

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان -

Université ABOU BEKR BELKAID -TLEMEN-



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



Département de Biologie

Laboratoire : Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :
Synthèse et activités biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences biologiques

Option : Biochimie

Thème :

**Etude phytochimique et évaluation de l'effet hémolytique des
extraits préparés de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*
(Chiba).**

Présenté par :
M^{elle} Medj yousra

Soutenu le 21-06-2023 devant les membres de jury :

Président	M. Chauche tarik mohammed	Univ. Tlemcen
Encadreur	M. AZZI Rachid	Univ. Tlemcen
Co-encadreur	Mme. Abbou fayza	Univ. Tlemcen
Examinatrice	Mme.Meaouar dounia	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier sincèrement le Tout-Puissant d'avoir guidé mes études tout au long de ces années et de m'avoir donné la patience et la force nécessaires pour parcourir ce chemin et mener à bien ce travail modeste.

*Je voudrais exprimer mes profonds remerciements et ma reconnaissance envers mon encadreur, M. **AZZI Rachid**, Professeur, au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers de l'université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid. Tout d'abord, je le remercie d'avoir accepté d'encadrer ce travail et de m'avoir prodigué de précieux conseils, fait preuve de patience et s'est rendu disponible tout au long de ces mois. De plus, ses précieuses informations ont enrichi ce travail de manière significative.*

*J'adresse mes sincères remerciements à M. **Chauche tarik mohammed**, maîtres de conférences de classe "A" au département de biologie de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en présidant ce jury.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers Mme. **Meaouar dounia**, maîtres de conférences de classe "B" au département de biologie de l'université de Tlemcen, pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

Je remercie également les doctorants en biologie qui m'ont apporté leur aide précieuse au laboratoire, en partageant leurs conseils. Je tiens particulièrement à exprimer mes sincères remerciements à Melle Abbou Fayza pour sa disponibilité, ses sacrifices et son apprentissage constant tout au long des manipulations. Que Dieu la protège et l'accompagne sur son chemin.

Je souhaite également exprimer ma gratitude envers mes anciens professeurs qui ont su me transmettre leur passion pour la biologie, ainsi qu'à toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide.

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes chers parents, Moussa et Souria,

Mes trésors, les deux personnes les plus chères de ma vie, je vous envoie toutes mes grâces et mes remerciements sincères pour votre soutien, votre patience, vos encouragements et vos prières tout au long de ces années d'études. Rien ne suffit pour exprimer ma gratitude envers vous. Vous êtes la raison de toutes mes réalisations et succès, et sans vous, rien n'aurait été possible. Que Dieu vous protège, vous accorde la santé et le bien-être.

À ma grand-mère,

Qui m'a toujours couvert de ses prières et de ses encouragements, je prie pour qu'elle repose en paix dans la miséricorde de Dieu.

À mes chers frères, Khalil, Younes et Abd rahman,

Merci de m'avoir soutenu dans ces moments difficiles. Votre présence et votre soutien ont été d'une importance capitale pour moi.

À mes chères sœurs, Douaa, Amina et Romaiassa,

Que Dieu vous garde et vous protège. Votre amour et votre soutien ont été inestimables pour moi.

À mes uniques et chères sœurs, Chaimaa et Fatima,

Celles qui m'ont appris l'amitié, le sourire et l'amour. Que Dieu vous garde toujours à mes côtés et vous protège tout au long de votre vie.

À Rahma,

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toi. Du fond du cœur, je te dis merci. Merci pour ton amour inconditionnel, ta bienveillance et ton soutien constant. Je suis infiniment reconnaissante de t'avoir à mes côtés, de pouvoir compter sur toi en toutes circonstances.

À toutes les personnes qui m'ont encouragé et aidé, Faiza, Soufain, Fouzia, Rachida et Djamel,

Merci pour votre soutien précieux,

À tous mes collègues de la promotion Biochimie,

Avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années, je vous remercie pour notre camaraderie et notre soutien mutuel.

À mes grands-parents, oncles, tantes, cousins et cousines,

Merci pour votre amour et votre soutien constants.

*Avec tout mon amour et ma gratitude, **Yousra***

ملخص

الشبية عشب معمر من عائلة النجمية. يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه الطبية.

يهدف هذا العمل الى الدراسة الكيميائية النباتية، التحليل الكمي للبوليفينول والفلافونويد وتقييم التأثير الانحلالي لكريات الدم الحمراء لمستخلصات الهيدروميثانول الخام واجزاء أسيتات الإيثيل المحضرة عن طريق تفكيك أو نقع الجزء الجوي من الشبية.

كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية على المستخلصات الخام المختلفة للهيدروميثانول للنبات المدروس عن ثراء هذا النبات من الالكويدلت و الفلافونيد والعفص والصابونين والمركبات المختزلة. في حين أن الأنتراكينون والكينونات الحرة والفلافونويد لم يتم الكشف عنها في جميع المستخلصات المدروسة.

تم تحديد مستويات المركبات الفينولية من خلال طريقة القياس الطيفي باستخدام كاش-Ciocalteu Folin، لتحديد إجمالي البوليفينول ، وكلوريد الألومنيوم في الوسط القاعدي لتحديد الفلافونويد. أظهرت النتائج أن جزء أسيتات الإيثيل المستخرج من المستخلص الخام الذي تم إعداده عن طريق الغلي هو الأغنى في البوليفينول والفلافونويد، مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تمت دراستها، بمستويات قدرت ب 215.95 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميلليغرام مستخلص و243.75ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ميلليغرام مستخلص، على التوالي.

كشفت نتائج الدراسة حول تأثير انحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصات، على كريات الدم الحمراء المعزولة من دم الإنسان، المحتضنة، لمدة 45 دقيقة، في وسط (pH 7.4) عند 37 درجة مئوية، أن جزء أسيتات الإيثيل من المستخلص الخام المحضر عن طريق النقع له أعلى تأثير انحلال دموي مقارنة بالمستخلصات الأخرى المدروسة، بمستوى انحلال دموي بلغت حوالي 32.6% بتركيز 6 ملغم/مل مقارنة بانحلال الدم الكلي.

الكلمات الرئيسية: الشبية، دراسة كيميائية نباتية، إجمالي البوليفينول، الفلافونويد، تأثير انحلال الدم، السمية.

Résumé

L'Artemisia absinthium, également connue sous le nom d'absinthe, est une plante herbacée vivace de la famille des Astéracées. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés médicinales.

De notre part, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique, le dosage polyphénols et flavonoïdes et évaluation de l'effet hémolytique des extraits bruts hydrométhanolique et leurs fractions acétate d'éthyle préparés par décoction ou macération de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

Les tests phytochimiques sur les différents extraits bruts hydrométhanoliques de la plante étudiée, ont révélé la richesse de cette plante en alcaloïdes, des terpénoïdes, des tanins, des saponines et composés réducteurs. Tandis que les anthraquinones, les quinones libres, et les flavonoïdes sont notés absents dans l'ensemble des extraits étudiés.

Les teneurs en composés phénoliques ont été déterminées par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, pour le dosage des polyphénols totaux, et le chlorure d'aluminium en milieu alcalin pour le dosage des flavonoïdes. Les résultats ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction est la plus riche en polyphénols et en flavonoïdes, par rapports aux autres extraits étudiés, avec des teneurs de l'ordre de 215,95µg EAG / mg MS et 243,75µg EC / mg MS, respectivement.

Les résultats de l'étude sur l'effet hémolytique des extraits préparés, sur des érythrocytes isolés du sang humain, incubés, durant 45min, dans un milieu tampon PBS (pH 7,4) à 37°C, ont révélé que la fraction d'acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération présente l'effet hémolytique le plus élevé, par rapport aux autres extraits étudiées, avec un taux d'hémolyse d'ordre de 32,6% à une concentration de 6 mg/ml, comparé à l'hémolyse totale.

Mots clés : *Artemisia Absinthium*, étude phytochimique, polyphenols totaux, flavonoides, effet hémolytique, toxicité.

Abstract

Artemisia absinthium, also known as wormwood, is a herbaceous perennial plant in the of the Asteraceae family. It is widely used in traditional medicine for its medicinal properties.

For our part, we were interested in the phytochemical study, polyphenol and flavonoid determination and flavonoids, and evaluation of the hemolytic effect of hydromethanolic crude extracts and their ethyl acetate fractions prepared by decoction or maceration of the aerial part of *Artemisia absinthium*.

Phytochemical tests on the various hydromethanolic crude extracts of the plant revealed the plant's high content of alkaloids, tepenoids, tannins, saponins and saponins and reducing compounds. While anthraquinones, free quinones and flavonoids were flavonoids were absent in all the extracts studied.

Phenolic compound contents were determined spectrophotometrically spectrophotometric method, using Folin-Ciocalteu reagent for total plyphenols and and aluminum chloride in alkaline medium for flavonoids. The results showed that the ethyl acetate fraction recovered from the crude extract prepared by decoction is the richest in polyphenols and flavonoids, compared to the other extracts studied, with contents of the order of 215.95 μ g GAE / mg DW and 243.75 μ g CE / mg DW, respectively.

The results of the study on the hemolytic effect of hydromethanolic crude extracts of the aerial part of aerial; and their ethyl acetate fractions ethyl acetate fractions, on erythrocytes isolated from human blood, incubated, for 45min, in PBS buffer medium (pH 7.4) at 37°C, revealed that the ethyl acetate fraction recovered from the crude extract prepared by maceration had the highest hemolytic effect, compared with the other extracts studied, with a hemolysis rate of around 32.6% at a concentration of 6 mg/ml, compared with total hemolysis.

Key words: *Artemisia Absinthium*, phytochemical study, total polyphenols, flavonoids, hemolytic effect, toxicity.

Table des matières

Table des matières	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux.....	III
Liste d'abréviation I.....	V
Partie I : Synthèse bibliographique	1
Partie II : partie expérimentale.	
Chapitre I : matériels et méthodes.	
1. Matériel végétal	11
2. Préparation des extraits	12
2.1.1. Décoction	12
2.1.2. Macération	12
2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydro-méthanolique	13
2.2.1. Extraction liquide par l'hexane.....	13
2.2.2. Fractionnement par l'acétate d'éthyle.....	14
2.3 Calcul des rendements	14
3. Tests phytochimiques	16
3.1. Les composés azotés	16
3.2. Les composés phénoliques	16
3.3. Composés terpéniques	17
3.4. Les composés réducteurs	17
4. Dosage des composés phénoliques	17
4.1. Dosage des polyphénols totaux	17
4.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	18
5. Analyse biologique : recherche d'effet hémolytique d'extraits préparés	20
5.1. Préparation du phosphate buffer saline (PBS)	20
5.2. Préparation de la suspension érythrocytaire	20
5.3. Préparation des extraits	20
5.4. Test d'hémolyse	20
6. Analyse statistique	21
6.1. La moyenne.....	21
6.2. L'écart- type	21
6.3. Test Student.....	22

Partie III : Résultats et interprétations	
1. Rendement d'extraction	24
2. Caractéristiques des extraits obtenus	24
3. Les tests phytochimiques	25
4. Dosages des composés phénoliques	26
4.1. Dosage des polyphénols totaux	26
4.2. Dosage des flavonoïdes	28
5. Recherche de l'effet hémolytique des extraits préparés de la partie aérienne d'Artemisia absinthium.....	29
Partie IV : Discussion	35
Partie V : Conclusion et perspectives	40
Parties VI : Références bibliographiques	

Liste des figures

Figure 1 : Partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	2
Figure 2 : Différentes parties d' <i>Artemisia absinthium</i> A : Les feuilles ; B : Les fleurs ; C : Les racines ; D : Les tiges.	4
Figure 3 : Mécanisme d'hémolyse intra et extra vasculaire	9
Figure 4 : <i>Artemisia absinthium</i> sur site de récolte	11
Figure 5 : feuilles d' <i>Artemisia absinthium</i> pendant séchage	12
Figure 6 : feuilles d' <i>Artemisia absinthium</i> séchées et découpées	12
Figure 7 : Montage décoction sous-reflux	13
Figure 08 : Schéma récapitulatif pour la préparation des extraits des feuilles d' <i>Artemisia absinthium</i>	15
Figure 09 : la courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage de PPT.....	27
Figure 10 : La teneur en polyphénols totaux dans les différentes préparations de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	27
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	28
Figure 12 : La teneur en flavonoïdes dans les différentes préparations de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	29
Figure 13 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i> préparé par décoction (EBD), incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.....	30
Figure 14 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i> préparé par macération (EBM), incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.....	30

Figure 15 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle récupérés de l'extrait brut préparé par décoction(FAED) de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.....31

Figure 16 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle récupérés de l'extrait brut préparé par macération (FAEM) de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.....31

Figure 17 : Évolution des taux d'hémolyse (%) en fonction des concentrations des différents extraits bruts hydroalcooliques préparés par décoction ou macération et leurs fractions acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, après 45min d'incubation.....33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique <i>Artemisia absinthium</i>	6
Tableau 2 : Méthode de dosage des polyphénols totaux.....	18
Tableau 3 : Méthodes de dosage des flavonoïdes.....	19
Tableau 4 : rendement d'extraction des différentes préparations de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	21
Tableau 5 : Caractéristiques des différents extraits préparés de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	25
Tableau 06 : Tests phytochimiques de différents extraits de la partie aérienne d' <i>Artemisia absinthium</i>	26

Liste d'abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PH : Potentiel hydrogène.

Hb : hémoglobine.

v/v : volume à volume.

EBD : extrait brute décoction.

EBM : extrait brute macération

FAEM : fractionnement d'acétate d'extrait de macération.

FAED : fractionnement d'acétate d'extrait de décoction.

R : rendement.

UV : ultra-violet.

PBS : phosphate buffer saline.



Synthèse bibliographique

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies **(Sanago, 2006)**.

La définition d'une plante médicinale est très simple. Ce sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Farnsworth et al., 1985)**

Le développement des plantes médicinales est un domaine de recherche important dans la médecine traditionnelle, en particulier dans les pays en développement, car les plantes médicinales sont souvent utilisées comme traitement primaire pour de nombreuses maladies. Ces plantes contiennent une grande variété de composés chimiques, tels que des alcaloïdes, des terpènes et des flavonoïdes, qui présentent des propriétés pharmacologiques intéressantes. **(Sarikurkcu, 2019)**.

D'après Ritter (2018), il existe plus de 70 000 espèces de plantes médicinales dans le monde. **(Ritter, 2018)**. L'Organisation mondiale de la santé **(OMS)** a estimé que 70 à 80 % de la population des pays en développement dépendent de la médecine traditionnelle à base d'herbes médicinales comme soins de santé primaires **(OMS, 2002)**.

La médecine traditionnelle est la pierre angulaire qui dynamise la recherche scientifique pour explorer de nouvelles approches thérapeutiques.

La flore médicinale algérienne est riche et diversifiée, avec une grande variété de plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Selon une étude menée en 2016, l'Algérie compte environ 2000 espèces de plantes médicinales, dont 500 espèces sont endémiques et 700 espèces sont utilisées pour des propriétés médicinales. **(Boudjelal et al, 2016)**.

Une étude a montré que la région de Tlemcen compte plus de 500 espèces végétales, dont un grand nombre ont des propriétés médicinales **(Zeghichi et al, 2017)**.

Le genre *Artemisia*, faisant partie de la famille des Astéracées, comprend environ 500 espèces réparties dans le monde entier **(Maria et al, 2013)**. En Algérie, plus d'une dizaine d'espèces ont été identifiées. Certaines d'entre elles sont rares et se trouvent dispersées dans les hautes montagnes, tandis que d'autres sont abondantes et répandues sur de vastes zones.

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont utilisées, non seulement, dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Les parties de la plante les plus utilisées en phytothérapie sont les feuilles et les sommités fleuries. **(Younes, Kawther, 2015)**.

L'Artemisia absinthium ou *absinthe* est l'une des plus anciennes plantes médicinales connue pour ses propriétés antifongique, antibiotique, insecticides, et ses huiles essentielles qui ont d'autres activités biologiques (Wright, 2002). Le nom *Artemisia* est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie "imbuvable" à cause du goût très amer de la centrale. Elle possède une forte odeur (**essence d'absinthe**) et une saveur amère due à l'absinthine (**Figure 1**) (Mansour, 2015).



Figure 1 : Partie aérienne d'*Artemisia absinthium* (www. gettyimages. Fr, 2022)

L'Absinthe est connue sous plusieurs noms scientifiques : *Artemisia absinthium* var. *Insipida* Stechm. *Absinthium officinale*; *Absinthium vulgare*; *Artemisia pendula* (Tela Botanica, 2019)

Elle est connue localement sous le nom de « Chiba ». Elle porte plusieurs noms :

- **Arabe** : Chiha coracani , Chaibet el Adjouz , Degnatech Cheik, Chiba, Chadjert Merieme (Chemour, 2005).
- **Français** : Absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine armoise amère (Ghédira et Goetz,2016) .
- **Anglais** : Wormwood (Quinlan et al., 2002).

L'Artemisia absinthium appartient à la famille des astéracées, sa classification botanique d est la suivante (Ansari et al,2019) :

- Règne : Plantae.
- Sous-règne : Tracheobionta.
- Super-division : Spermatophyta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae.
- Ordre : Asterales.
- Famille : Asteraceae
- Genre : Artemisia
- Espèce : *Absinthium*.
- *Nom binomial* : *Artemisia absinthium* L.

L'Artemisia absinthium une plante aromatique, herbacée et vivace de 40 –100 cm de la hauteur à tige ligneuse (Tariq et al.,2009).

- ✓ Les feuilles sont très divisées, ovées, gris-verdâtre au-dessus, blanche au-dessous, soyeuse, pétiolées et profondément découpées en lanières obtuses. Les feuilles inférieures sont tri- pennatiséquées et les supérieures sont moins divisée (**Figure 2-A**) (Mansour, 2015).
- ✓ Les racines sont pivotantes avec un diamètre de 5 cm et ramifications s'étend dans toutes les directions jusqu'à 72 cm (**Figure 2-C**) (Mubashir et al., 2017).
- ✓ Les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées et ramifiées (**Figure 2-D**).
- ✓ Les fleurs de couleur jaune sont produites de juillet à octobre. Elles sont petites et globulaires (GoudetSwamy,2015) (**Figure 2-B**).
- ✓ Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette (Belaidi et Boubendira, 2018).



A : Feuilles



B : Fleurs



C : Racines



D : Tige

Figure 2 : Différentes parties d'*Artemisia absinthium* A : Les feuilles ; B : Les fleurs ; C : Les racines ; D : Les tiges. (Www.gettyimages. Fr,2022)

L'absinthe pousse facilement à une altitude de 600 à 1000 mètre sur des terrains propres, aérés et rocailleux. La plantation exige des endroits bien ensoleillés, une terre souple légère et des sols riches en azote. Elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans les zones arides et sèches. (Skiredj et al ,2002) .

L'Absinthe est une plante qui trouve son origine dans le sud de la Sibérie et le Cachemire. Elle est cultivée dans plusieurs pays, tels que les Balkans, l'Angleterre, la France, l'Afrique du Nord (Algérie et Maroc), ainsi que dans l'est de l'Amérique du Nord, notamment au Canada et en Turquie. (Swerdlov, 2000).

Elle possède une longue histoire d'utilisation médicinale, à la fois dans la médecine traditionnelle et la pharmacologie moderne. Les Grecs et les Romains l'employaient pour lutter contre les troubles de la ménopause, ainsi que comme vermifuge et fébrifuge (Padosch et al.,

2006). Elle est mentionnée dans l'histoire européenne comme une plante médicinale polyvalente utilisée pour traiter de nombreuses affections différentes (Baker,2001). Traditionnellement, l'infusion des parties aériennes de l'absinthe préparée sous forme de boisson était utilisée pour soulager les maux d'estomac, les coliques et pour éliminer les parasites intestinaux (Torres et al., 2019).

L'extrait d'*Artemisia absinthium* présente plusieurs activités biologiques intéressantes, notamment.

- Une forte activité antioxydante, ce qui signifie qu'il est capable de protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Cette activité est attribuée à la présence de composés phénoliques, flavonoïdes et terpénoïdes dans l'extrait.
- Une activité antimicrobienne significative contre plusieurs souches bactériennes et fongiques. Cette activité est due à la présence de composés volatils tels que le thuyone et l'absinthine, qui ont des propriétés antimicrobiennes.
- Une activité anti-inflammatoire, attribuée à la présence de composés tels que l'artémisinine et les flavonoïdes dans l'extrait.
- contre certains parasites tels que *Plasmodium falciparum*, qui est responsable de la malaria.
- Une activité cytotoxique, attribuée à la présence de composés tels que l'artémisinine dans l'extrait (Kumar et al,2018).

La plante d'absinthe (*Artemisia absinthium*) est constituée d'un grand nombre de composés chimiques, dont la plupart se retrouvent dans l'huile essentielle d'absinthe. Les principaux constituants chimiques d'*Artemisia absinthium* sont consignés dans le tableau suivant (Ghédira et al., 2016).

Tableau 1 : Composition chimique *Artemisia absinthium* (Belaidi et Boubendira, 2018).

Famille de constituants chimique	Constituants chimique
Huile essentielle (0,2 à 1,5%)	α et β -thuyone (33,1–59,9% dans le chémotype à β -thujone), chamazulène, acétate de trans-sabinène (18,1–32,8%), myrcène, cis-époxy-ocimène, acétate de chrysanthényl, thuyol, linalol, 1,8-cinéole, α -bisabolol, β -pinène, β -curcumène, spathulénol, trans-sabinène
Flavonoïdes	myricétine, quercétine, kaempférol, rutine, hespéridine, naringénine
Acides phénoliques	Acides salicylique, cafeique, gallique, pcoumarique, férulique, vanillique, β -resorcylique et protocatechuique

Ces composés chimiques ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des métabolites secondaires, produits des réactions chimiques ultérieures. (Judd et al., 2002).

Le métabolisme secondaire est le processus biochimique par lequel une cellule, un tissu ou un organisme produit des métabolites qui ne sont pas essentiels à la croissance, au développement ou à la reproduction, mais qui ont des fonctions spécifiques telles que la défense contre les herbivores, la communication avec d'autres organismes, ou la protection contre les radiations et les toxines (Joshi et al., 2020).

Ces métabolites comprennent des composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes, les phénols, les tanins et les anthocyanes, et sont produits par les plantes, les champignons et les bactéries (Bhat and Fayaz, 2011).

Cependant, il est important de noter que certaines plantes médicinales peuvent être toxiques à des doses élevées ou lorsqu'elles sont utilisées de manière inappropriée, soulignant l'importance d'une utilisation prudente et éclairée de ces plantes.

La plante est considérée toxique lorsqu'elle contient une ou plusieurs substances nuisibles pour l'homme ou pour les animaux (Lévy et al., 2008).

Des recherches portant sur les effets indésirables de la phytothérapie démontrent que la majorité des effets néfastes associés aux plantes médicinales sont généralement attribués à une

erreur d'identification plutôt qu'à la plante elle-même (Zeggwagh et al., 2013). La toxicité des plantes médicinales est également influencée par la partie spécifique de la plante utilisée ainsi que par les quantités consommées (Soumyanath, 2006).

De plus, les plantes contiennent des mélanges complexes de terpènes, alcaloïdes, saponines et autres substances chimiques. Ce qui augmente le risque de réactions indésirables par leurs effets additifs ou synergiques des interactions chimiques (Trevoux et al., 2000 ; Saad et al., 2006).

Bien que *Artemisia absinthium* soit appréciée pour ses propriétés médicinales, elle contient également des composés toxiques tels que la thuyone, qui peut causer des effets néfastes sur la santé humaine. Des études ont montré que la consommation à long terme de thuyone peut entraîner des convulsions, des hallucinations, des dommages au foie et au système nerveux, ainsi que d'autres effets indésirables. En outre, la thuyone est un neurotoxique potentiellement mortel et sa toxicité dépend de la dose et de la durée d'exposition. (smith et al, 2021).

Pour évaluer la toxicité *in vitro*, divers modèles cellulaires peuvent être utilisés. Le test d'hémolyse peut être étudié comme indicateur de cytotoxicité en vue de la disponibilité des érythrocytes et la facilité de contrôler leurs lyses en mesurant la libération d'hémoglobine (Sébahoun, 2006). De plus, la membrane érythrocytaire est un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaires (Wajeman, 1992).

Sanguines spécialisées responsables du transport de l'oxygène des poumons vers les tissus du corps. Les érythrocytes sont des cellules anucléées, ce qui signifie qu'elles ne possèdent pas de noyau, et sont donc incapables de se diviser ou de se répliquer. La forme des globules rouges est en forme de disque biconcave qui leur permet de se déformer et de passer à travers les capillaires les plus étroits. (Smith, 2019).

Les globules rouges renferment de l'hémoglobine (Hb), un pigment rouge qui confère leur teinte caractéristique aux érythrocytes. Elle représente environ un tiers de la masse totale des globules rouges. L'hémoglobine est le principal composant des globules rouges, assurant le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone (Menche et al., 2014).

La membrane plasmique des érythrocytes est connue par sa perméabilité sélective, sa résistante et sa flexibilité (Tortora et al., 2014).

Le phénomène d'hémolyse, signifie la destruction des érythrocytes avec la libération de leur contenu intracellulaire dans le liquide extracellulaire (Thomas, 2013). C'est un processus complexe qui peut avoir de graves conséquences pour la santé (Wang et al., 2019).

Il existe plusieurs types d'hémolyse avec des causes et des conséquences différentes :

L'hémolyse intravasculaire qui se produit lorsque les globules rouges sont brisés à l'intérieur des vaisseaux sanguins, tandis que l'hémolyse extravasculaire se produit lorsque les globules rouges sont brisés en dehors des vaisseaux sanguins, généralement dans les tissus (**Figure 3**).

L'hémolyse physiologique est un processus naturel qui se produit dans le corps lors du vieillissement des globules rouges du sang. Il s'agit d'un processus normal qui fait partie du cycle de vie des globules rouges. En effet, les globules rouges ont une durée de vie d'environ 120 jours, après quoi ils sont détruits et remplacés par de nouveaux globules rouges (**Wang et al., 2019**).

L'hémolyse pathologique est une destruction accélérée des érythrocytes qui peut être causée par différentes anomalies au niveau de la fabrication des cellules sanguines ou du globule rouge lui-même. Elle se caractérise par une libération anormalement élevée de l'hémoglobine dans le plasma sanguin et peut entraîner des complications cliniques graves telles que l'anémie, l'ictère et la formation de calculs biliaires. Les causes de l'hémolyse pathologique sont variées et peuvent inclure des anomalies génétiques, des maladies auto-immunes, des infections, des intoxications, des traumatismes ou des réactions à certains médicaments.

Le diagnostic repose sur la mesure de différents paramètres sanguins tels que le taux d'hémoglobine, la numération des érythrocytes, le taux de bilirubine ou la présence d'anticorps dirigés contre les érythrocytes. Le traitement dépend de la cause sous-jacente et peut inclure des médicaments immunosuppresseurs, des transfusions sanguines, ou la chirurgie. (**Peyrard et al., 2016**).

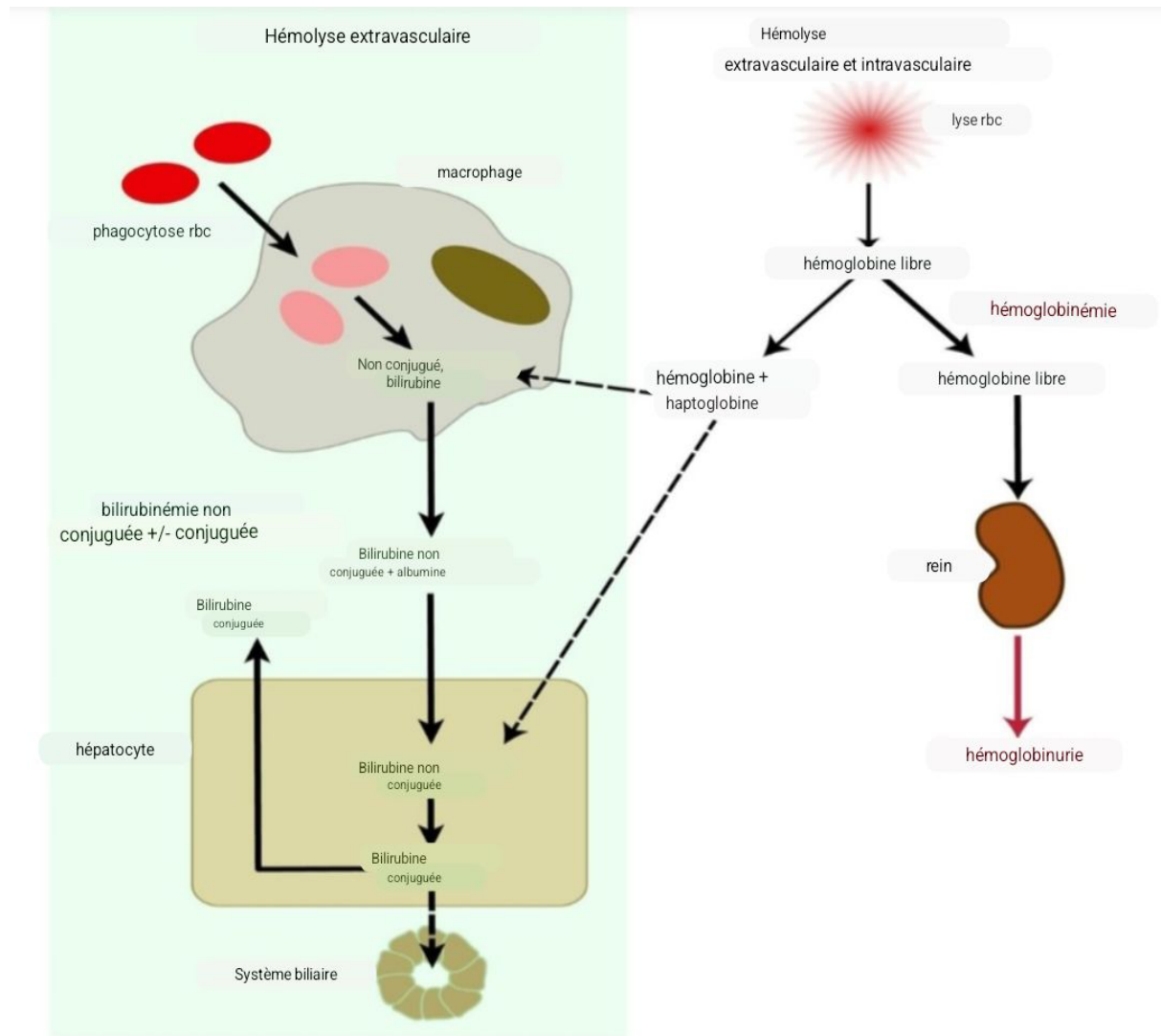


Figure 3 : Mécanisme d'hémolyse intra et extra vasculaire (Kacha,2020)

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et évaluation de l'effet hémolytique des extraits bruts hydrométhanolique et leurs fractions acétate d'éthyle préparés par décoction et macération de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.



Matériel et méthodes

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et activité biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

1. Matériel végétal

La récolte de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* (Feuilles ,Tige)été réalisée au mois décembre 2022 dans la région de El Bettim, Maghnia (Wilaya de Tlemcen) (**figure 4**). La partie aérienne récoltées ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant un mois (**Figure 5**). Une fois séchées, La partie aérienne ont été découpées à la main en petites morceaux (**Figure 6**).



Figure 4 : *Artemisia absinthium* sur site de récolte (photo personnelle, 2022)



Figure 5 : La partie aérienne d'*Artemisia absinthium* pendant séchage (photo personnelle, 2023)



Figure 6 : La partie aérienne d'*Artemisia absinthium* séchées et découpées (photo personnelle, 2023)

2. Préparation des extraits

A partir la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* séchées et découpées, nous avons préparé, par macération ou décoction, deux extraits bruts hydro-méthanolique et deux extraits obtenus après fractionnement par l'acétate d'éthyle des deux extraits bruts hydro-méthanolique.

2.1. Préparation des extraits bruts hydro-méthanolique

2.1.1. Décoction

- Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, nous avons mélangé 10g de la matière végétale avec 150ml du mélange eau-méthanol (30/70 : v/v) (**Figure 7**).
- L'ensemble est placé sous reflux dans un chauffe ballon .
- Le mélange est filtré .
- Le méthanol du filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapor à 60°C.
- L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction (EBD) est ainsi récupéré.

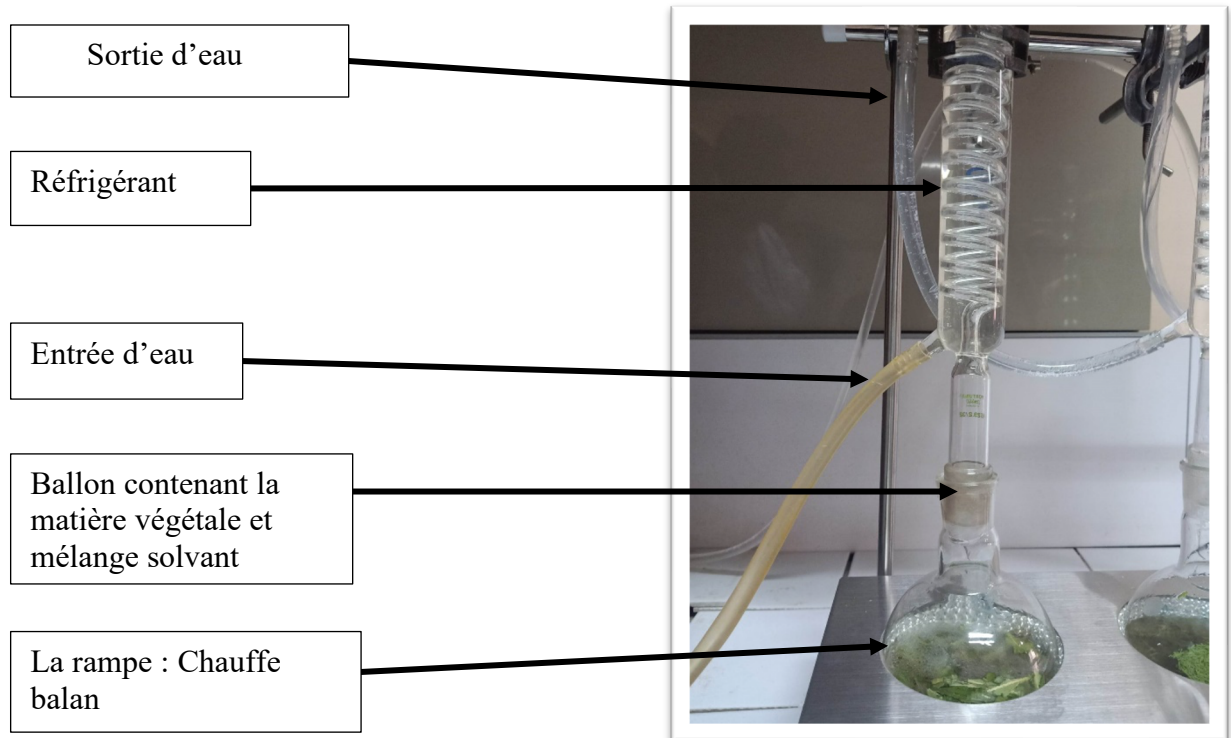


Figure 7 : Montage décoction sous-reflux (photo personnelle, 2023)

2.1.2. Macération

- Dans un Erlenmeyer, nous avons mélangé 10g de la matière végétale avec 150ml du mélange eau-méthanol (30/70 : v/v).
- Le mélange est laissé macérer à température ambiante pendant 48 heures.
- Le mélange est filtré.
- Le méthanol du filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapor à 60°C .
- L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération (EBM) est ainsi récupéré.

2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydro-méthanolique

Après évaporation du méthanol des extraits hydro-méthanoliques obtenus par macération ou décoction, une extraction liquide-liquide, à l'aide d'une ampoule à décanter, a été réalisée, en présence des solvants : l'hexane, pour éliminer la chlorophylle et la dilapidation, et l'acétate d'éthyle.

2.2.1. Extraction liquide par hexane.

- Dans une ampoule à décanter, nous avons mélangé l'extrait et l'hexane (v/v).

- Le mélange est bien agité, dégazé et laissé décanter.
- Après décantation, nous avons récupéré la phase aqueuse.
- Le lavage est réalisé deux fois.

2.2.2. Fractionnement par l'acétate d'éthyle

- La phase aqueuse récupérée est fractionnée par l'acétate d'éthyle (v/v) .
- Le mélange est bien agité, dégazé et laissé décanter .
- Après décantation, nous avons récupéré la phase organique .
- Le fractionnement est réalisé deux fois .
- L'acétate d'éthyle est évaporé à sec Rotavapor à 60°C.

La phase organique présente l'extrait acétate d'éthyle (FAEM) fractionné de l'extrait EBM ou l'extrait acétate d'éthyle (FAED) fractionné de l'extrait EBD.

Les deux extraits bruts hydrométhanolique obtenus (EBD et EBM) et leurs fractions respectives (FAED et FAEM) ont été séchés à sec à 35°C dans une étuve. Ils ont été conservés, par la suite, dans des tubes à 4°C et à l'obscurité.

2.3 Calcul des rendements

Les rendements obtenus à partir des extraits de la partie aérienne *d'Artemisia absinthium*, préparés par macération ou décoction et leurs fractions acétate d'éthyle, sont calculés à partir de l'équation suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

R (%) : rendement exprimé en pourcentage.

M1 : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu.

M0 : masse en gramme « g » du matériel végétal.

La figure 9 : représente un schéma qui résume les différentes méthodes de préparation des extraits et des fractions préparés à partir de la partie aérienne séchées et découpées *d'Artemisia absinthium*.

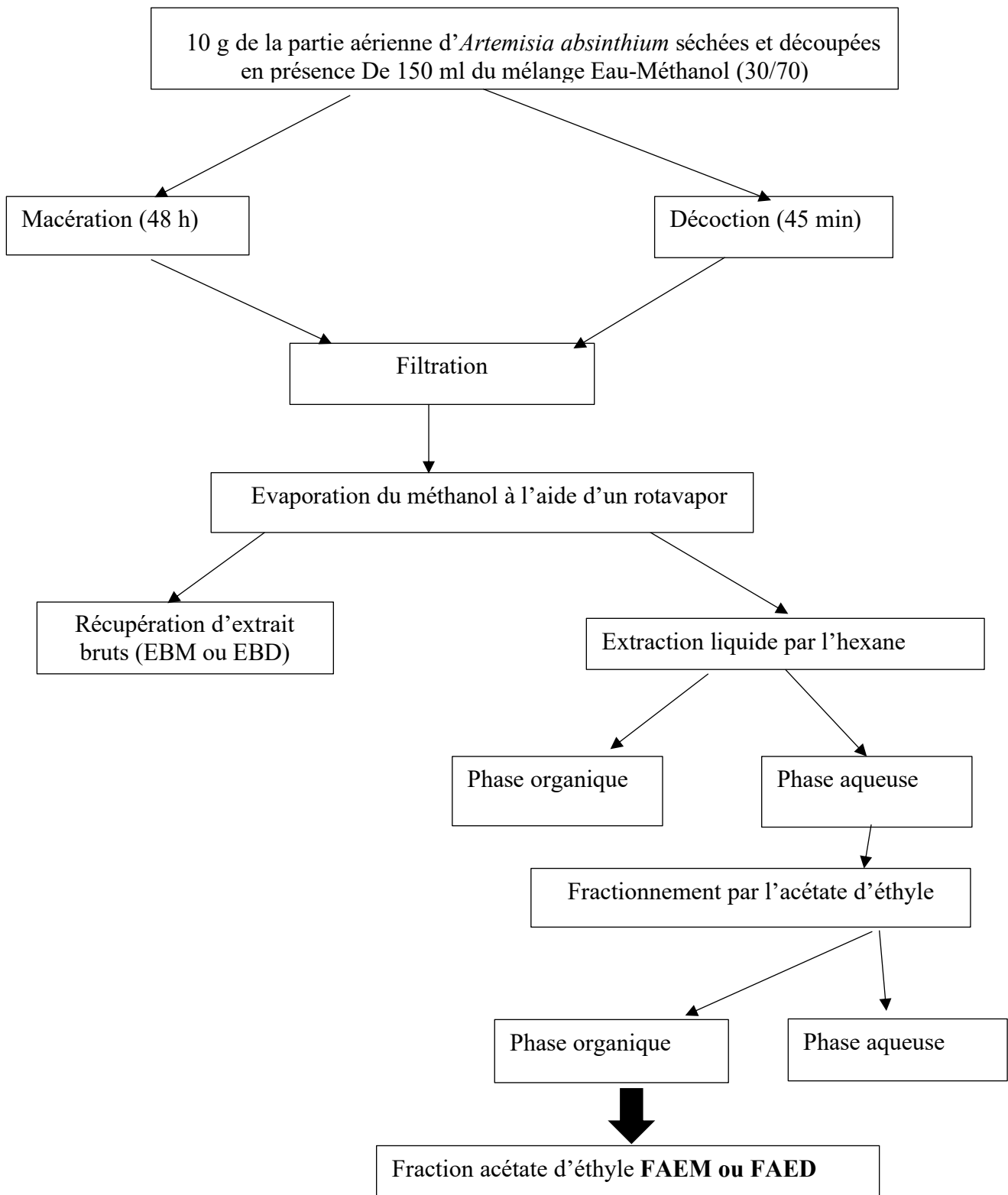


Figure 8 : Schéma récapitulatif pour la préparation des extraits de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

3. Tests phytochimiques

Des tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits bruts (EBD et EBM) obtenus, afin de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans la partie aérienne *Artemisia absinthium*. La présence ou l'absence de ces molécules se traduit par des réactions de coloration, précipitation ou mousse.

Ces tests ont été menés selon les techniques de caractérisation qualitatives décrites par Trease et Evans, (1989) Harborne (1998).

3.1. Composés azotés

• Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

3.2. Les composés phénoliques

• Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

• Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

• Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

• Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH₄OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

3.3. Composés terpéniques

• Les saponines (test de mousse)

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

• Terpénoïdes

Test de Slakowski: Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

3.4. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incubé l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par méthode spectrophotométrique suivant le protocole décrit par **Vermerius et Nicholson (2006)**.

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène ayant une absorption maximale à 700 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

➤ Mode opératoire

0,1 ml d'extrait(1mg/ml) est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 2%). L'ensemble est agité et incubé pendant 5 minutes. Puis, 0,1ml du réactif Folin-Ciocalteu 1N est ajouté. Le mélange final est incubé à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc (**Tableau 2**).

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique comme étalon à un intervalle de concentrations de 100 à 500µg/ml (**Tableau 2**).

Les résultats sont exprimés en en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/ mg E).

Chaque essai est répété 3 fois.

Tableau 2 : Méthode de dosage des polyphénols totaux.

	La gamme d'étalon (acide gallique) µg/ml							Extraits (1mg/ml)			
								EBD	EBM	FAED	FAEM
[Acide gallique] µg/ml	Blanc	30	100	200	300	400	500	-	-	-	-
Acide gallique (ml)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-
Eau distillée (ml)	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extraits (ml)	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Na ₂ CO ₃ (2% ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation et incubation pendant 5 min											
Folin-Ciocalteu (1N) (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min											
Mesure de l'absorbance à 700 nm											

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par le test de du trichlorure d'aluminium selon la méthode décrite par **Zhichene et al., (1999)**.

Le principe de cette méthode se repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le nitrite de sodium (NaNO₂) et le chlorure d'aluminium (AlCl₃) en composant un complexe de couleur rose absorbant à 510 nm.

➤ Mode opératoire

250 µl de l'extrait ou fractions (1mg/ml) sont mélangés avec 1ml d'eau distillée et 75 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 75 µl de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% sont ajoutés. Après 6 min de repos à température ambiante 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) (4%) est apporté au mélange. Le volume total est complété à 2,5 ml d'eau distillée. La solution finale est bien mélangée et gardée à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc (**Tableau 3**).

Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations de 1, 25 à 500µg/ml (**Tableau 3**).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C /mg ES).

Tableau 3 : Méthodes de dosage des flavonoïdes.

	La gamme d'étalon (catéchine) µg/ml								Extraits (1mg/ml)			
									EBD	EBM	FAED	FAEM
[Catéchine] µg/ml	Blanc	1,25	2,5	25	50	100	200	300	-		-	-
Catéchine (µl)	-	250	250	250	250	250	250	250	-		-	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250	250	250
Eau distillée (µl)	1250	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
NaNO ₂ (15%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1 ^{ère} incubation pendant 6 min à température ambiante												
AlCl ₃ (10%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2 ^{ème} incubation pendant 6 min à température ambiante												
NaOH (4%) (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3 ^{ème} incubation à l'obscurité pendant 30 min												
Mesure de l'absorbance à 510 nm												

5. Analyse biologique : recherche d'effet hémolytique d'extraits préparés

Le but de cette partie est la recherche d'effet hémolytique, des extraits bruts hydrométhanolique préparés par décoction ou macération et leurs fractions acétate d'éthyle hydrométhanolique de la partie aérienne de *Artemisia absinthium* séchées et découpées sur une suspension érythrocytaire du sang humain dans le PBS.

5.1. Préparation du phosphate buffer saline (PBS)

La solution tampon de PBS à $\text{pH}=7.4 \pm 0,2$ est préparée suivant un mélange des concentrations des composés suivants : Na_2HPO_4 (10Mm) ; KH_2PO_4 (10Mm); KCl (2.7mM); NaCl (137mM) (Mohan, 2006).

5.2. Préparation de la suspension érythrocytaire

- ✓ Le prélèvement sanguin est effectué à partir d'un donneur sain, en utilisant un tube héparine.
- ✓ Le sang est centrifugé à 3000 tours/ min durant 10 min.
- ✓ Après élimination du plasma, le culot est lavé deux fois par du PBS (même volume du plasma éliminé).
- ✓ La suspension érythrocytaire, ainsi obtenu est diluée 20 fois par du PBS (10 mM, $\text{pH}=7,4\pm 0,2$).

5.3. Préparation des extraits

Les extraits obtenus à partir de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, à savoir EBM et EBD, ont été pesés puis dissous dans du PBS. Quant aux extraits FAED et FAEM, ils ont été dissous dans un mélange de PBS et de DMSO afin de préparer une série de quatre concentrations initiales (25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml et 200 mg/ml).

6. Test d'hémolyse

Le test d'effet hémolytique des extraits préparés de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* est réalisé selon la méthode de Guo- Xiang Li et Zai-Qun Lui (2007) et OMS (2011).

- Dans des tubes à hémolyse, mélanger 1940 μl de la suspension érythrocytaire préparée (diluée 20 fois), avec 60 μl de l'extrait à différentes concentrations initiales (0,25mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml). Les concentrations finales après ajout du PBS seraient (0,75 mg/ml, 1,5mg/ml, 3 mg/ml et 6 mg/ml).

- Incuber les tubes dans l'incubateur agitateur à 37°C durant 45 min .

- Prélever 500 µl au temps T0 (0min) et 500 µl au temps final T1 (45 min) .
- Ajouter 1,5 ml de PBS.
- Mélanger les tubes délicatement.
- Centrifuger les tubes à 3000 tour/minute durant 5 min.
- Mesurer l'absorbance (la fuite d'hémoglobine) de chaque tube à 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- Visible double faisceau (SPECTROD® 200 PLUS, Analytique Jena), contre un blanc contenant du PBS.
- Un tube témoin négatif est préparé avec 1940 µl de la suspension érythrocytaire ; diluée 20 Fois, et 60µl de PBS, en absence d'extrait.
- Un tube d'hémolyse totale est préparé par 250 µl de la suspension érythrocytaire non diluée et 4750 µl d'eau distillé, en absence d'extrait.

Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage (%) par rapport à l'hémolyse totale, après 45 min d'incubation, selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = \frac{A(\text{extrait 45min}) - A(\text{témoin négative 45 min})}{A(\text{hémolyse totale 45min}) - (\text{témoin négative 45min})} \times 100$$

Les expériences sont répétées 3 fois dans le but de réaliser une analyse statistique (moyenne, écart type).

III- Analyse statistique

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou des valeurs de références plus exactement.

1. La moyenne

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

2. L'écart- type

$$\sigma(x) = \sqrt{V(x)}$$

3. Test de Student

Pour comparer les deux moyennes on applique le teste de Student, à ν degrés de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon :

$$\nu = d.l.l = n_1 + n_2 - 2$$

$$t_e = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est :

Significative : $P < 0.05$ (*).

Très significative : $P < 0.01$ (**).

Hautement significative : $P < 0.001$ (***) .

A decorative graphic of a scroll with a grey border and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

Résultats et interprétation

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fraction acétate d'éthyle préparés à partir de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* ont été calculés, après évaporation à sec, par rapport à la masse végétale initiale sèche. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 4**.

Tableau 5 : Rendement d'extraction des différentes préparations de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

Extraits :	Masse végétale initiale (g)	Rendement (%)
EBM	10	5,17
EBD	10	5,79
FAEM	10	0,83
FAED	10	1,68

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

D'après les résultats indiqués dans le **tableau 04**, nous avons noté que les extraits bruts hydrométhanoliques, préparés par macération ou décoction, de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, ont présenté les rendements les plus élevés par rapport aux fractions, avec des pourcentages d'ordre de 5,17%, et 5,79%, respectivement. Tandis que les deux fractions acétate d'éthyle (FAEM et FAED) ont enregistré des rendements faibles d'ordre de 0,83% et 1,68%, respectivement.

2. Caractéristiques des extraits

Les caractéristiques des différents extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle préparé de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* sont résumés dans le **tableau 05**.

Tableau 5 : Caractéristiques des différents extraits préparés de la partie aérienne d' *Artemisia absinthium*.

Extraits	Aspect	Couleur	Solubilité
EBM	Pate	Marron foncé	Soluble totalement : Méthanol Peu soluble : Eau-distillé
EBD	Pate	Marron foncé	Soluble totalement : Méthanol Peu soluble : Eau-distillé
FAEM	Pate	Marron foncé	Méthanol, DMSO
FAED	Pate	Marron foncé	Méthanol, DMSO

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

D'après les résultats obtenus, nous avons observé que tous les extraits et les fractions préparés à partir de la partie aérienne d' *Artemisia absinthium* ont été récupérés sous forme de pâte de couleur marron foncé et avec une meilleure solubilité dans méthanol.

3. Tests phytochimiques

Afin de déterminer la présence ou l'absence des différentes familles de métabolites secondaires dans les extraits préparés d' *Artemisia absinthium*, des tests phytochimiques ont été réalisés. Ces tests sont en relation avec l'intensité de coloration ou de précipité, qui sont proportionnelle à la quantité de la substance recherchée. Les résultats obtenus sont représentés dans le (tableau 06).

Tableau 06 : Tests phytochimiques de différents extraits de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

Métabolites secondaires	Réactifs	EBM	EBD
Alcaloïdes	Mayer	-	-
	Wagner	+	+
Tanins	FeCl ₃	+	+
Flavonoïdes	Hcl+Mg ⁺²	-	-
Quinones libres	NaOH (1%)	-	-
Anthraquinones	NH ₄ OH (10%)	-	-
Saponines	Indice de mousse	+	+
Terpénoïdes	Test de Slakowski	+	+
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+	+

EBM : Extrait brut -Macération- ; **EBD** : Extrait brut -décoction- ;
(+) : présence ; (-) : absence.

Selon les résultats mentionnés dans le **tableau 6**, nous avons révélé la présence des alcaloïdes, des terpénoïdes, des tanins, des saponines et des composés réducteurs dans les différentes préparations d'extraits bruts (EBM et EBD) de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*. Par contre, les anthraquinones, les quinones libres, et les flavonoïdes sont notés absents dans l'ensemble des extraits.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométriques avec le réactif de Folin - Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg de la matière sèche d'extrait obtenu (µg EAG / mg ES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 10**).

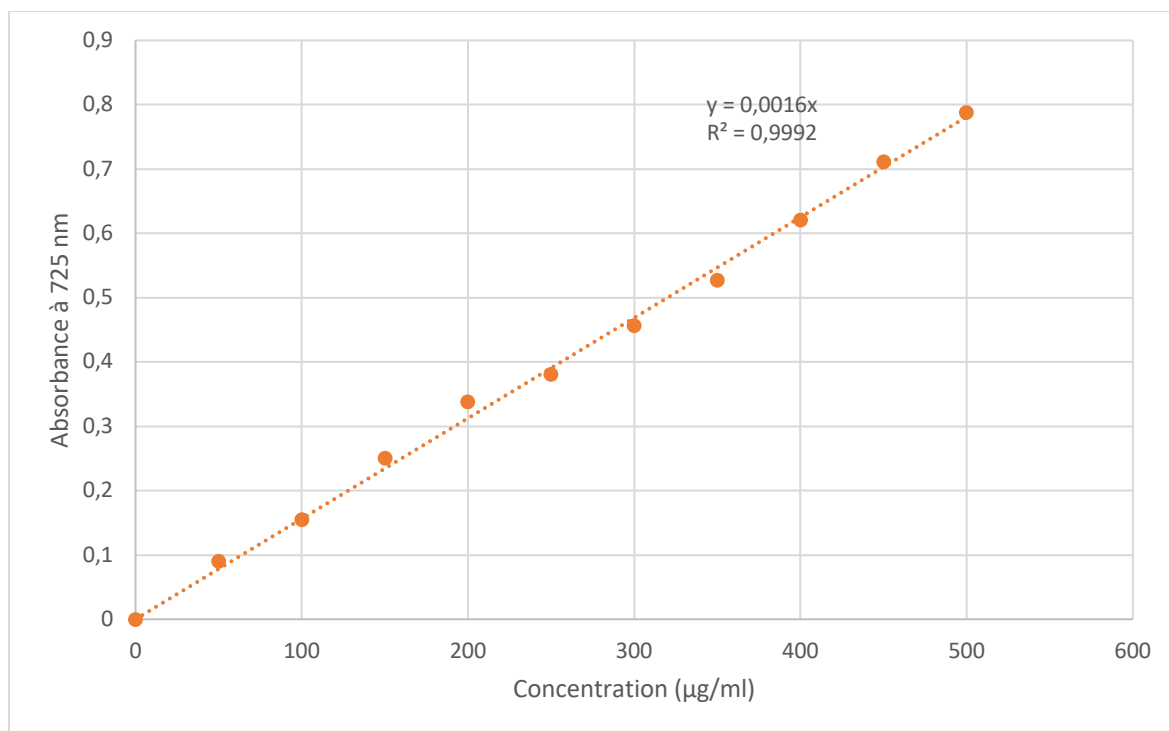
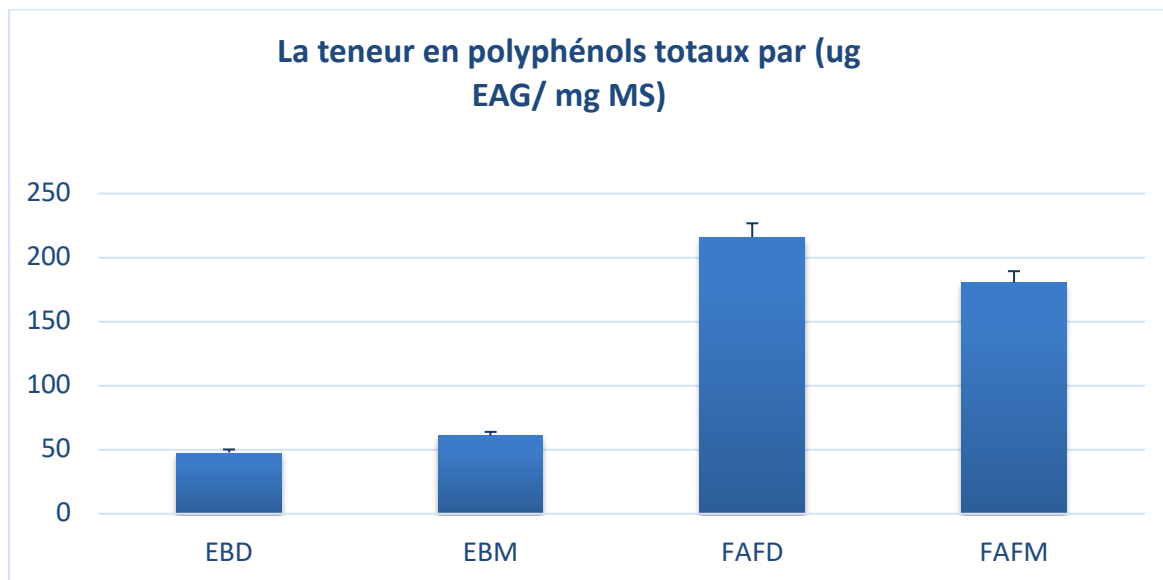


Figure 09 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les teneurs en polyphénols totaux de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* sont présentées dans la (figure 10).



EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Figure 10 : La teneur en polyphénols totaux (µg EAG/ mg MS), dans les différentes préparations de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

Le dosage des polyphénols totaux a montré que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction (FAED) renferme la teneur la plus élevée ($215 \pm 0,2435 \mu\text{g EAG/mg ES}$), suivie par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM), l'extrait brut préparé par macération (EBM) et l'extrait brut préparé par décoction (EBD) avec des teneurs de l'ordre de $180 \pm 0,011 \mu\text{g EAG/mg ES}$, $60,8 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$, $47,7 \pm 0,02437 \mu\text{g EAG/mg ES}$, respectivement.

4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode spectrophotométrique, basée sur l'oxydation des flavonoïdes, en milieu alcalin en présence du trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de catéchine par mg de matière végétale sèche ($\mu\text{g EC/mg MS}$) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la catéchine (**Figure 12**).

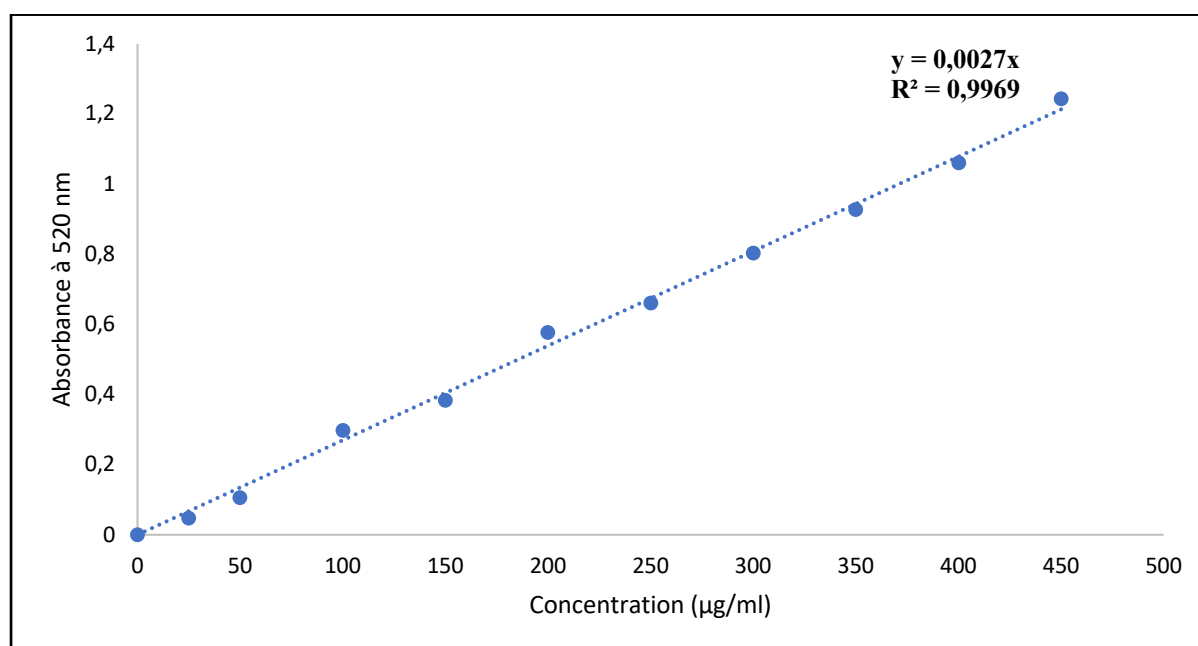
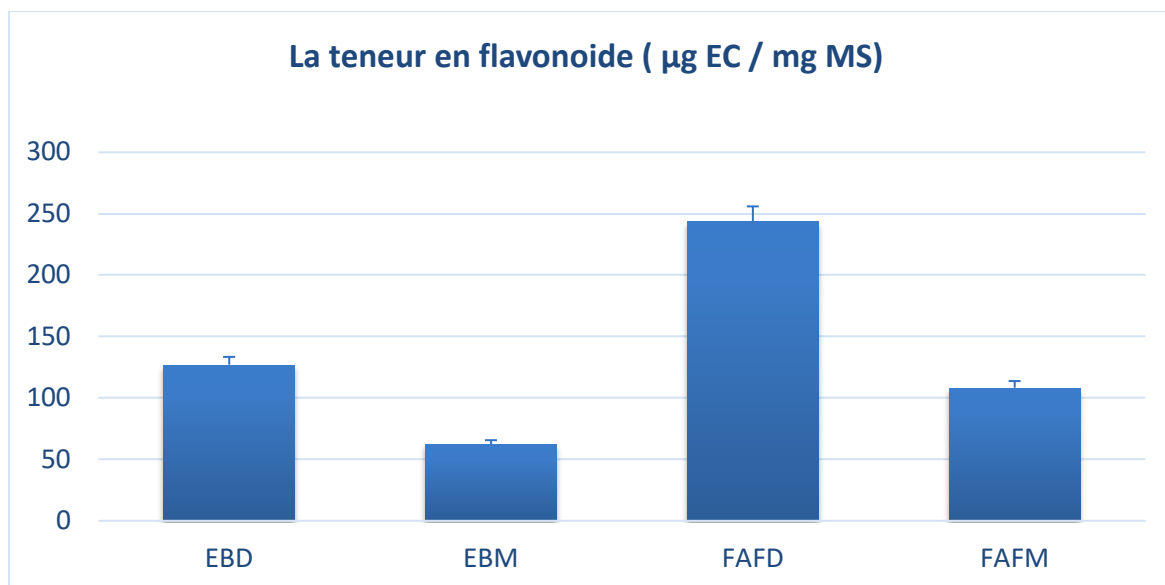


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* sont présentées dans la figure suivante :



EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

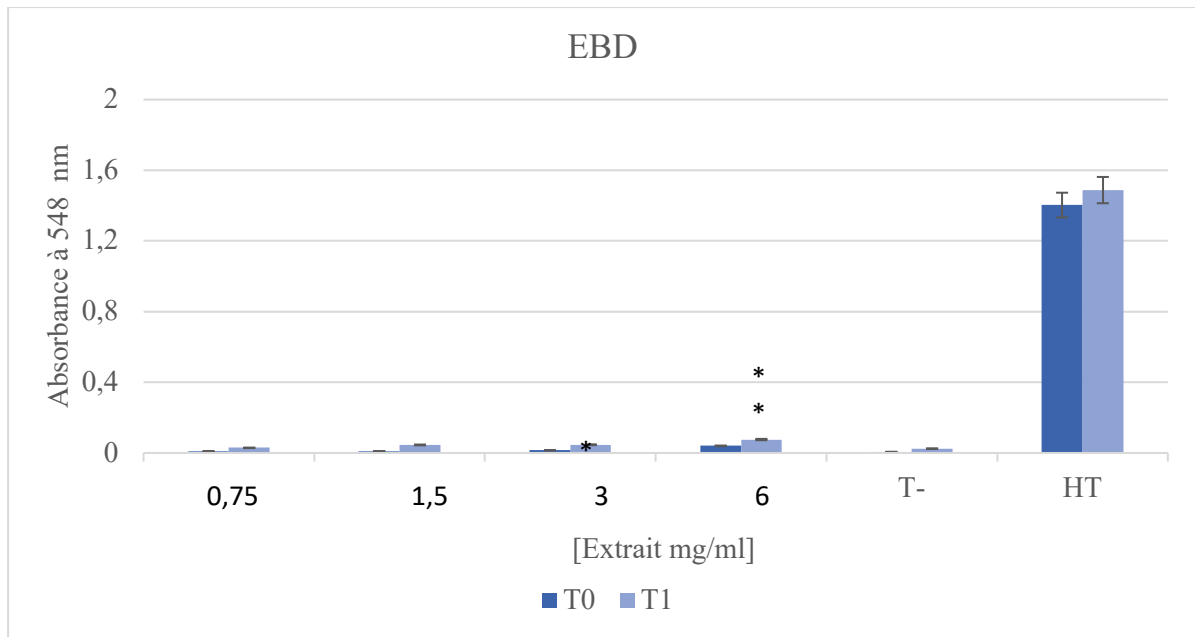
Figure 12 : La teneur en flavonoïdes (µg EC/ mg ES), dans les différentes préparations de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

L'extrait brut préparé par décoction (EBD) et sa fraction acétate d'éthyle (FEAD) ont enregistré les teneurs plus élevées en flavonoïdes totaux de l'ordre de $127 \pm 0,011$ EC/mg ES et $243,7 \mu\text{g} \pm 0,051$ EC/mg ES, respectivement, par rapport aux autres extraits. Par ailleurs, l'extrait préparé par macération (EBM) a présenté la teneur la plus faible ($62,5 \mu\text{g EC/mg ES}$).

5. Recherche de l'effet hémolytique des extraits préparés d'*Artemisia absinthium*

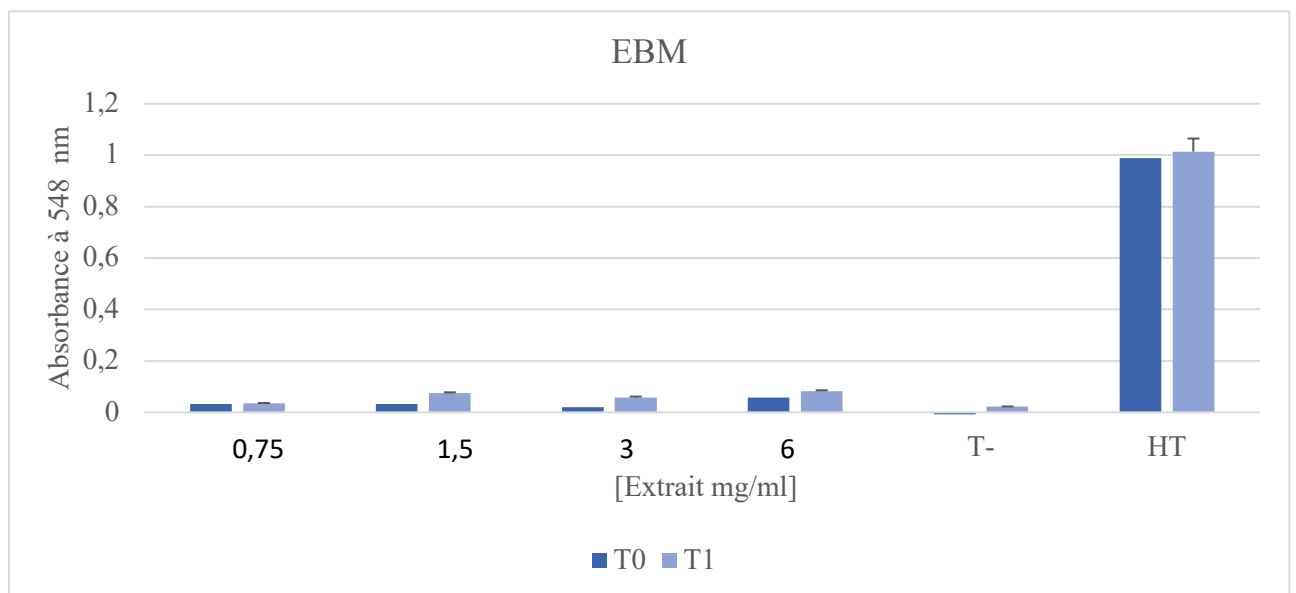
Les résultats de l'évolution des pourcentages d'hémolyse des globules rouges humains sont représentés dans les **figures 14, 15, 16 et 17**.

Les **figures** ont présenté l'évolution de l'effet hémolytique, par absorbance, durant 45 min, dans un milieu tampon PBS (pH 7.4) contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37°C, en présence des différentes concentrations finales des extraits hydrométhanoliques de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* et leurs fractions (0,75mg/ml, 1,5g/ml, 3mg/ml et 6mg/ml).



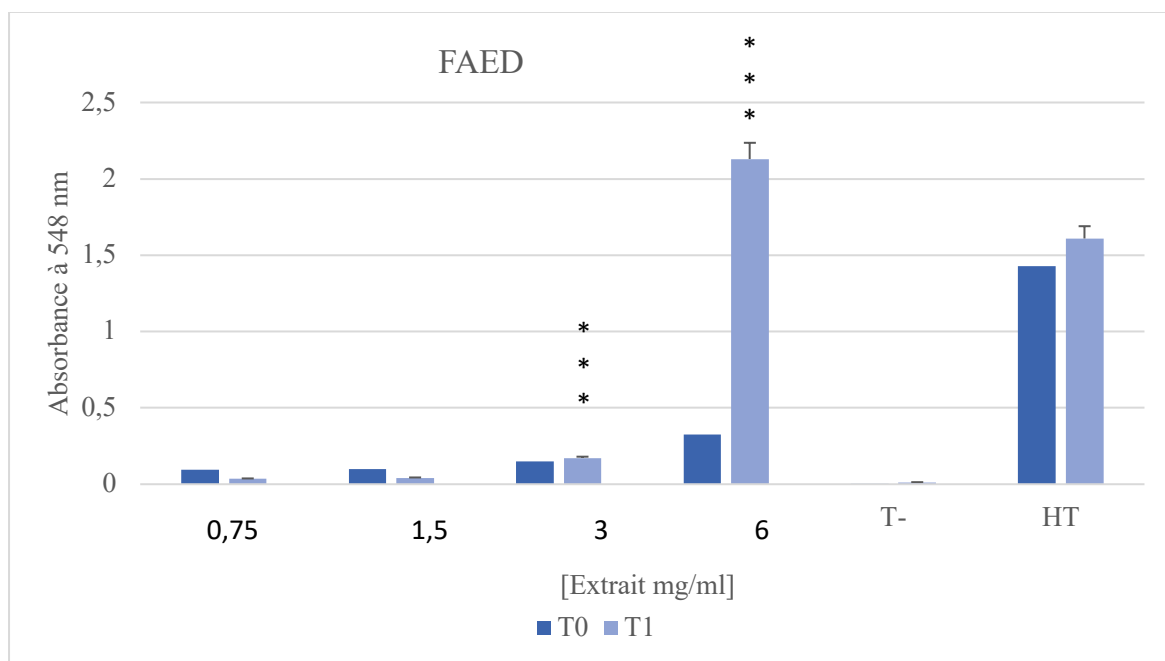
T0 : 0 min T1 : 45 min T- : témoin négatif HT : hémolyse totale
P<0,05 significative / T- ; P<0,001 très significative / T-

Figure 13 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* préparé par décoction (EBD), incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.



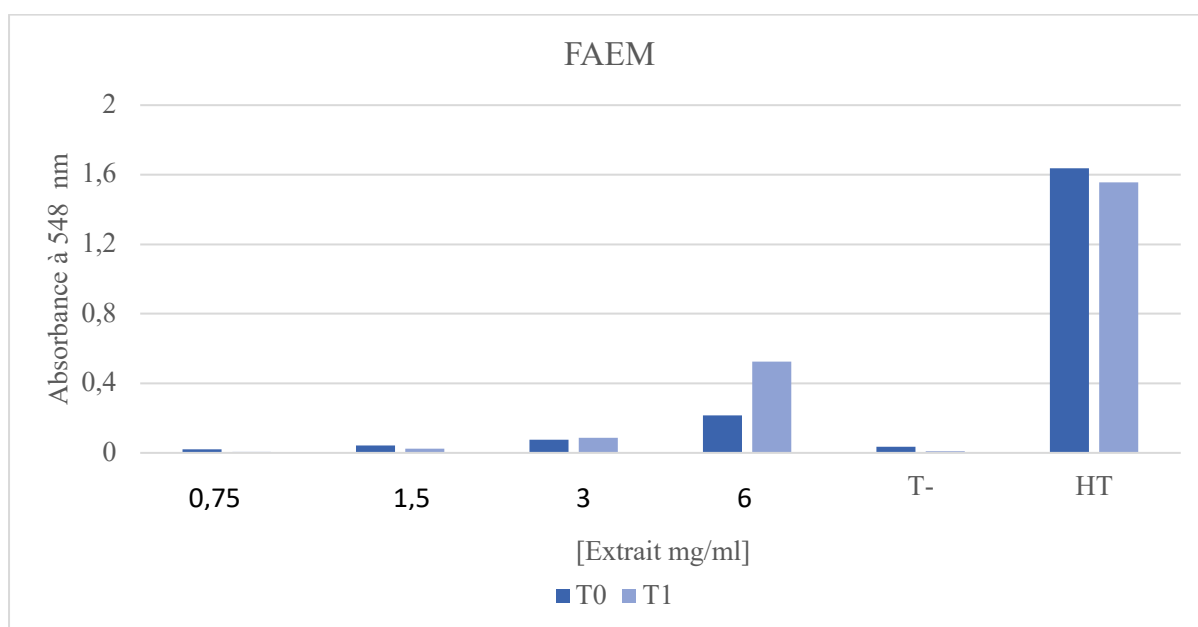
T0 : 0 min T1 : 45 min T- : témoin négatif HT : hémolyse totale

Figure 14 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* préparé par macération (EBM), incubé à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.



T0 : 0 min T1 : 45 min T- : témoin négatif HT : hémolyse totale
 P<0,0001 hautement significative / T-

Figure 15 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle récupérés de l'extrait brut préparé par décoction (FAED) de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, incubée à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.



T0 : 0 min T1 : 45 min T- : témoin négatif HT : hémolyse totale

Figure 16 : L'évolution de l'effet hémolytique (par absorbance) des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle récupérés de l'extrait brut préparé par

macération (FAEM) de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, incubée à 37°C durant 45 min avec une suspension érythrocytaire.

D'après les résultats présentés dans les figures ci-dessus, nous avons enregistré une augmentation des absorbances en fonction du temps et en fonction des concentrations des extraits étudiés d'*Artemisia absinthium*.

Au temps 0 (T0), Nous avons enregistré des faibles valeurs en absorbance qui ne dépassent pas les 0,04 en présence d'une concentration de 6mg/ml de l'extrait brut préparé décoction (EBD). Par contre, nous avons noté une augmentation des absorbances pour toutes les concentrations testées, après 45 min d'incubation. Cette augmentation est très significative ($P > 0,001$), par rapport au temps T0 (0min), pour une concentration d'extraits à 6mg/ml, mais reste toujours inférieure à celle de l'hémolyse totale (**Figure 13**).

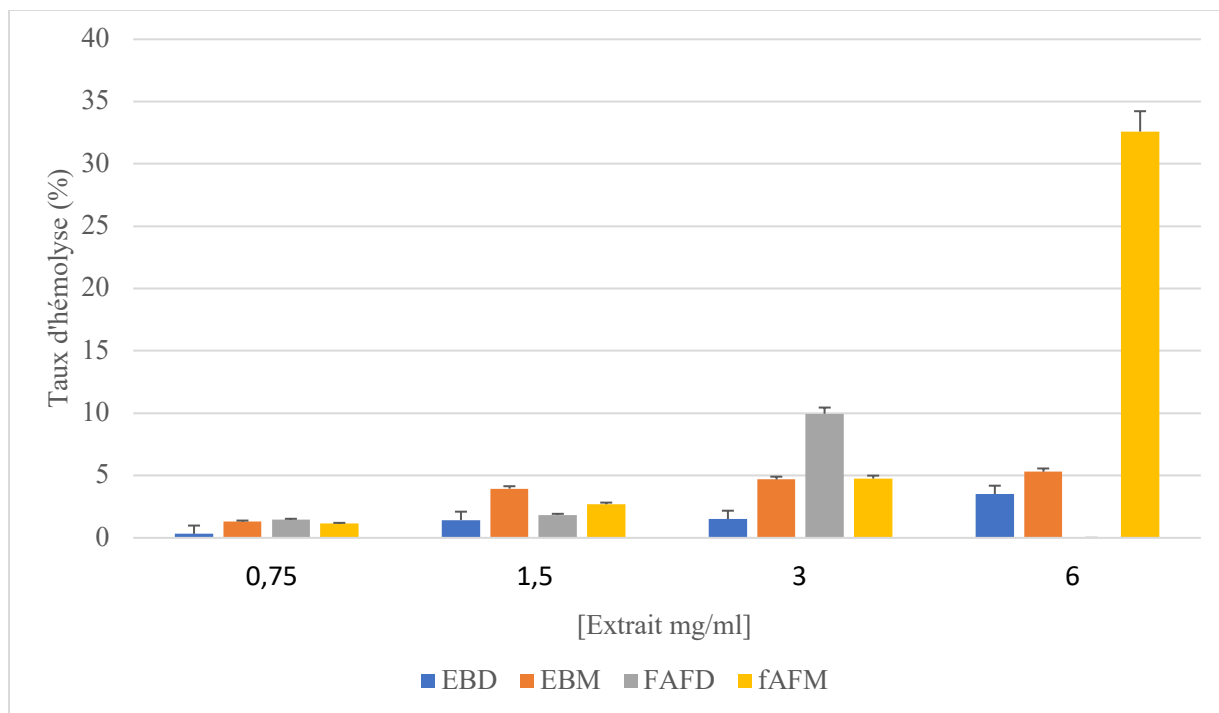
Pour l'extrait brut préparé par macération (EBM), nous avons noté des absorbances qui n'ont pas dépassé la valeur de 0,058, pour les différentes concentrations, par rapport à l'absorbance du témoin négatif. Ces valeurs sont largement inférieures à celle de l'hémolyse totale (**Figure 14**).

La fraction acétate éthyle récupéré de l'extrait bruts préparé par décoction (FAED) a enregistré des absorbances en T0, relativement faible pour toutes les concentrations testées qui ne dépasse pas 0,3254, Ces absorbances augmente d'une manière très significative ($P > 0,001$) en T1, arrivant une valeur de 2,12 à une concentration 6mg/ml supérieure à celle d'hémolyse total (1,6mg/ml) (**Figure 15**).

À l'instant initial (T0), nous avons observé des valeurs d'absorbances faibles qui n'ont pas dépassé le 0,21 en présence d'une concentration de 6mg/ml de la fraction acétate éthyle récupéré de l'extrait bruts préparé par macération (FAEM). En revanche, après 45 minutes d'incubation, nous avons constaté une augmentation des absorbances pour toutes les concentrations testées. Cette augmentation reste toujours inférieure à celle de l'hémolyse totale (**Figure 16**).

➤ Evolution des taux d'hémolyse

La figure 17 représente l'évolution des taux d'hémolyse (%) en fonction des concentrations des différents extraits bruts hydroalcooliques préparés par décoction ou macération et leurs fractions acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, en présence d'une suspension érythrocytaire, après 45 min d'incubation.

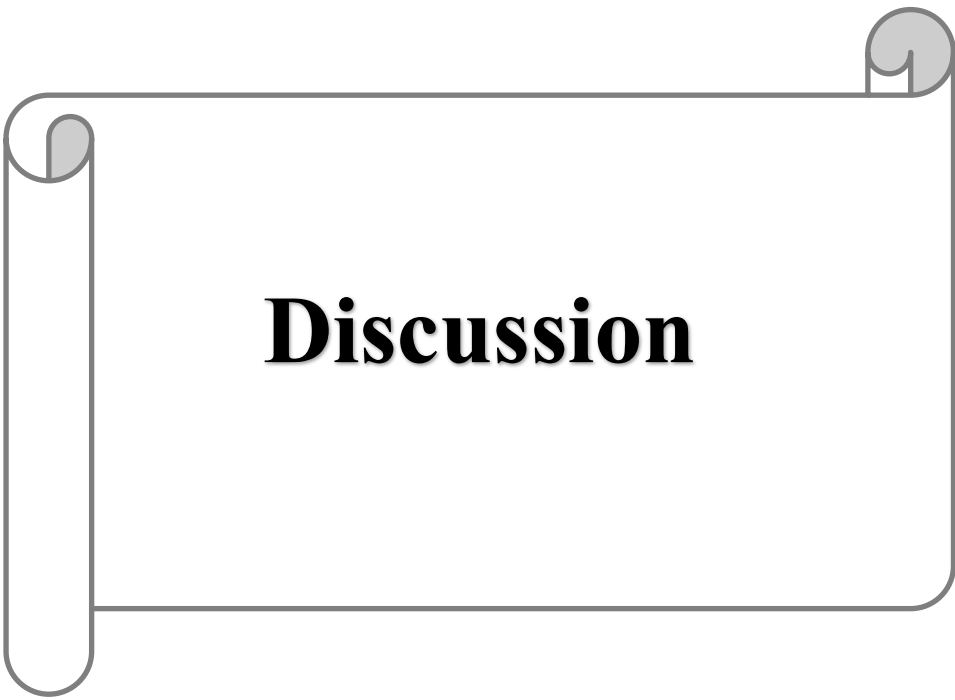


EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Figure 17 : Évolution des taux d'hémolyse (%) en fonction des concentrations des différents extraits bruts hydrométhanolique préparés par décoction ou macération et leurs fractions acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, après 45min d'incubation.

Les résultats obtenus ont montré que les taux d'hémolyses sont proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits bruts hydrométhanoliques d'*Artemisia absinthium* et leurs fractions (**Figure 17**). Après 45 minutes d'incubation et pour toutes les concentrations testées (0,75 mg/ml et 6mg/ml), les taux sont compris entre 0,32 et 4% pour l'extrait préparé par (EBD) et entre 1,32 et 5,30% pour l'extrait (EBM) et entre 1,14% et 32,6% pour FAEM. La fraction FAED a présenté un taux d'hémolyse d'ordre 9,94% à une concentration de 3mg/ml. Ce taux a dépassé les 100%, par rapport à l'hémolyse totale, à une concentration de 6 mg/ml.

Il est à noter que l'extrait décoction (EBD) possède le taux d'hémolyse le plus faible avec un pourcentage de 4%. Tandis que le taux d'hémolyse le plus élevé est enregistré pour la fraction d'acétate éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération (FAEM) de 32,6%.



Discussion

Les plantes médicinales sont une partie intégrante de la culture et de la médecine traditionnelle en Algérie.

Les études sur les plantes médicinales en Algérie sont cruciales pour mieux comprendre leurs potentielles curatives et leurs utilisations traditionnelles dans la médecine locale. Ces études sont également importantes pour la préservation de la biodiversité locale et pour l'identification de nouvelles sources de médicaments naturels et de rechercher d'éventuels effets toxiques de ces plantes.

Dans notre travail, Nous avons entrepris une recherche qui consiste à réaliser des tests phytochimiques ainsi que des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes, tout en explorant les effets hémolytiques des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par décoction ou macération) et leurs fraction acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

L'Artemisia absinthium, communément appelée absinthe (Chiba), est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Astéracées. Elle a été utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales. Cette plante est également connue pour contenir une substance appelée thuyone, qui peut être toxique à des doses élevées (www.jardinage.lemonde.fr,2023).

Les tests phytochimiques ont été réalisé sur différentes préparations d'extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par décoction ou macération de la partie aérienne de *l'Artemisia absinthium*, collectées dans la région d'El Bettem (Maghnia-Tlemcen). Ces analyses ont révélé que cette plante est riche en alcaloïdes, en terpénoïdes, en composés réducteurs et contient également des tanins et des saponines. Tandis que les anthraquinones, quinones libres, et flavonoïdes sont notés absent pour les deux préparations étudiées.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapporté dans la littérature dans les travaux de **Pak et Pharm (2018)** qui ont confirmé la présence des terpénoïdes, des alcaloïdes et des sucres réducteurs en plus d'autres métabolites comme les carbohydrates, les phénols et les stéroïdes. Par contre, ils ont marqué la présence des flavonoïdes qui sont notés absents dans nos extraits.

L'étude de **Azzaz et Amara (2022)** ont révélé la présence des tanins, flavonoïdes en plus des tanins galliques et une faible présence des saponosides.

Dans son étude sur *l'Artemisia campestris*, **Elbedi (2016)** a réalisé un criblage phytochimique qui a révélé la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des anthraquinones libres.

Discussion

En plus des tests qualitatifs, nous avons également mesuré la quantité de polyphénols totaux et de flavonoïdes dans les différents extraits que nous avons préparés. Les résultats ont montré que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction a renfermé les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de $215 \pm 0,024 \mu\text{g EAG/mg ES}$ et $243,7 \pm 0,051 \mu\text{g EC/mg MS}$, respectivement.

La teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Artemisia absinthium* étudiée par **Bouchenak et al. (2018)** est de l'ordre de $24,8 \mu\text{g EAG/g MS}$. Ce résultat est inférieur par rapport à ce que nous avons trouvé pour notre travail.

Des résultats similaires de **Ye-Ji et al., (2013)** sur l'extrait méthanolique préparé par macération des feuilles d'*A. absinthium* ont déterminé une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de $131,18 \mu\text{g EAG/mg MS}$ et une teneur en flavonoïdes de l'ordre de $42,21 \mu\text{g EC/mg MS}$.

Selon l'étude de **Boudjouref (2020)**, réalisée sur l'espèce *Artemisia campestris* des régions de Boussaâda et Oum El Bouaghi, les teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts méthanolique sont de l'ordre de $88,61$ et $82,84 \text{ mg EAG/g d'extrait}$. Ces résultats sont supérieurs à ceux que nous avons obtenus pour notre travail ($60,8 \pm 47,7 \mu\text{g EAG/g MS}$).

La variation de ces résultats de recherche réside dans la diversité existant au sein des espèces d'un même genre. Des facteurs tels que les conditions expérimentales, la période de récolte, le climat, les circonstances de stockage et les techniques de dosages peuvent être à l'origine de cette variation observée dans les niveaux de polyphénols et de flavonoïdes (**Mhiri,2018**).

La toxicité d'une substance pour l'organisme est influencée par la nature de la substance, la composition chimique, la quantité administrée et la durée de l'exposition (**Bachtrazi,2019**).

Les plantes médicinales sont aussi reconnues par leurs effets toxiques à des fortes doses, ce qui nous a amené à l'étude d'effet hémolytique *in vitro* de cette plante.

Les érythrocytes sont un modèle cellulaire de choix dans l'étude de la cytotoxicité *in vitro* en raison de leurs accessibilités, de leurs stabilités et de leurs capacités à fournir des informations précieuses sur les mécanismes et les effets de substances cytotoxiques sur les membranes cellulaires. Leurs utilisations continuent de contribuer à l'avancement des connaissances dans le domaine de la toxicologie et à l'élaboration de stratégies de sécurité et de prévention des risques liés à l'exposition à des substances potentiellement dangereuses (**Godet et al.,1993**).

Discussion

Lorsque la membrane plasmique des globules rouges entre en contact avec un agent hémolytique, cela entraîne une lyse cellulaire qui se manifeste par la libération d'hémoglobine dans le milieu extracellulaire. Cette hémoglobine libérée présente une absorption à 548 nm (**Braunstein, 2022**). Par conséquent, nous avons mesuré les niveaux d'hémoglobine dans le milieu extracellulaire en présence de différentes concentrations d'extraits bruts hydrométhanoliques (décoction et macération) et leurs fractions acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.

Dans notre étude, Les taux d'hémolyses les plus élevés sont enregistré pour les fractions d'acétate éthyle, récupérées des extraits bruts préparés par macération (FAEM) et décoction (FAED), avec des taux d'ordre de 32,6% à une concentration de 6mg/ml et 9,95%, à une concentration de 3mg/ml, respectivement, après une incubation de 45 minutes des érythrocytes à 37°C dans un tampon PBS (pH=7,4 ±0,2). Par contre, les extraits bruts hydrométhanoliques (EBM et EBD) ont noté des faibles taux d'hémolyse à 6 mg/ml, dans les mêmes conditions, avec des taux d'ordre de 4%, 5,30%, respectivement.

Ces résultats sont comparables par rapport aux ceux de **Chabane (2016)** qui a enregistré des taux d'hémolyses d'ordre de 7,1% et 85,9% pour les extraits hydroalcooliques préparés par infusion et macération, respectivement, de de la partie aérienne d '*Artemisia absinthium* de la région de Maaziz (Tlemcen) après une heure d'incubation des érythrocytes et en présence d'une concentration de 2mg/ml.

De même, les résultats de **Mansour (2015)** a montré que l'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia absinthium* à des doses de 150 et 300 mg/Kg de poids corporel aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aiguë au cours des 24 heures d'observation.

Les résultats obtenus par **Kinan, et al. (2021)** ont montré un impact hémolytique limité des espèces *Sonchuso leraceus* et *Matricaria chamomilla*, membres de la famille des Asteraceae, en raison de leur faible teneur en saponines. Les extraits de *Silybum marianum*, qu'ils soient méthanoliques ou aqueux, contiennent également des saponines. À une concentration de 1mg/ml, les pourcentages d'hémolyse observés étaient respectivement de 42,7 ± 0,66% et 36,5 ± 0,67%.

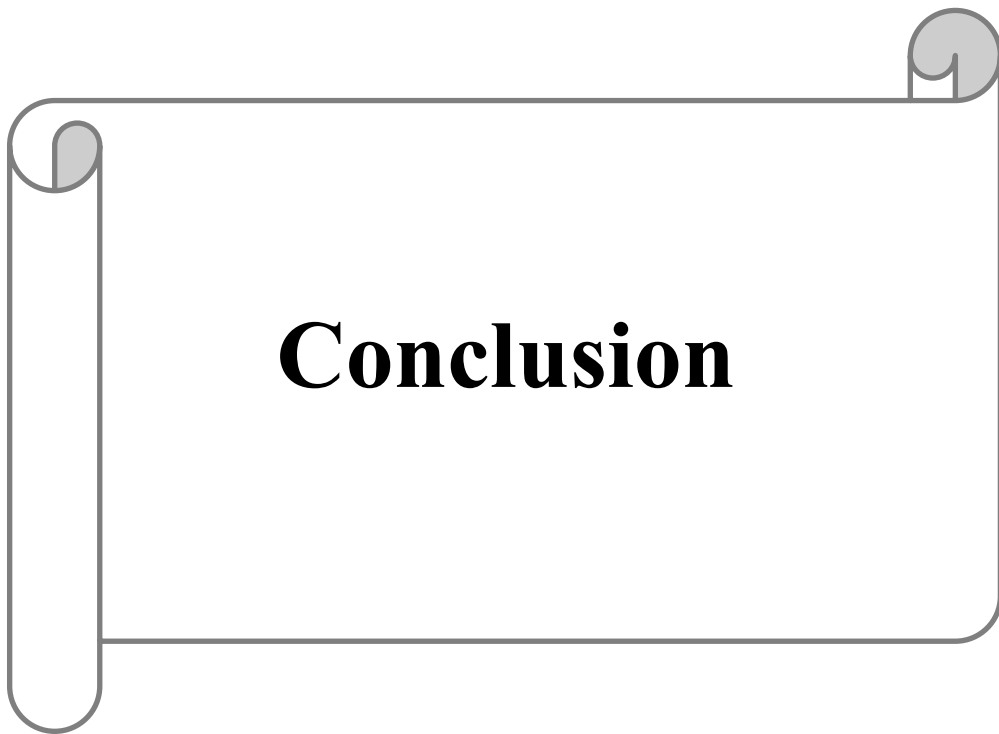
Les résultats de **Chaouche et al, (2016)**, ont montré que les extraits de *Cym-bopogon schoenanthus* et de *Panicum turgidum* peuvent être légèrement hémolytiques.

Une étude publiée par (**Renouf, 2019**) a montré que des concentrations élevées de thuyone, extraite de l'absinthe, pouvaient avoir des effets néfastes sur le système nerveux.

Discussion

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les fractions acétate d'éthyle, les plus riches en composés phénoliques (FAEM et FAED) ont présenté les taux d'hémolyse les plus élevés de l'ordre de 32,6% et 9,95% et pour une concentration de 6 mg/ml, respectivement.

Des études ont souvent été réalisées *in vitro*, en utilisant des modèles expérimentaux pour évaluer les effets des composés phénoliques sur les globules rouges. Les résultats ont montré que certains composés phénoliques peuvent provoquer une hémolyse, c'est-à-dire la rupture des globules rouges, à des concentrations élevées. Cependant, il est important de noter que les effets hémolytiques des composés phénoliques dépendent de leurs structures chimiques spécifiques et de leurs concentrations (**Rezaire, 2012**).



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des millénaires pour leurs propriétés curatives et thérapeutiques. *Artemisia absinthium*, également connue sous le nom d'absinthe, est une plante herbacée vivace de la famille des Astéracées ; largement cultivée pour ses propriétés médicinales.

Dans ce travail, nous avons mené une étude photochimique et une évaluation de l'effet hémolytiques des extraits préparés de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, dans le but de mieux comprendre ses propriétés et d'envisager son utilisation valorisante.

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu que la partie aérienne d'Absinthe (*Artemisia absinthium*), récoltée dans la région de El Bteem-Maghnia- wilaya de Tlemcen, est très riche en alcaloïdes, tepenoïdes, composés réducteurs, saponines et des tanins.

L'analyse quantitative des composés phénoliques a montré que la fraction d'acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction est la plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes, par rapports aux autres extraits étudiés, avec des teneurs de l'ordre de 270,5 µg EAG / mg MS et 148,14 µg EC / mg MS, respectivement.

L'évaluation de l'effet hémolytique des différentes concentrations d'extraits préparés de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, préparés par décoction ou macération, a été réalisée, *in vitro*, sur des érythrocytes isolés du sang humain, incubés à 37°C, pendant 45 min dans un milieu tampon PBS (pH 7,4).

A une concentration de 6 mg/ml, les extraits bruts hyrométhanoliques préparés par décoction ou macération ont présenté des faibles taux d'hémolyse de l'ordre de 4% et 5,30% par rapport à l'hémolyse totale, respectivement.

Leurs fractions acétate d'éthyle, à la même concentration, ont montré des taux d'hémolyse plus élevés d'ordre de 9,95% et 32,6% par rapport à l'hémolyse totale, respectivement.

Ce travail, bien qu'il soit préliminaire, ne fournit pas de preuves définitives sur le mécanisme réel par lequel la plante *Artemisia absinthium* agit sur les érythrocytes. Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes d'action des différents composés présents dans la partie aérienne de *l'Artemisia absinthium*.

Pour approfondir cette étude, il serait intéressant de mener les actions suivantes :

1. Rechercher les molécules actives responsables de l'effet toxique dans l'extrait préparé en utilisant des fractions d'acétate d'éthyle.

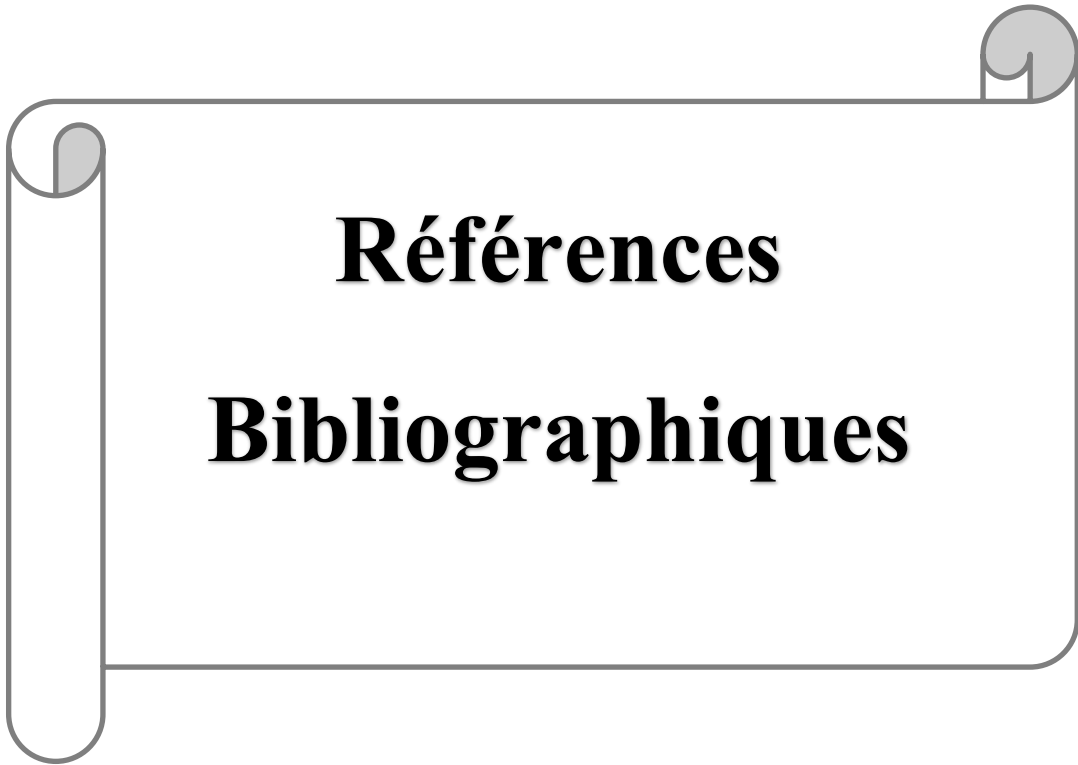
Conclusion

2. Identifier et caractériser ces molécules en utilisant des techniques d'analyse telles que la RMN, le spectrophotomètre de masse et les techniques chromatographiques.

3. Étudier la cytotoxicité des autres extraits sur des érythrocytes isolés du sang humain provenant de cette plante, en examinant l'impact de ces extraits sur la pompe Na⁺/K⁺.

4. Évaluer la toxicité in vivo sur un modèle animal afin de détecter tout effet indésirable et d'identifier plus précisément les sites d'action des substances actives."

5. Étude de l'activité anti hémolytique de *Artemisia asbinthium* a des concentrations différentes pour Évaluer leurs effets protecteurs.



Références

Bibliographiques

A

1. **Ansari, S., Shamshi, Y., & Khan, Q.A. (2019).** A Review of *Artemisia Absinthium*, Linn. (Afsanteen) With Special Reference Of Unani Medicine. Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation, 8, 11-18.
2. **AZZAZ, M., & AMARA, S. (2022).** Caractérisation phytochimique, physicochimique et évaluation des activités biologiques de la partie aérienne d'*Artemisia arborescens*. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

B

3. **Bachtarzi, K. (2019).** Intérêt des antioxydants naturels dans l'alimentation humaine.
4. **Baker, P. (2001).** The book of absinthe: a cultural history. Ed. Grove Press. New York; 2; p: 99-100.
5. **Belaidi Nada et Boubendira Kenza (2018).** Evaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia absinthium*. Mémoire de master. Université des frères Mentouri Constantine. p: 4-7.
6. **Bhat, W. W., & Fayaz, R. (2011).** The structure, function, and medicinal potential of plant metabolites. In The dynamic role of plant secondary metabolites in survival and reproduction. Ed. Springer, p: 1-23.
7. **Bouchenak F., Degaichia H., Lamgharbi A. et Benrebiha F. (2018).** Evaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une Asteraceae (*Artemisia absinthium* L.). *Agrobiologia*, 8(1) : 886-895.
8. **Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., & Ruberto, G. (2016).** Composants chimiques et activités biologiques des plantes médicinales algériennes : une revue. *Phytotherapy Research*, 30(3): 377-391.
9. **Boudjouref M. (2020).** Activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie
10. **Braunstein, E. M. (2022).** Revue générale des anémies hémolytiques. Examen médical.

C

11. **Chabane, S. (2016).** Étude phytochimique et recherche d'effet hémolytique des extraits isolés de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium* L (chiba) [Mémoire de master, Université de Tlemcen faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers].
12. **Chaouche, T. M., Haddouchi, F., & Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie [Phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four Saharan plants from Algeria]. *Ethnopharmacologie*. DOI : 10.1007/s10298-016-1086-8
13. **Chemour, G. (2004/2005).** Les plantes médicinales dans la région des Ouadhia et Boghni Thèse d'ingénieur, U.M.M.T.O, Institut d'agronomie.

E

14. **Elbidi A. (2016)**. Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia campestris* et *Teucrium polium* de la région d'El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire de magister. Université de Ziane Achour. Djelfa. Algérie.

F

15. **Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1985)**. Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6), 965-981.

G

16. **Ghédira, K., & Goetz, P. (2016)**. "*Artemisia absinthium* L.: absinthe (Asteraceae)". *Phytothérapie*, 14(2), 125-129.
17. **Godet, E., Vasseur, B., & Sabut, M. (1993)**. Essais de génotoxicité in vitro et in vivo applicables à l'environnement hydrique [In vitro and in vivo genotoxicity tests for studying contaminated aquatic environmental samples]. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 6(3). doi: 10.7202/705177ar.
18. **Goud, B.J., Swamy, B.C., (2015)**. A review on history, controversy, traditional use, ethnobotany. *Phytochemistry and pharmacology of Artemisia absinthium Linn. International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences* 4:77-107. www.garph.co.uk.
19. **Guo- Xiang Li et Zai-Qun Lui (2007)**.The "Double-Faced" Effect of VC-12 on FreeRadical-InducedHaemolysis of Human Erythrocytes :Antioxidant and Prooxidant

H

20. **MSD (Medical Devices Sterilizers) (2023) Manuel MSD pour les professionnels de la santé -<https://www.msmanuals.com/fr/Hémolyse>".consulté le 28 mars 2023.**
21. **Harborne, J. B. (1998)**. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman and Hall.

J

22. **Joshi, R., Singh, B., & Jadhav, J. P. (2020)**. Secondary metabolites and their biosynthesis in plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(2), 3571-3579.
23. **Judd, W.S., Cambell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P. (2002)**. *Botanique systématique une perspective phylogénétique*. De Boeck université, 540 p.

K

24. **Kinan, A., & Husada, H. (2021)**. Analisa Kinerja Sistem Pembangkit Listrik Tenaga Surya On Grid di Perumahan PIK Jl Katamaran Permai 7 No 3A. [Thèse de licence (S1)]. Institut Teknologi PLN.

25. **Kacah,F(2020)** Hémolyse, support du cours.

M

26. **Mansour S. (2015)**. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* asso et *Hypericum scarboides*- Etude in vivo-40, Thèse de doctorat en biologie, Département de Génétique Moléculaire Appliquée, Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Université Mohamed Boudiaf d'Oran (Algérie).
27. **Maria Bailen,Luiz Julio,Carmen E-Diaz,Jesus,Sanz,Rafael A,Martinez-Diaz,Raimundo Cabrera,Jesus burillo,Azucena gonzalez Coloma. (2013)**. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L cultivated under different environmental conditions. *Industrial Gops and products* 49 (2013). P:102-107.
- 28.**Maria del Piler Rodriguez-Torres,Laura Susana Acosta- Torres,Luis Armando Diaz-Torres, Genoveva henandez Padron, René Garcia-Contreras and blanca Elmillanchiu.(2019)**.*Artemisia absinthium* based silver nanopartelles antifungal evaluation against three *Candida* species. *Iop publishing Mater. Res Express*6 P:1-2.
29. **Menche, J., Gomez-Cabrero, D., Cano, I., Abugessaisa, I., Huertas-Migueláñez, M., Tenyi, A., Marin de Mas, I., Kiani, N. A., Marabita, F., Falciani, F., Burrowes, K., Maier, D., Wagner, P., Selivanov, V., Cascante, M., Roca, J., Barabási, A.-L., & Tegnér, J. (2014)**. Systems Medicine: from molecular features and models to the clinic in COPD. *Journal of Translational Medicine*, 12(Suppl 1), S4.
30. **Mubashir Hussain, Naveed Iqbal Raja, Abida Akram, Anam Iftikhar, Danish Ashfaq, Farhat Yasmeen, Roomina Mazhar, Muhammed Imran, Muhammed Iqbal. (2017)**. Astatus revieu on the pharmacological implications of *Artemisia absinthium* Acritically endangered plant. *Asian Pacific journal of Tropical Disease. Asian Pac J trop Dis* 2017;7(3) :P:185-192.

O

31. **Organisation mondiale de la santé. (2002)**. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Organisation mondiale de la santé.

P

32. **Padosch ,SA.Lachenmeier,DW.et Kroner LU.(2006)**.*Absinthium*: a fictitious 19th century syndrom with present impact- substance Abuse treatment, Prevention,and policy.J of Ethnopharmacology:1-14.
33. **Peyrard, T., Bardiaux, L., Krause, C., & Van Dorsselaer, A. (2016)**. Hémolyse pathologique : diagnostic biologique et moléculaire. *Revue Francophone des Laboratoires*, (479), 69-76.

Q

34. **Quinlan M. B., Quinlan R. J. et Nolan. M. J. (2002)**. Ethno physiology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica, West Indies. *Journal of Ethno pharmacology* , 80 , 75 - 83.

R

35. **Renouf, A. (2019).** L’Absinthe (*Artemisia absinthium* L.) : Approche ethnobotanique [Mémoire de maîtrise, Université de Caen Normandie].
36. **Rezaire, A. (2012).** Activité anti-oxydante et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) [Thèse de doctorat, École doctorale pluridisciplinaire Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques, Université des Antilles et de la Guyane].
37. **Ritter, S. K. (2018).** Medicinal Plants. Salem Press Encyclopedia.

S

38. **Smith, J. (2019).** Biology of red blood cells: structure, function, and disturbances. *Revue de la physiologie cellulaire*, 35(2), 87-101.
39. **Sanago R., (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali) : 53.
40. **Sarikurku, C., & Cengiz, M. (2019).** Medicinal Plants: Natural Resources for the Future. In J. Ahmad, M. N. V. Prasad, & F. Ahmad (Eds.), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change* (pp. 507-527).
41. **Skiredj, A., Elattir, H., & Elfadi, A. (2002).** Bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Technologie en Agriculture (PANTA). DERD, Rabat.
42. **Swerdlov, J. L. (2000).** Médecine des plantes qui guérissent de la nature. Washington DC : Société géographique nationale.

T

43. **Tariq, K., Chishti, M., Ahmad, F., Shawl, A., (2009).** Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* L. against ovine nematodes. *Veterinary Parasitology*, 160 (2009) :83-88. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.084.
44. **Tela Botanica, (2019).** Fiche de flore des Asteraceae (en ligne).
45. **Trease, G. E., & Evans, W. C. (1989).** Pharmacognosy (13th ed.). Bailliere Tindall.

V

46. **Vermerius, W., & Nicholson, R. (2006).** Phenolic compounds biochemistry. Gainesville, USA: Springer.

W

47. **Wang, Y., Liu, X., & Zhang, H. (2019).** Mechanisms and therapeutic targets of microvascular injury-induced hematological disorder. *Cell Death & Disease*, 10(3), 1-12.
48. **WRIGHT.C. W, (2002).** *Artemisia*. First Edition. Vol 8. pp 1-79. London.
49. **Www.jardinage.lemonde.fr** consulter le mrs 2023.

Y

50. **Ye-Ji L, Muthu T., III-Min C. et Praveen N. (2013).** Composition en polyphénols et activité antioxydante de la plante potagère *Artemisia absinthium* L. *Australian Journal of Crop Science* ; 7(12):1921-1926.
51. **Younes, K. (2015).** Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales de la région ouest d'Algérie : *Artemisia arborescens* L. et *Cardaria draba* (L.) Desv. Thèse En vue de l'obtention du grade de docteur en chimie : Chimie Bio-organique et Thérapeutique : Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.P:37.

Z

52. **Zeghichi, S., Benmoussa, H., Bencheikh, N., & Djabou, N. (2017).** Plantes médicinales de la région de Tlemcen (Algérie): évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne. *Revue internationale de phytothérapie*, 9(3), 123-131.
53. **Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.