *Artemisia herba alba* ainsi que l'évaluation de son activité antioxydante et l'activité antidiabétique.

Notre étude phytochimique a montré un rendement de 5,6% de l'extrait eau- acétone par rapport à la matière sèche. En comparaison avec des études antérieurs, ce rendement est inférieur aux résultats obtenus par (**Charif, Louizini .2016**) dont le rendement déterminé pour l'extrait eau-acétone de la même espèce est de 18,8%. Cette différence au niveau des rendements est principalement liée à la méthode d'extraction utilisée ainsi que la différence de la polarité du solvant d'extraction. Par rapport au solvant moins polaire, le solvant polaire assure un taux d'extraction plus élevé avec une vaste gamme de métabolites secondaires (**Green, 2004**).

Selon **Bruneton., (2009)** le rendement d'une extraction chimique signifie le rapport de la quantité des molécules extraites par le solvant et la quantité de la matière végétale sèche utilisée dans cette extraction. Il dépend également de plusieurs facteurs tels que : le solvant, le pH, la température, le temps et la méthode d'extraction, ainsi que la composition chimique de l'échantillon, car un extrait brut renferme une variété des métabolites secondaires outre les polyphénols et les flavonoïdes (**Lehoute et Laib., 2015**).

L'extrait eau-acétone a révélé un taux élevé en polyphénols et en flavonoïdes, il renferme 542,47 mg EAG/g extrait et 267,288 mg EAG/g extrait, respectivement. Nos résultats vont en accord avec les résultats qui ont été obtenus dans l'extrait éthanolique qui renferme 279,73 mg Eq AG/ml d'extrait de polyphénols et 209,169 mg EqC/ml d'extrait de flavonoïdes, ainsi que l'extrait méthanolique 43,614 mg Eq AG/ml d'extrait et 234,450 mg EqC/ml d'extrait de polyphénols et flavonoïdes, respectivement (**Dif, M. M., et al., 2018**). Les résultats de notre étude restent supérieurs aux valeurs déterminées par (**Abderrahim S., et al., 2014**) qui ont montré une meilleure teneur en polyphénols dans l'extrait de l'acétone

(2,93g/100gMS) suivi par l'extrait du méthanol (2,11g/100gMS), l'éthanol (1,95g/100gMS) et aqueux (1,35g/100gMS) de la partie aérienne de *Artemisia herba alba*. Le taux de flavonoïdes déterminés respectivement dans ces extraits est 0,45g Eq Quercétine/100g MS ; 0,30 ; 0,28 et 0,25g équivalent quercétine/100g MS.

La richesse de l'extrait eau-acétone en composés phénolique est liée la partie utilisée de la plante, car les polyphénols et les flavonoïdes sont principalement localisés dans la partie aérienne de la plante (tige, feuilles, fleurs) ; de plus le choix du solvant et la méthode d'extraction jouent un rôle important dans l'épuisement du matériel végétale, en assurant une meilleure extraction de la majorité des composés chimiques et l'enrichissement de l'extrait en composés phénoliques. Les mélanges des solvants d'extraction hydroorganique eau-éthanol, eau-méthanol, eau-acétone sont recommandés car ils assurent l'extraction des composés phénoliques (**Trabelsi et al. 2010 ; Ncube et al. 2008**).

Les composés phénoliques notamment les flavonoïdes sont caractérisés par une forte capacité antioxydante (**Oliver et Blumberg 2008**). Dans notre étude nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité anti radicalaire de l'extrait eau-acétone sur le DPPH et le pouvoir réducteur du fer en utilisant le réactif du ferrocyanure de potassium. Le résultat obtenu concernant l'effet anti radicalaire sur le DPPH montre un effet remarquable de cet extrait avec une valeur importante de $IC_{50}=30,51 \mu\text{g/ml}$. Ce résultat est comparable à celui de (**Abderrahim S., et al., 2014**) qui ont obtenus 23,65 $\mu\text{g/ml}$ dans l'extrait de l'acétone, 33,55 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanol, 35,04 $\mu\text{g/ml}$ dans l'extrait éthanol et 173,22 $\mu\text{g/ml}$ dans l'extrait aqueux. De même, les extraits des feuilles de l'armoise blanche présentent les mêmes valeurs d' IC_{50} , variables entre 39 et 11,6 $\mu\text{g/ml}$. (**Rabahi, S. 2013**) a révélé une faible activité anti radicalaire de l'extrait aqueux ($IC_{50}= 18,59 \text{ mg/ml}$).

En ce qui concerne le pouvoir réducteur du fer est estimé par la détermination de la concentration efficace EC_{50} , et qui correspond à la concentration de l'extrait qui arrive à une absorbance égale à 0,5. les valeurs de EC_{50} sont obtenues à partir de la courbe de régression linéaire de la concentration de l'extrait et la densité optique (DO) correspondante (**Khadhri Ayda et al., 2012**). D'après nos résultats, nous avons remarqué que le pouvoir réducteur de l'extrait eau-acétone de la plante présente une EC_{50} égale à 128,88 $\mu\text{g/ml}$. Cette valeur est comparable à celle déterminée dans l'extrait de l'acétone ($EC_{50}=100\mu\text{g/ml}$) de la partie aérienne de la même plante (**Abderrahim S., et al., 2014**); mais elle reste supérieure au résultat obtenu avec une $EC_{50}=0,468 \text{ mg/ml}$. (**Ababsa N, Boukaous H., 2018**)

Selon la bibliographie l'huile essentielle de l'armoise blanche possède un pouvoir antioxydant très puissant en assurant un effet anti radicalaire et réducteur du fer (**Kaouane, A., & Chabane, F. 2017**).

Selon la bibliographie les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour piéger les radicaux libres et ils semblent être responsables de l'activité antioxydante des extraits. Cette activité est attribuée aux groupements hydroxyles des composés phénoliques qui leur permettent de transférer un atome d'hydrogène sur le radical DPPH pour donner une molécule stable DPPH, H (**Sanogo, I et Sissoko, A. 2020**)

Dans cette étude, nous avons également recherché *in vitro* l'activité antidiabétique de l'extrait eau-acétine de *A herba alba* en mesurant son effet sur l'activité de l' α -amylase. Cette dernière est une enzyme impliquée dans la digestion des hydrates de carbone et qui agit sur les oligosaccharides et les polysaccharides (amidon et glycogène) et permet l'hydrolyse des liaisons glycosidique (α -1 \rightarrow 4) (**Heslot 1996**). Elle empêche l'absorption intestinale des sucres ce qui inhibe l'hyperglycémie postprandiale chez les diabétiques de type 2. Le traitement de cette hyperglycémie se limite à l'utilisation des inhibiteurs des enzymes intestinales. L'Acarbose, le premier inhibiteur de l' α -amylase à être identifié, est actuellement utilisé pour le traitement du diabète de type 2. Dans le but de trouver un inhibiteur naturel de l' α -amylase, nous avons étudié l'effet de l'extrait *Artemisia herba alba* sur l'activité de cette enzyme.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait eau-acétone de l'armoise blanche présente des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase variables entre 37,5 et 51,67 % avec une valeur de IC₅₀ de 306,18 μ g/ml, cette valeur reste supérieure à celle de l'acarbose 35,10 μ g/ml.

Peu de travaux ont montré l'activité antidiabétique de la partie aérienne de *Artemisia herba alba* par inhibition de l' α -amylase. Les résultats obtenus par (**Belfeki et al., 2016**) montrent un faible effet inhibiteur de l'extrait aqueux et éthanolique de l'armoise blanche testés à 400 μ g/ml, avec un pourcentage de 5,75% et 11,97%, respectivement. L'effet inhibiteur de notre extrait sur l'activité de l' α -amylase est probablement lié à sa teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes qui sont caractérisés par leur structure chimique et la présence des groupements hydroxyles, ce qui facilite leur interaction avec les protéines et les sites actifs des enzymes et provoque leur modification structurale et fonctionnelle.

Conclusion

Le dosage phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait eau-acétone de la partie aérienne de *Artemisia herba alba* ont révélé que le mélange d'extraction utilisée eau-acétone a permis la récupération d'un extrait sous forme solide avec un rendement important ainsi que l'enrichissement de cet extrait en composés phénoliques et en flavonoïdes. Ces composés ont attribué à l'extrait eau-acétone une forte activité antioxydante résumée en un puissant effet anti radicalaire sur le DPPH et réducteur de fer. Cet extrait a également montré son effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase, ce qui peut qualifier l'armoise blanche comme plante antidiabétique et antioxydante.

A la lumière de ces résultats préliminaires, il serait souhaitable de continuer cette étude par des travaux complémentaires qui s'intéressent à :

- Réaliser d'autres méthodes d'extraction avec d'autres solvants organiques, sur d'autres parties de la plante (racine et graines).
- Effectuer une analyse chimique d'extrait qui présente une meilleure activité pour la caractérisation de ces molécules phytochimiques.
- Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes *in vitro* : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Activity), et *in vivo* en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase).
- Evaluer *in vivo* l'activité antidiabétique en utilisant des animaux de laboratoire diabétiques
- Rechercher d'autres activités biologiques de cette plante telles que l'activité antifongique et antibactérienne.

Références bibliographiques

Ababsa Nahla et Boukaous Hamamet Allah khadidja, Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait méthanolique d'Artemisia herba alba, diplôme de master en Biochimie de la nutrition, 2018.

Abderrahim, S. E., & Kessoum, S. (2014). Activité antioxydante des polyphénols d'Artemisia herba alba. Université de Bedjaia.

Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., & Djaziri, R (2016). Etude phytochimique et évaluation du pouvoir anti radicalaire des extraits de Pituranthosscoparius. Phytothérapie,1-6.

Aicha, L., & Hamida, T. (2020). Optimisation de l'extraction de l'huile des extraits de l'huile de curcuma et évaluation de son activité antioxydante (Doctoral dissertation).

Amel, B. O. U. D. J. E. L. A. L. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (Ajuga iva, Artemisia herba alba et Marrubium vulgare) de la région de M'Sila, Algérie. Ajuga iva, Artemisia herba alba.

Ampa, R., Diatewa, M., Ahombo, G., Dimo, T., Nguimbi, E., & Abena, A. A. (2014). Effet de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de Trilepisium madagascariense Leeuwenberg DC (Moraceae) contre le stress oxydant associé au diabète sucré chez le rat. Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie, 10(4), 278-287.

Asima B., Ranajoy, Sankar M. et Sheila E.C. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. Physiology Rev the American Physiological Society, 94, 329-354.

Atamer, Aytac, Yuksel Kocyigit, Sabahat A. Eceder, Sahabettin Selek, Nevin Ilhan, Tefvik Eceder, et Yildiz Atamer. 2008. « Effect of Oxidative Stress on Antioxidant Enzyme Activities, Homocysteine and Lipoproteins in Chronic Kidney Disease». Journal of Nephrology 21 (6): 924-30.

Azzi, A. (2018). Many tocopherols, one vitamin E. Molecular aspects of medicine, 61, 92-103.

Baiti, I. (2013). Etude de l'activité antioxydante des feuilles de dix variétés algériennes de figuier (Ficus carica L.) (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

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

Behl, C. (2002). Oestrogen as a neuroprotective hormone. Nature Reviews Neuroscience, 3(6), 433-442.

Belfeki, H., Mejri, M., & Hassouna, M. (2016). Antioxidant and α -amylase inhibitory

activities of some Tunisian aromatic plants. *J New Sci Agri Biotechnol*, 31(6), 1775-1782.

Bengazi, A., .2017. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de feuilles et de cônes de *Pinus halpensis* (Pin d'Alep), master biochimie : molécules bioactives , université de Tlemcen .

Bendjilali. B, Richard. H ; Liddle.P: chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151, 1984.

Benfeled, P (1955), Amylase, α and β .*Meth. Enzymology*; 1: 149-158.

Berker, Kadriye Işıl, GÜÇLÜ, Kubilay, TOR, Izzet, et al..2007. Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, vol. 72, no 3, p. 1157-1165.

Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., and

Kaloustian J. (2010) Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*. 8(5). P277-281

Bonnefont-Rousselot D. and Collin F. (2010). Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*, 278, 55-67.

BOUCHAIBA S et HENDI L., 2017. Comportement de quelques populations d'Armoise blanche (*Artemisia herba alba*. Asso) à la salinité, Master production végétale et environnement, Université Mohamed Boudiaf - m'sila.

Boudina, N., & Chouya, B. (2019). Plantes médicinales et traitement anti cancer dans la région steppique du Hodna (M'sila) (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.

Boizot N., Charpentier J, (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatique, INRA ,79-82.

Cairo, G., Tacchini, L., Pogliaghi, G., Anzon, E., Tomasi, A., & Bernelli-Zazzera, A. (1995). Induction of ferritin synthesis by oxidative stress: transcriptional and post-transcriptional regulation by expansion of the "free" iron pool. *Journal of Biological Chemistry*, 270(2), 700-703.

Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

Chabosseau, S., & Derbré, S. (2016). Cancer du sein: recommandations sur l'usage de la phytothérapie. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(552), 45-49.

Chekroun, E., (2016). Contribution à l'étude phytochimique et recherche d'activité antioxydante et antidiabétique de deux curcubitacées : *Bryonia dioica* Jacq et *citrullus colocynthis* (L). Schad Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Combris, P., Amiot, M. J., Baberger-Gateau, P., Bouhsina, Z., Caillavet, F., Causse, M., ... & Champenois, A. (2008). Les fruits et légumes dans l'alimentation: enjeux et déterminants de la consommation (pp. 127-p). Editions Quae.

Dellile A(2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3^{ème} Ed. Berti, 6, 11-144.

Dif, M. M., Toumi, F. B., Boukaaza, H., Mokaddem, F., Benyahia, M., & Bouazza, S. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of *Artemisia herba-alba*, A medicinal plant from Algerian arid zone. *Phytothérapie*, 16(2), 91-95.

Dominique P. (2017). Un nouveau lien entre des taux élevés d'homocystéine, les cancers et les maladies neurodégénératives. *NOUVELLES MAGAZINES* m/s n° 5, vol .33.

El sayed S. Abdel-Hameed, Salih A. Bazaid, Mohammed. Shohayeb, Mortada M.EL sayedand Eman A. El waki (2012). Phytochemical studies and Evaluation of antioxidant, anticancer and antimicrobial Properties of *Concarpus erectus*.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-117.

FERCHICHI A., CHAIEB C., FERJANI E., 2004.Caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaines populations d'*Artemisia herba-alba* du sud tunisien. *CIHEMA*. Vol. (62):211- 216p

FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. *Réanimation*, 11(6), PP.411-420.

Galdston, M., Feldman, J. G., Levytska, V., & Magnusson, B. (1987). Antioxidant activity of serum ceruloplasmin and transferrin available iron-binding capacity in smokers and nonsmokers. *American Review of Respiratory Disease*, 135(4), 783-787.

Ghrabi Z. and Sand R.L. (2008). *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal.

Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Gutowski M. and Kowalczyk S. (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *ACTA biochimica polonica*, 60(1), 1-16.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. and Guessous Idrissi N. (2001). *B Soc Pathol*, 94: 29-31.

Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiiales productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées) (Doctoral dissertation, Lille 1).

J Liu X., Shen L., Zeng W., Qiu G, (2016). Polyphénols végétaux naturels pour soulager les dommages oxydatifs chez l'homme: état actuel et perspectives d'avenir. *Trop J Pharm Res* 2016; 15 (5): 1089-1098.

Karagozeler A., Erdag C, S., Calmaz Emed Y., (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Arystoechas hastate*. *Food chemistry*, 111, p 400-407.

Gotez, P., (2007). *Phytothérapie du diabète*. Springer ; 5 : 212-217 .

Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalcensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and chemical toxicology*, 55, 202-208.

Kim D O Jeong S W, et Lee C Y; (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food chemistry, 81, 321,326.

LACHRAF, A., & BOUALLAGA, I. (2018). L'effet antioxydant et antitoxique par des substances bioactives de *Coriandrum sativum* L. chez les rats Wistar albinos intoxiqué par Lambda-cyhalothrine.

Lee, Y. M., Gweon, O. C., Seo, Y. J., Im, J., Kang, M. J., Kim, M. J., & Kim, J. I. (2009). Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. Nutrition research and practice, 3(2), 156.

Letonturier, P. (2002). “Groing old gracefully”. Pour un vieillissement réussi. 31,1173.

Leverve, X. (2006). Stress oxydant et régulation de la glycémie: implications pour le syndrome métabolique. Obésité, 1(1), 11-15.

Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ; Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), pp.219-224.

Lisu,W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling,L.,Ming-Jiuan,W. (2003).Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn) .Journal of food and drug analisis, 11, 60-66.

Lovegrove, J A., Stainer, A., & Hobbs, D. A. (2017). Role of flavonoids and nitrates in cardiovascular health. Proceedings of the Nutrition Society, 1-13.

Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? Critical care, 10(1), 1-8.

Magné, N. (2017). Radiothérapie et biomarqueurs de la réparation de l'ADN. Bulletin du Cancer, 104(11), 981-987.

Marco, J. A. (1989). Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba* subsp. *Herba-alba*. Photochemistry, 28(11), 3121-3126.

Maroc,. (1984) congrès international de la société italienne de phytochimie, 131-151.

Mates, J.M. Perez-Gomez, C .Nunez de Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases .Clin biochem. Vol, 32, 595-603.

Mezouar, D., (2013). Recherche d'activité biologique de *Berberis vulgaris*. Mémoire de magister. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Migliore, L., & Coppedè, F. (2002). Genetic and environmental factors in cancer and neurodegenerative diseases. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 512(2-3), 135-153.

Mohamed, A. E. H. H., El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1).

NABLI, MA. 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Tome 1. Ed MAB (faculté des sciences de Tunis) : 186-188 p.

Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 367(1-2), 36-47.

Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307-315

Papa L., Manfredi. G. And Germain D. (2014). SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes and cancer*, 5(1-2), 15-21.

Park, P. J., Jung, W. K., Nam, K. S., Shahidi, F., & Kim, S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(6), 651-656.

Pastre, J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Doctoral dissertation).

Pastre, J., & Priymenko, N. (2007). Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de médecine vétérinaire*, 1(4), 180-189.

Peng C., Wang X., Chen J.,Jiao R., Wang L., Li Y.M.,Zuo Y.,Liu Y .,Lei L ., Ma K.Y., Huang Y. and Chen Z.Y. (2014) . Antioxidants biology of ageing and role of dietary. *BioMed Research international*, ID 831841, 1-13. *Plants in North Africa*, 49 - 49.

Popovici C, Saykova I, Tylkowski B (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH ; *Revue de Génie industriel*, 4 :26-39.Rad. RES.

Pourrut, B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb.

Quezel and S. Santa, Nouvelles flores d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed C.N.R.S. Tome I., pp 17-22 Paris, France (1963).

Reiter, R. J. (2000). Melatonin: lowering the high price of free radicals. *Physiology*, 15(5), 246-250.

Riccici D, Giamperi L, Bucchini A, Fraternali D (2006). Biologie végétal. Antioxidant activity of Punica granatum fruits. *fitoterapia*. 77 (4):310-312.

Rochette, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, 17(6), 1-4.

Roginsky V ET lissi E, (2005) review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food chemistry 92,235,254.

S. Djebaili, Steppe Algérienne. *Phytosociologie et Ecologie*, Office des Publications Universitaires., pp 1-138 Alger, Algeria (1984).

Salah, S. M., & Jäger, A. K. (2005). Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of ethno pharmacology*, 97(1), 145-149.

Saleh, N. A., El-Negoumy, S. I., & Abou-zaid, M. M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 26(11), 3059-3064.

Sanja S. D. Sheth N.R, patel NK, Dhaval patel, Biraju patel (2009). Characterization and evaluation of antioxidant activity of *portulaca oleracea*. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, vol.1 issu 1, july-sep.

Sanogo Idrissa et Sissoko Amara (2020). Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* de la région de Bamako au Mali. *Master Biochimie Appliquée*. Université de Tlemcen.

SARA, S. (2019). TAXONOMIES ET PRINCIPES ACTIFS DES PLANTES MEDICINALES (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation a Magder, S. (2006).* *Nd Integration*, 82(2), 291-295.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality; *Comptes rendus biologies*, 327(7), 649-662.

Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. and Tastekin A. (2006). Hypoglycemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50: 235-238.

Tokarz P., Kaarniranata K. and Blasiak J. (2013) . Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology*, 14, 461-482.

Tyśkiewicz, K., Konkol, M., Kowalski, R., Rój, E., Warmiński, K., Krzyżaniak, M., ... &

Stolarski, M. J. (2019). Characterization of bioactive compounds in the biomass of black locust, poplar and willow. *Trees*, 33(5), 1235-1263.

Vacheron.S., Vacheron.S., la phyto-aromathérapie à l'officine. Paris. **2010.**

Vallard, A., Rancoule, C., Guy, J. B., Espenel, S., Sauvaigo, S., Rodriguez-Lafrasse, C.,

William S.H., Rene S.F., Luiji C., Ren N. ET Qitao R. (2017). Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. *Redox Biology*, 12,8-17 .

Yin Y., Gong F.Y., XinWu X., Sun Y., Li Y., Chen T. and Xu Q. (2008). Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J Ethnopharmacol*, 120: 1–6.

Zhang,H.& Forman,H.J. (2012).Glutathione synthesis and its role in redox signaling .In *Seminars in cell & developmental biology* , 23, 722-728 .

Zouari, S., Zouari, N., Fakhfakh, N., Bougatef, A., Ayadi, M. A., & Neffati, M. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba Alba* Asso. *Journal of medicinal plants research*, 4(10), 871-880.

Abstract

Mugwort "Artemisia herba alba" is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family, known by the vernacular name "Chih". It is widespread in southern Algeria, and widely used in traditional medicine for its many virtues.

The objective of this work is to evaluate in vitro the antioxidant and antidiabetic activity of the water-acetone extract of Artemisia herba alba prepared by a decoction under reflux.

The determination of polyphenols and total flavonoids showed a high content of the order of 542.7 $\mu\text{g EAG} / \text{mg E}$ and 267.28 $\mu\text{g EC} / \text{mg E}$, respectively. Regarding the study of antioxidant activity, using the DPPH radical scavenging and iron reduction (FRAP) method we revealed significant activity with IC50 values of 30.51 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and d 'EC50 equal to 128.88 $\mu\text{g} / \text{ml}$, respectively. The water-acetone extract showed remarkable antidiabetic activity in vitro by inhibiting the activity of α -amylase, which has an IC50 value of 606.18 $\mu\text{g} / \text{ml}$. The antioxidant (FRAP, DPPH) and antidiabetic activity by inhibition of α -amylase in the extract of Artemisia herba alba are probably related to the richness of this extract in polyphenols and flavonoids.

The water-acetone extract of Artemisia herba alba has revealed its richness in phenolic compounds, and its interesting antioxidant capacities by exhibiting an anti-free radical and iron reducing power, and antidiabetic by inhibiting the activity of α -amylase. In conclusion, these results allow to qualify Artemisia herba alba as an antioxidant and antidiabetic plant.

Key words: Artemisia herba alba, phenolic compounds, DPPH, FRAP, α -amylase.

المخلص

"Artemisia herba alba" هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Asteraceae ، المعروفة بالاسم العام "Chih" إنه منتشر في جنوب الجزائر ، ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لفضائله العديدة

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة ومضاد السكر في المختبر لمستخلص الأسيبتون المائي من Artemisia herba alba المحضر بواسطة مغلي تحت الارتجاع.

أظهر تحديد البوليفينول والفلافونيدات الكلية محتوى عاليًا بترتيب 542.7 ميكروغرام $\text{EAG} / \text{mg E}$ و 267.28 ميكروغرام $\text{EC} / \text{mg E}$ على التوالي. فيما يتعلق بدراسة نشاط مضادات الأكسدة ، باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH وتقليل الحديد (FRAP) ، كشفنا عن نشاط كبير بقيمة IC50 30.51 ميكروغرام / مل و EC_{50} تساوي 128.88 ميكروغرام / مل ، على التوالي. أظهر مستخلص الأسيبتون المائي نشاطًا رائعًا مضادًا لمرض السكر في المختبر عن طريق تثبيط نشاط α -amylase ، الذي تبلغ قيمته IC50 606.18 ميكروغرام / مل. مضادات الأكسدة (FRAP) ، (DPPH) والنشاط المضاد لمرض السكر عن طريق تثبيط α -amylase في مستخلص Artemisia herba alba من المحتمل أن تكون مرتبطة بثناء هذا المستخلص في البوليفينول والفلافونويد.

كشف مستخلص الأسيبتون المائي من نبات Artemisia herba alba عن ثرائه في المركبات الفينولية ، وقدراته المضادة للأكسدة المثيرة للاهتمام من خلال إظهار قوة مضادة للجذور الحرة وتقليل الحديد ، ومضاد لمرض السكر عن طريق تثبيط نشاط α -amylase. في الختام ، تسمح هذه النتائج بتصنيف Artemisia herba alba كمضاد للأكسدة ومضاد لمرض السكر.

الكلمات المفتاحية: Artemisia herba alba ، phenolic compounds ، DPPH ، FRAP ، α -amylase.