



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR
KHENCHELA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie Appliquée

Thème

L'activité antioxydante de l'armoise blanche: Docking moléculaire et optimisation par surfaces de réponses

Présenté par:

AIDAL khawla et AHMADOU Raoula

Devant le jury:

Président: Dr. Maamar H . MCB Université Abbes Laghrour- Khenchela

Encadreur: Dr. Zeraib A . MCB Université Abbes Laghrour- Khenchela

Examineur: Mr. Rahal K . MAA Université Abbes Laghrour- Khenchela

Année universitaire 2020 / 2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH qui nous a donné la santé, la volonté et les capacités nécessaires pour réaliser et achever ce labour dans les meilleures circonstances.

Et ce, malgré les conditions sanitaires contraignantes engendrées par l'épidémie de coronavirus qui ont imposées des conditions de travail restrictives et inattendues dans la répartition des tâches et la collaboration entre mon binôme et moi, tenant en compte la distances non négligeable de nos lieux d'habitations. Nous avons le plaisir d'exprimer notre profond respect et reconnaissance à notre encadreur Mr. ZERAIB AZZEDINE , maître assistant à l'Université ABBES LAGHROUR KHENCHELA pour ses conseils prodigués, sa patience, sa persévérance, sa disponibilité et sa contribution dans l'effort fourni dans le suivi de ce travail et tout en menant son travail d'universitaire et de conférencier.

Tout au long de notre étude, nous avons bien pris conscience de l'aspect énergivore et chronophage de la participation de notre encadreur ce qui amplifie notre degrés de reconnaissance et de gratitude.

Nous remercions également les membres de jury : Mr. RAHAL KHALED et Mr Mamer ,

tous deux maîtres assistants à l'Université ABBES LAGHROUR KHENCHELA pour leur collaboration dans l'appréciation de ce modeste travail.

Tous nos chaleureux sentiments aux enseignants de notre université ABBES LAGHROUR KHENCHELA pour leur inestimable aide.

Entre autres, nos remerciements s'adressent à tout le personnel du laboratoire de notre université pour leur assistance et soutien dans la réalisation de cette étude.

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué, qu'elle soit de la manière la plus modeste, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU, Tout Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage pour mener à terme ce travail.

﴿وَقَالُوا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَشْكُرَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ﴾

Je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde mes chers Parents : A mon père *Saléh* et ma très chère mère *Fatima*
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui vous êtes consentis Pour mon éducation et ma formation.

A mes chers frères *Rami*, *Aymen*
A mes chères sœurs, *Asma*, *Célia*
A mes chères amies (es)

Siham Chahrazed Manel Marwa Aïda Rayen
Mona Ryma Rania z Hadjer Amina Abir Kawther
Sara Kahina Nesslerin Biba Kamí

« un remerciement particulier à mon binôme *Raoula* qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce Travail» .

Khawla

Dédicaces

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à
mon DIEU, Tout
Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la patience
et le courage pour mener à terme ce travail.

**Je dédie ce travail à Ma famille et aux personnes les plus chères au monde
mes chers**

Parents : A mon père *Ammar* et ma très chère mère *Salima*

**Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être.**

**C e travail est fruit de tes sacrifices qui vous êtes consentis
Pour mon éducation et ma formation.**

A mes chère frères *Karim, Ali* .

**A mes chères sœurs, *wided ,hafidha , soumia*
*, Amina***

A mes chères amies (es)

Mouna -manar -rania-sihem-wafa

Ryma wisseem Abir Kamí

Nessrin

**« un remerciement particulier à mon binôme *Khawla* qui a partagée avec
moi les moments difficiles de ce Travail»**

Raoula

Sommaire

	Page
Introduction générale	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I- généralités sur l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	3
I-1- Systématique	3
I-2- Description morphologique de l'espèce <i>Artemisia herba helba</i>	4
I-2-1- Tige	5
I-2-2- Feuilles	5
I-2-3- Fleurs	5
I-3- Répartition géographique de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	6
I-3-1- Dans le monde	6
I-3-2- En Algérie	7
I-4- L'usage médicinal de l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.....	7
II- Les polyphénols	8
II-1- Définition.....	8
II-2- Classification des polyphénols.....	9
II-2-1- Polyphénols simples.....	9
II-2-1-1- Les Flavonoïdes.....	10
II-2-1-1- Les principaux flavonoïdes de l'armoise blanche	10
II-2-2- Polyphénols complexes (Tannins).....	11
III- L'activité antioxydant	12
III-1- Le stress oxydant.....	12
III-2- Les radicaux libre.....	13
III-3- Les Antioxydants.....	13
III-4- Polyphénols naturels comme antioxydants	13
VI- Les plans d'expérience	14
VI-1- Généralité	14
VI-2- Notions utilisées aux plans d'expériences	15
VI-2-1- Espace expérimental	15
VI-2-2- Domaine d'un facteur	15
VI-2-3- Surfaces de réponse	16
V- Docking Moléculaire	17

V-1- Généralités	17
V-2- Les outils du docking moléculaires	17
V-2-1- Le récepteur	17
V-2-2- Le(s) ligand(s)	18
V-3- Les programmes du docking	18

Chapitre II : Matériel et méthodes

1- Matériel	20
1-1- Docking moléculaire	20
1-1-1- Sources d'information à consulter	20
1-1-2- Ligands.....	21
1-1-3- Macromolécules.....	23
1-1-4- Programmes (logiciels).....	24
1-2- Optimisation de l'extraction des antioxydants par plan d'expérience	24
1-2-1- Matériel végétal.....	24
1-2-2- Matériel de laboratoire.....	24
1-2-2-1 Réactifs.....	24
1-2-2-2 Appareillage.....	24
1-2-3- Programmes.....	25
2- Méthodes	25
2-1- Le test in-silico.....	25
2-1-1- Test de fiabilité.....	25
2-1-2- Préparation de la protéine (macromolécule).....	25
2-1-3- Préparation des légands.....	25
2-1-4- Procédure de Docking moléculaire.....	26
2-2- Optimisation de l'extraction des antioxydants	26
2-2-1- Plan d'expérience.....	26
2-2-2- Dosage des polyphénols totaux.....	29
2-2-3- Dosage des flavonoïdes.....	29
2-2-4- Tests de l'activité antioxydant	30
2-2-4-1- Le test de DPPH.....	30
2-2-4-2- le test de H ₂ O ₂	30
2-2-5- Analyse des résultats.....	31

Chapitre III : Résultats et Discussion

III- Résultats et discussion.....	34
III-1- Test de Fiabilité du programme.....	34
III-1.2 - Docking et Scoring.....	36

Conclusion

Conclusion	45
------------------	----

Références bibliographiques

Références bibliographiques.....	48
----------------------------------	----

Liste des abréviations

CCD: central composite design

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène.

MOE: Molecular Operating Environment.

NCBI: National Center for Biotechnology Information .

NIH: National Institutes of Health .

PDB: Protein Data Bank.

RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics .

RMN: la résonance magnétique nucléaire .

RMSD: Root Mean Square Déviation.

SDF : Structure Data Format

TPSA: Antigène spécifique de prostate total et libre .

Liste des figures

	Page
Figure 01 : Morphologie générale de plante d' <i>Artémisiaherba alba</i>	4
Figure 02 : Morphologie de la feuille d' <i>Artemisiaherba-alba</i>	5
Figure 03: Morphologie de la fleur d' <i>Artemisiaherba alba</i>	6
Figure 04 : Distribution géographiques <i>Artemisia herba alba</i> dans le monde	6
Figure 05 : Distribution géographiques <i>Artemisia herba alba</i> en Algérie	7
Figure 06: Structure du noyau phénol	8
Figure 07: Structure d'un flavonoïde	10
Figure 08 : les principaux flavonoïdes de l'armoise blanche	11
Figure 09 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proantho cyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)	12
Figure 10: Illustration d'un mécanisme d'action polyphénols	14
Figure 11 : Les plans d'expériences optimisent les trois parties encadrées du processus d'acquisition des connaissances.....	15
Figure 12 : domaine de variation du facteur.	16
Figure 13: les réponses associées d'études forment la surface de réponse	16
Figure 14: Capture d'écran illustre la page web de la base des données RCSB.....	21
Figure 15: Capture d'écran illustre la page web de la base des données PubChem. ..	21
Figure 16: Structure tridimensionnelle de Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG)	23
Figure 17: Structure de site actif de la protéine testée	26
Figure 18 : réaction d'un antioxydant avec le radical libre DPPH	30
Figure 19 : Superposition et interactions des ligands du complexe simulé par MOE vis-à-vis au ligand de référence	35
Figure 20 : courbes de corrélation du score avec les caractéristiques physico-chimique des constituants de l'armoise blanche.....	38
Figure 21: L'emplacement de la Quercetin 3-rutinoside dans le site actif de la Peroxyrédoxine.	39
Figure 22 : diagrammes des interactions de la Quercetin 3-rutinoside/Peroxyrédoxine	40
Figure 23: L'emplacement du vecenin-2 dans le site actif de la Peroxyrédoxine.....	41
Figure 24 : diagrammes des interactions du vecenin-2/Peroxyrédoxine	42
Figure 25: L'emplacement de l'isoschaftoside dans le site actif de la Peroxyrédoxine	43
Figure 26 : diagrammes des interactions de l'isoschaftoside/Peroxyrédoxine.....	43

Liste des Tableaux

	Page
Tableau 01: La systématique de l' <i>Artemisia herba alba</i>	3
Tableau 2: Structure des squelettes des polyphénols.	9
Tableau 03 : Les constituants des extraits d'A. herba alba utilisés dans le docking moléculaire.	22
Tableau 04: caractères de la structure utilisée dans le docking moléculaire.	23
Tableau 05: valeurs des variables réelles et codées des facteurs étudiés.	27
Tableau 06 : Matrice d'expérience pour les facteurs étudiés pour l'optimisation de l'extraction des antioxydants de l'armoise blanche.	28
Tableau 07 : Résultats de redocking du ligand dans le site actif de Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG) par le logiciel MOE.	34
Tableau 08 : Résultats de docking moléculaire des constituants de l'armoise blanche sur le site actif Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG).	37
Tableau 09 : Résultats de docking moléculaire de meilleur inhibiteur (Quercetin 3-rutinoside) sur Peroxyrédoxine (3MNG).	41
Tableau 10: Résultats de docking moléculaire de meilleur inhibiteur (Le vecenin-2) sur Peroxyrédoxine (3MNG).	43
Tableau 11: Résultats de docking moléculaire de meilleur inhibiteur (isoschaftoside) sur Peroxyrédoxine (3MNG)	44

Résumé

L'objectif de notre travail est d'optimiser l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes à partir de la partie aérienne de l'espèce *Artemisia herba alba*. À cet effet, deux méthodes sont adoptées: une méthode virtuelle « *in-silico* » par le Docking moléculaire qui nous a permis de prédire les constituants de la plante qui ont le meilleur effet antioxydant, et la deuxième méthode *in-vitro* pour déterminer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes ainsi leur activité antioxydant par optimisation de surface de réponses. Le docking moléculaire de 27 structures, constituants des extraits de l'armoise blanche dans le site actif de Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG), a montré que toutes les structures ont une affinité supérieure à celle donnée par le ligand co-cristallisé. Les résultats ont montré que les extraits d'*Artemisia herba alba* pourrait jouer un rôle important en tant qu'antioxydant alternatif.

Mots clés : *Artémisia herba alba*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydant, Docking moléculaire, surface de réponse.

Abstract

The objective of our work is to optimize the extraction of polyphenols and flavonoids from the aerial part of the species *Artemisia herbaalba*. For this purpose, two methods are adopted: a virtual method "*in-silico*", by molecular docking which has allowed us to predict the constituents of the plant which have the best antioxidant effect, and the second *in-vitro* method to determine the best conditions for the extraction of polyphenols and flavonoids as well as their antioxidant activity by surface optimization of responses. The molecular docking of 27 structures, constituents of the extracts of *Artemisia herbaalba* in the active site of peroxyredoxin (PDB: 3MNG), showed that all the structures have an affinity greater than that given by the co-crystallized ligand. The results showed that *Artemisia herbaalba* extracts could play an important role as an alternative antioxidant.

Keywords : *Artemisia herbaalba*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, molecular docking, response surface.

ملخص

الهدف من عملنا هو تحسين استخراج البوليفينول والفلافونويد من الجزء الجوي لنبته الشيح عن طريق الالتحام الجزيئي ، حيث تم اعتماد طريقتين : الطريقة افتراضية التي تسمح لنا بالتنبؤ بمكونات النبات التي لها أفضل تأثير مضاد للأكسدة ، والطريقة الثانية في المختبر لتحديد أفضل شروط استخراج البوليفينول والفلافونويد بالإضافة إلى تحسين الاستجابة السطحية لمضادات الاكسدة . حيث أظهر الالتحام الجزيئي ل 27 تركيبة ،من مكونات مستخلصات الشيح حدوث تكامل بنيوي مع الموقع الفعال للبيروكسيدوكسين مثبط البروتين الأصلي . ومنه نستنتج أن مستخلصات نبته الشيح لها دور مهم كمضاد بديل للأكسدة .

الكلمات المفتاحية : الشيح , البوليفينول ، الفلافونويد ، مضادات الأكسدة ، الالتحام ، الجزيئي ، سطح الاستجابة

Introduction

Introduction

Introduction générale

Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète et vieillissement (Uttara et al., 2009). Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de la cellule (Moon et Shibamoto, 2009).

Le développement de nouveaux antioxydants d'une bonne capacité antioxydant s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydation (Cowan, 1999).

Les plantes médicinales restent encore la première source de nouveaux médicaments (Maurice, 1997). Elles représentent un réservoir immense de composés potentiellement bénéfiques pour la santé qui sont représentés comme métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique. Ces métabolites possèdent un très large éventail d'activité antioxydant (Kaouan, 2017)

La famille des Asteraceae, est une large famille qui comprend plusieurs espèces riches en métabolites secondaires et surtout les antioxydants. Au sein de cette famille on trouve le genre *Artemisia* qui comprend plus de 400 espèces, réparties dans le monde (Ribnicky et al., 2004 ; Bencheqroun et al., 2012). Parmi les espèces de ce genre qui sont incorporés dans les pharmacopées de plusieurs pays, on cite : *Artemisia absinthium*, *Artemisia Annua* et *Artemisia herba alba* Asso (Bouldjadj, 2009 ; Lim et al., 2013).

Le genre *Artemisia* contient l'artémisinine, une substance médicamenteuse contre la malaria isolée de la plante chinoise *Artemisia annua* (Liu et al., 2009), mais l'artémisinine qui est un lactone sesquiterpénique, n'est pas la seule composante médicamenteuse dans ce genre, il y a d'autre lactones sesquiterpéniques et des flavonoïdes qui sont utilisées avec un faible risque de toxicité sur les mammifères (Squires et al., 2011).

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et

Introduction

la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments (**Bruneton, 1999**).

L'extraction des polyphénols à partir d'une matière naturelle est une étape importante pour caractériser les systèmes naturels riches en polyphénols. Ces composés peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants organiques. Mais la procédure de l'extraction est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et le temps d'extraction (**Nazck et Shahidi, 2004**).

C'est dans cette optique que se place ce présent travail ayant pour objectif d'optimiser l'extraction des composés phénoliques à partir d'*Artemisia herba alba* en étudiant l'influence de quatre facteurs à savoir: la température, le temps d'extraction, le rapport méthanol/eau et le rapport solide/liquide par la méthode des plans d'expérience.

Nous nous sommes également proposés de rechercher des nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels en évaluant l'activité antiradicalaire des extraits polyphénoliques, et prédire les molécules les plus susceptibles d'inhiber les cibles des antioxydants.

Ce manuscrit est structuré en 3 chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique, dans laquelle sont mises en revue les notions indispensables à la compréhension de notre travail. Un deuxième chapitre concernera le matériel et la méthodologie adoptée et enfin un troisième chapitre consacré aux résultats et à leur discussion. Ce manuscrit sera clôturé par une conclusion.

Synthèse bibliographique

I- Généralités sur l'espèce *Artemisia herba alba*

I-1- Systématique

Plusieurs appellations sont attribuées à l'Armoise blanche dans différentes régions du monde.

- **Nom Scientifique:** *Artemisia herba-alba* Asso ;
- **Nom français:** Armoise herbe blanche ou l'Armoise blanche, Absinthe du désert
- **Enanglais :** Desert wormwood, Sagebrush ;
- **Nom arabe:** شبيح;

Nom enAlgérie: شبيح (à l'Estet Nord algérien), Isfi (en Kabylie), Zerrar, Izri (en Chaoui).

La systématique de l'*Artemisia herba alba* se présente comme suit:

Tableau 01: La systématique de l'*Artemisia herba alba* .

Domaine	Biota
Règne	Plantae (Haeckel, 1866)
Sous-Règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes (Phanérogames) (QUEZAL & SANTA, 1963)
Sous- embranchement	Angiospermes (QUEZAL & SANTA, 1963)
Classe	Equisetopsida (C.Agardh, 1825)
Sous-Classe :	Magnoliidae(Novák ex Takht., 1967)
Super-Ordre :	Asteranae(Takht., 1967)
Ordre :	Asterales (Link, 1829)
Famille :	Asteraceae (Bercht. &J.Presl, 1820)
Sous-Famille :	Asteroideae (Lindl., 1829)
Tribu :	Anthemideae (Cass , 1819)
Sous-Tribu :	<i>Artemisiinae</i> (Less., 1830)
Genre :	<i>Artemisia</i> (L., 1753)
Sous-genre :	<i>Seriphidium</i>
Espèce :	<i>Artemisia herba-alba</i> (Asso, 1779)

I-2- Description morphologique de l'espèce *Artemisia herba helba*

L'armoise blanche est un arbrisseau tomenteux blanchâtre, de 30 à 50 cm, à nombreuses tiges dressées, ligneuses à la base; feuilles pubescentes, divisées en petites et fines languettes d'un vert argenté; inflorescences très petites capitules jaunâtres, sessiles, groupés par 2 à 12; bractées de l'involucre glanduleuses, et d'une odeur aromatique caractéristique (**Ozenda, 1983; Baba Aissa, 2000**).

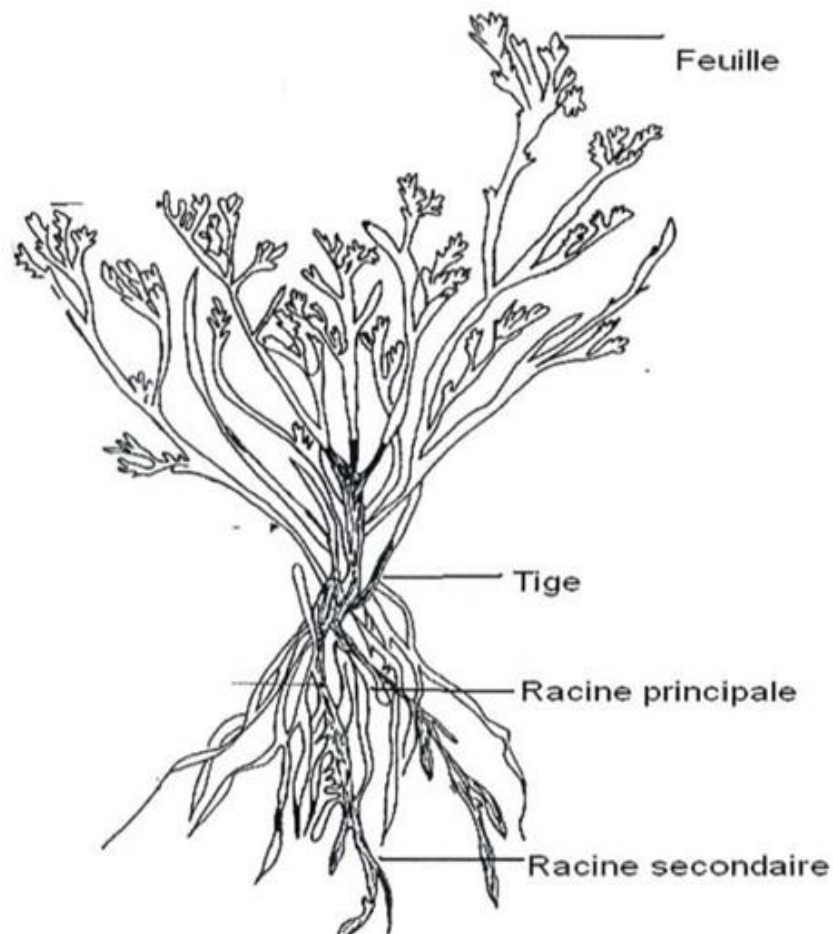


Figure 1 : Morphologie de la plante d'*Artemisia herba alba* (**Eloukil, 2013**).

I-2-1- Tige

La tige ou «caule» peut être définie comme un axe généralement aérien, prolongeant la racine et comprend la tige principale et les tiges secondaires et portant des extensions latérales rameaux et feuilles. La partie épigée de cette espèce peut être séparée en deux catégories: la partie ligneuse et la partie verte; la partie ligneuse est composée des pousses de l'année et la partie verte de feuilles (**figure 1**) (Ayad, 2008).

I-2-2- Feuilles

Elles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatifidées. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent. Cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente, et par conséquent, permet à la plante de résister à la sécheresse (**figure 2**) (Pourrat, 1974).



Figure 2 : Morphologie de la feuille d'*Artemisia herba-alba* (Eloukili, 2013).

I-2-3- Fleurs

Elles sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1.5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981). Le calice est pentamère et est toujours réduit, la corolle est gamopétale et pentamère et peut se présenter sous trois formes différentes : tubuleuse, bilabée ou ligulée (**figure 3**) (Goris, 1967).



Figure 03: Morphologie de la fleur d'*Artemisia herba halba* (Eloukili , 2013).

I-3- Répartition géographique de l'espèce *Artemisia herba alba*

I-3-1- Dans le monde

L'armoise blanche est une espèce steppique, elle se rencontre dans la région méditerranéenne en Afrique du Nord, en Espagne, dans les déserts de la péninsule du Sinaï, au Moyen-Orient, dans l'Himalaya du Nord-Ouest et en Inde (Segal et al., 1987 ; Mounir et al., 2015). Elle est considérée comme une espèce Irano-Touranienne (Zohary, 1962 et Quezel, 1978)(figure 4).



Figure 4 : Distribution géographiques *Artemisia herba alba* dans le monde (Mohamed et al., 2010).

I-3-2- En Algérie

En Algérie l'*Artemisia herba alba*, est très présente dans les hauts plateaux, les zones steppiques et au Sahara centrale dont le taux de recouvrement est estimé entre 10 et 60 %. On la trouve également dans des zones proches du littoral (Bendahou, 2007). Elle présente une vaste répartition géographique couvrant, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humides. Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification (Ayad et al., 2013).

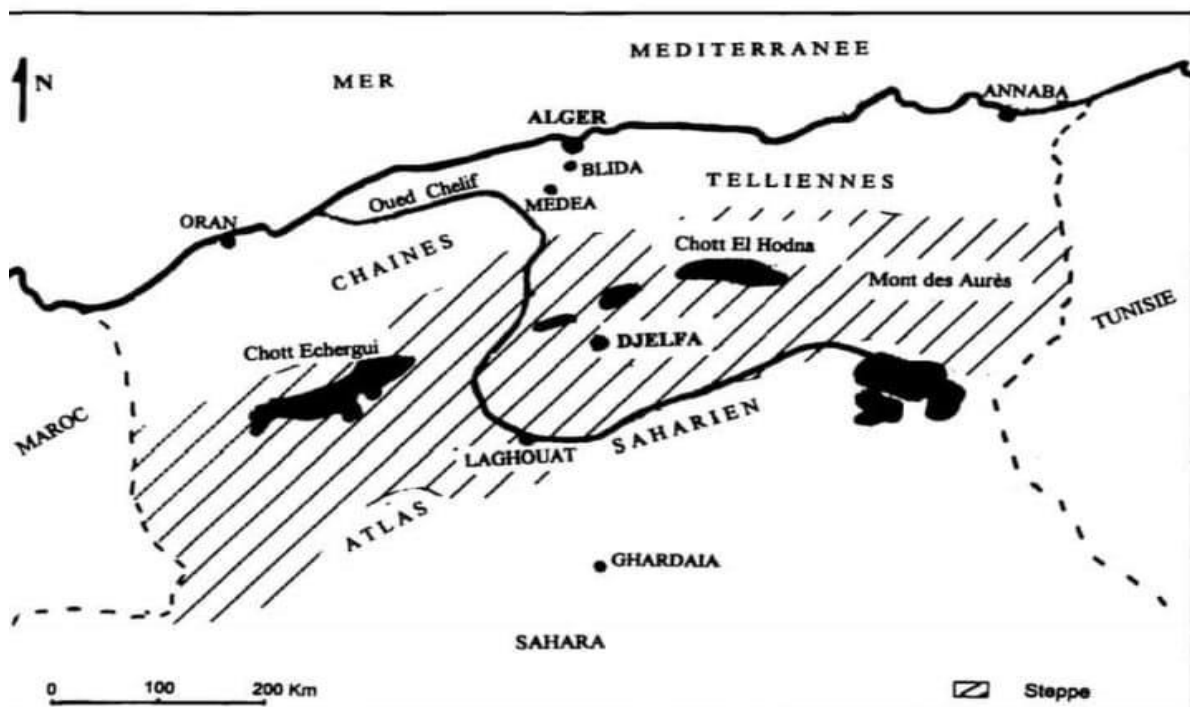


Figure5 : Distribution géographiques *Artemisia herba alba* en Algérie (Pouget, 1980).

I-4- L'usage médicinal de l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

L'armoise blanche est une plante médicinale et aromatique utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, elle est considérée comme matière pleine de substances médicinales et nutritionnelles, elle est aussi une source des huiles essentielles qui possèdent des effets remarquables sur le plan biologique (Bouzi, 2016).

Elle est utilisée pour traiter les troubles inflammatoires (rhume, toux, bronchite, diarrhée), les maladies infectieuses (maladies de la peau, gale, syphilis) et autres (diabète, névralgies) (**Abu-Darwish et al., 2015**)

Friedman et al. (1986), ont rapporté que l'infusion de l'armoise est assez employée par les bédouins du Néguev (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux. Elle a été essentiellement utilisée pour les maladies du tractus digestif et comme un traitement antidiabétique (**Bouraoui et Lafi, 2003**).

II- Les polyphénols

II-1- Définition

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules qui caractérisent le règne végétal, ils appartiennent à leur métabolisme secondaire (**He et al., 2008**). On les trouve dans tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux fruits, ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (**Richter, 1993**). Les polyphénols se caractérisent par la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**figure 6**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

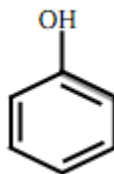


Figure 6: Structure du noyau phénol.


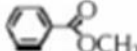


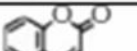
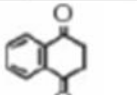
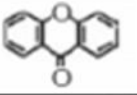
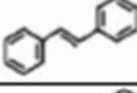
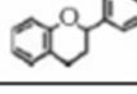
II-2- Classification des polyphénols

On peut distinguer deux grands groupes: les composés phénoliques **simples** et les composés phénoliques **complexes**.

II-2-1- Polyphénols simples

Les polyphénols forment un très large groupe de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau2**).

Tableau 2: Structure des squelettes des poly phénols (**Ben Hammou, 2012**).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

II-2-1-1- Les Flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores (**Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000**).

La structure chimique des flavonoïdes est basée principalement sur un squelette de quinze (15) atomes de carbones : le 2-phenyl-benzo [α] pyrane, ou le noyau flavane, constitué de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle, le noyau pyrane (C), ce qui donne aux flavonoïdes, un faible poids moléculaire (**Heller, 1993 ; Brown, 1980**).

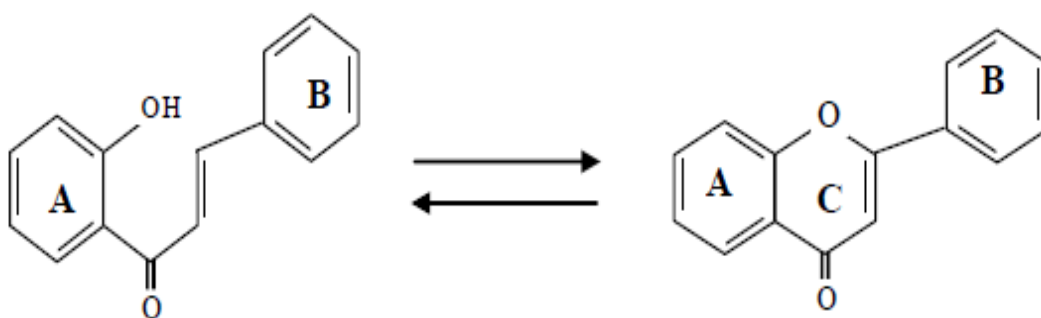


Figure 7: Structure d'un flavonoïde (**Akroum , souad, 2008, 2008**).

II-2-1-1- Les principaux flavonoïdes de l'armoise blanche

Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'Armoise blanche sont l'hispiduline et la cirsimaritrine. Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï (**Saleh et al., 1985**).

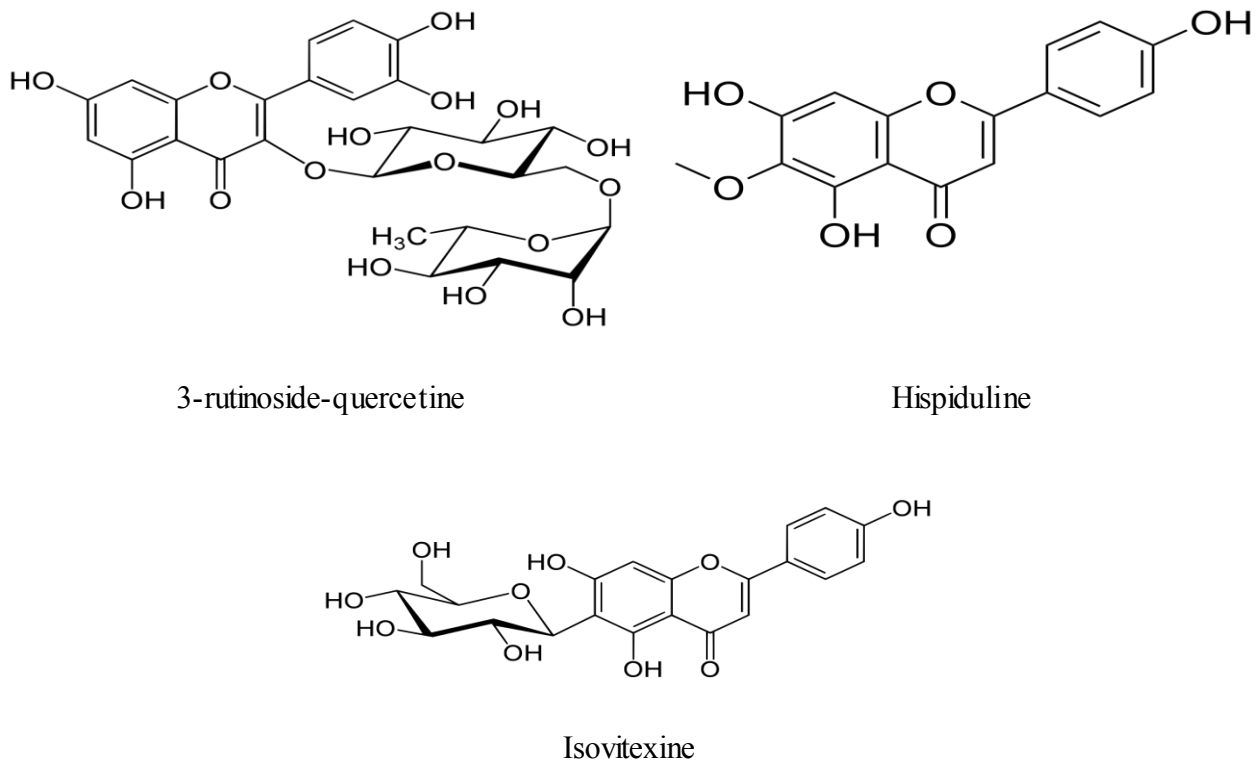


Figure 8: les principaux flavonoïdes de l'armoise blanche.

II-2-2- Polyphénols complexes (Tannins)

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.), caractérisées par leur astringence (sensation de dessèchement en bouche). Par exemple, les pépins de raisins sont très chargés en tanins. Le tanin se retrouve aussi dans le cidre, le calvados et le pommé, s'ils ont été produits dans des tonneaux en bois (chêne, châtaignier...). Les tonneaux en bois de châtaignier libèrent beaucoup plus de tanins que ceux en chêne (Messai, 2011).

Les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés:

- ✚ **Tanins hydrolysables:** ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (**figure 9**). Ces molécules sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**Ribéreau-Gayon, 1968**).
- ✚ **Tannins condensés** ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (**figure 9**) (**Bruyne et al., 1999**).

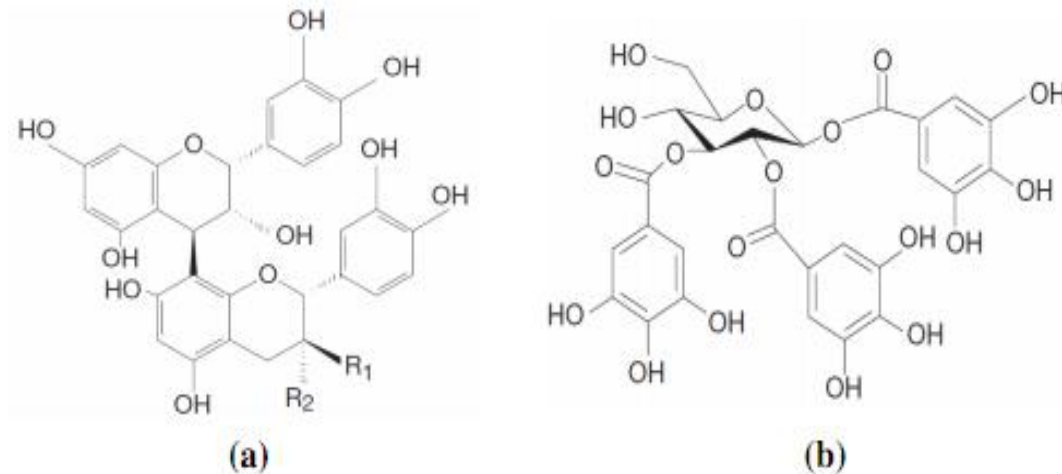


Figure 9: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotannin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (**Derbel et Ghedira, 2005**).

III- L'activité antioxydant

III-1- Le stress oxydant

Le dioxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une faible partie de l'O₂ en métabolites potentiellement toxiques: les espèces réactives de l'oxygène (**Tessier et Marconnet, 1995**).

Le stress oxydatif, se définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces espèces. Ce déséquilibre est à l'origine de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons, l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons

ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac et l'exercice excessif sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système(Gutteridge et Halliwell, 1993).

En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques (Gutteridge et Halliwell, 1993).

III-2- Les radicaux libre

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques(Gutteridge et Halliwell, 1993).

III-3- Les Antioxydants

Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres telles les vitamines et polyphénols, doivent être apportés par notre alimentation (Pincemail et Defraigne, 2004).

III-4- Polyphénols naturels comme antioxydants

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (**figure 10**). Leurs structures leur confèrent une activité antioxydant aussi importante. Les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, à la fin de la réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (Achat, 2013).

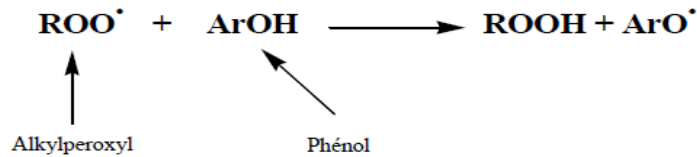


Figure 10: illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols.

VI- Les plans d'expérience

VI-1- Généralités

Les plans d'expériences offrent un moyen simple et efficace de réduire le coût et d'augmenter la robustesse des études expérimentales effectuées lors de la conception ou de la validation d'un produit industriel. Ils permettent d'utiliser toute la connaissance du produit dont le concepteur peut disposer à priori, offrent un cadre de modélisation rigoureux, et leur mise en œuvre ne nécessite que des connaissances mathématiques élémentaires (**Gendre, 2009**).

Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y , et des variables, x_i .

Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type $f(x_i) = y$. Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse (**George et al., 2005**).

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle de l'espace expérimental et celle de la modélisation mathématique des grandeurs étudiées (**Goupy, 2006**).

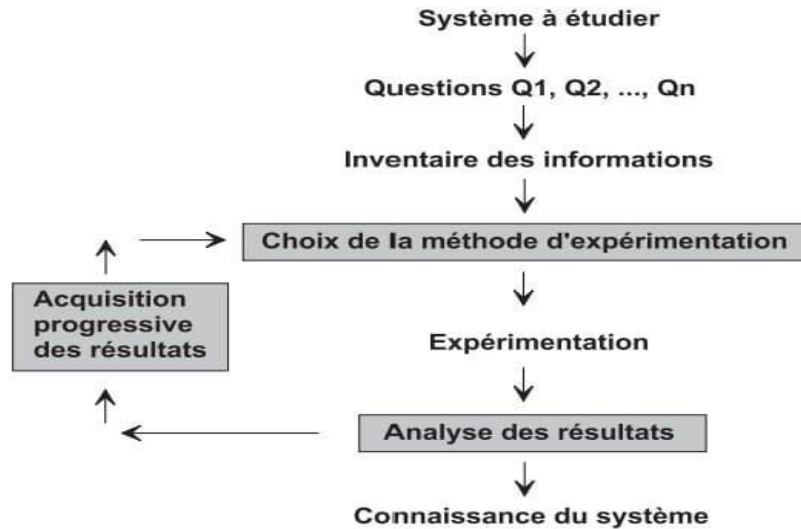


Figure 11: Les plans d'expériences optimisent les trois parties encadrées du processus d'acquisition des connaissances. (Goupy, 2006)

VI-2- Notions utilisées aux plans d'expériences

VI-2-1- Espace expérimental

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la réponse, c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs facteurs, Chacun de ces facteurs peut être représenté par un axe gradué et orienté (**figure 11**). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau.

Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux niveaux notés -1 et +1 (**Goupy, 2006**). L'espace expérimental, est donc l'espace coïncé entre deux axes représentant deux facteurs différents.

VI-2-2- Domaine d'un facteur

La valeur donnée à un facteur pour réaliser une expérience est appelée niveau. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas. La borne supérieure est le niveau haut. C'est l'expérimentateur qui définit ces deux niveaux en fonction des spécificités de l'étude. L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur.

S'il y a plusieurs facteurs, chacun d'eux a son domaine de variation. Afin d'avoir une représentation commune pour tous les facteurs, on a l'habitude d'indiquer les niveaux bas par -1 et les niveaux hauts par $+1$.

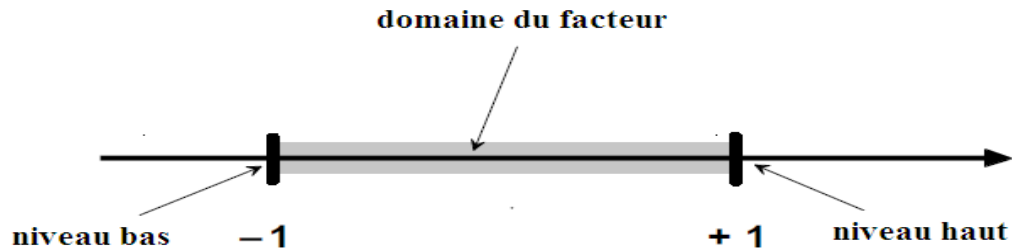


Figure 12: domaine de variation du facteur. Le niveau bas du facteur est noté -1 et le niveau haut $+1$

VI-2-3- Surface de réponse

À chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. À l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localise sur une surface appelée *surface de réponse* (figure 13).

Cette surface de réponse est très importante puisque c'est elle qui représente le comportement de la réponse quand on fait varier les niveaux des facteurs (Goupy, 2005)

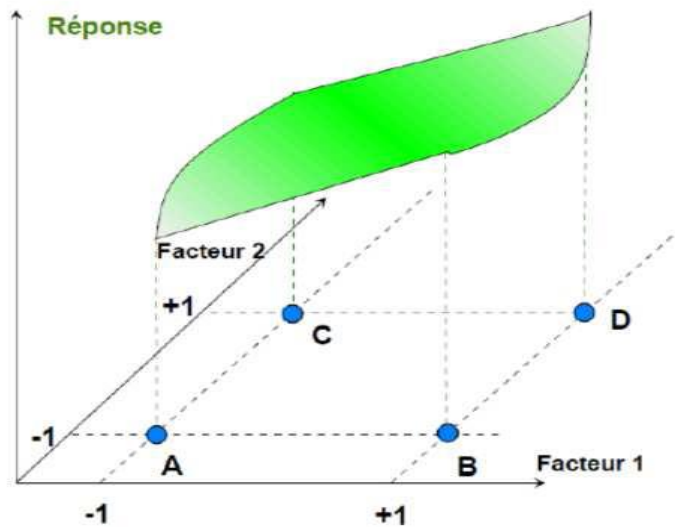


Figure 13: les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse (goupy,2006).

V- Docking Moléculaire**V-1- Généralités**

L'identification et la mise au point de nouveaux médicaments se fait par l'amarrage moléculaire ou docking moléculaire qui sert souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments. En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on s'est efforcé d'améliorer les méthodes qui calculent l'amarrage moléculaire(**Dekkiche, 2018**).

Le Docking moléculaire est défini comme étant l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Il y a différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine. Le « docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine(**Dekkiche, 2018**).

V-2- Les outils du docking moléculaires**V-2-1- Le récepteur**

Est une macromoléculaire étant le plus souvent une protéine (**El Hadji, 2016**). La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs. Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible (**Fortuné, 2006**).

Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures appelée la «Protein Data Bank» (PDB) (**Arrault, 2007**).

V-2-2- Le ligand

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl ...etc(**Mokrani, 2012**).

V-3- Les programmes dedocking

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK, ICM et MOE. Ils permettent notamment un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques, leur protocole est composé de deux étapes essentielles **Docking et Scoring**(**Grosdidier, 2007**).

Matériel et Méthodes

I- Matériel et Méthodes

Le sujet «L'activité antioxydant de l'armoise blanche: Docking moléculaire et optimisation par surfaces de réponses» fait appel à deux méthodes bien distinctes de criblage de l'effet antioxydant :

La méthode virtuelle« *in-silico* » en utilisant le Docking moléculaire qui nous permet de prédire la structure d'un complexe moléculaire composé des principes actifs (ex. les constituants des extraits de l'armoise blanche), qui interagissent avec une cible protéique, afin de montrer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée ;

La méthode *in-vitro* :en utilisant des réactifs comme le DPPH et l'H₂O₂. Dans cette étude on va utiliser un plans de surface de réponses afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes extraits de la partie aérienne de l'espèce *Artemisia herba alba* Asso.

1- Matériel

1-1- Docking moléculaire

1-1-1- Sources d'information à consulter

La banque de données protéiques du ResearchCollaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB), plus communément appelée Protein Data Bank ou PDB est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures tridimensionnelles de protéines d'intérêt pharmaceutique (**Berman et al., 2000**).

Pubchem: est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institutes of Health (NIH) (**NCBI, 2004**). PubChem répertoire plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres chimique, biochimique, Pharmacologique, production et toxicologie.

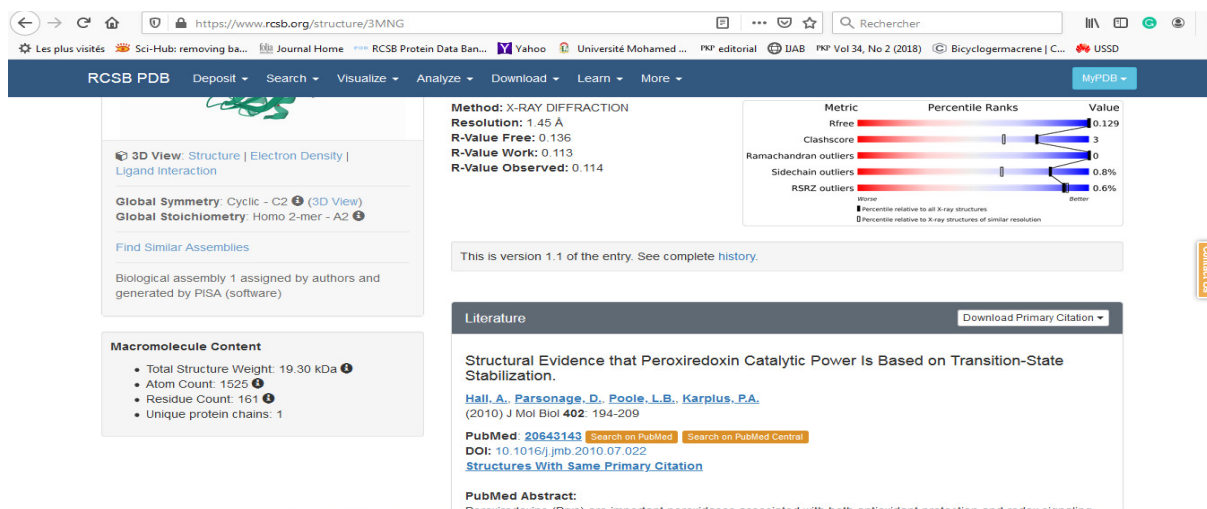


Figure 14: Page web de la base des données RCSB.

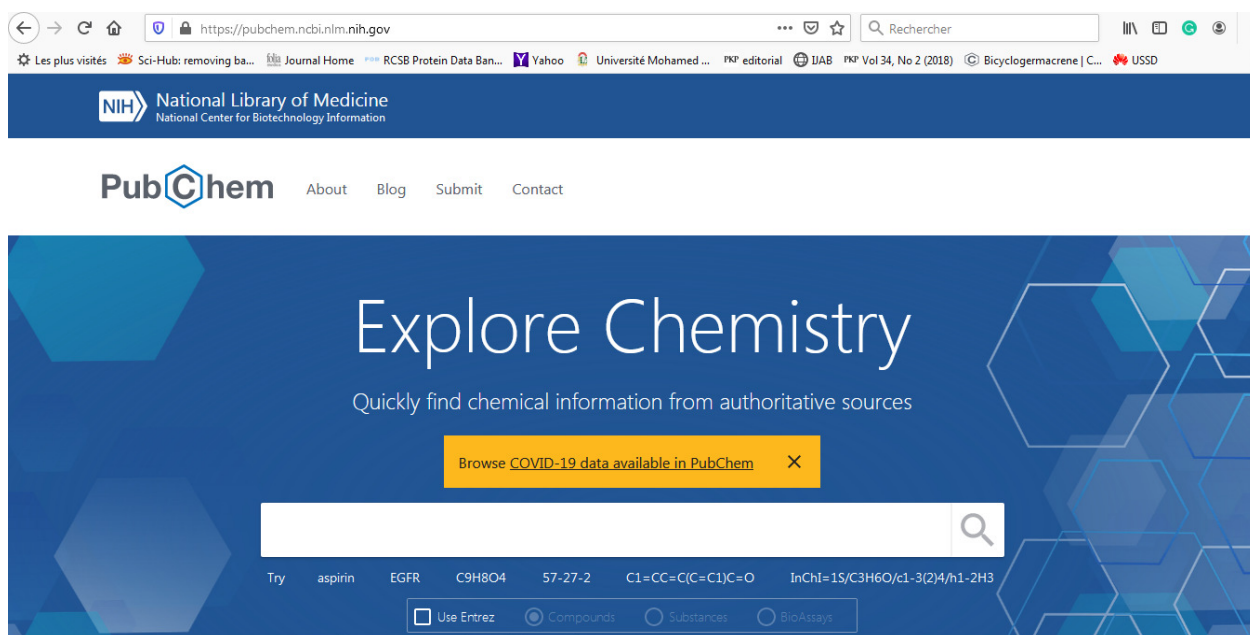


Figure 15: Page web de la base des données PubChem.

1-1-2- Ligands

Vingt-sept structures, constituants des extraits d'*Artemisia herba alba* téléchargées sous format SDF (Tableau 03), ont été soumises à des études de docking moléculaire semi-flexibles pour l'inhibition de Peroxyrédoxine (Sudhamani et al. 2019).

Tableau 03 : Les constituants des extraits d'*A. herba alba* utilisés dans le docking moléculaire.

ID_PubChem	Constituants d' <i>A. herba alba</i>	Références
68827	Artemisin	(genome.jp.10986)
162350	Isovitexin	(Saleh et al., 1998)
162464	cirsilineol	(Mohamed et al., 2010)
188323	cirsimartin	(Shen et al., 1994)
211707	Taurin	(Boriky, D .1995)
442658	schaftoside	(Mohamed et al., 2010)
442664	vecenin-2	(Mohamed et al., 2010)
736052	α -santonin	(Boriky et al., 1996)
3084995	isoschaftoside	(Mohamed et al., 2010)
5280805	Quercetin 3-rutinoside	(Saleh et al., 1985)
5281628	hispidulin	(Shen, 1994)
5496475	5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavone	(genome.jp.10986)
12308602	Artemisiaalcohol	(genome.jp.10986)
14021308	Erivanin	(genome.jp.10986)
14413713	2,5-Dimethyl-4-vinyl-5-hexene-2,3-diol	(genome.jp.10986)
44259782	Patuletin 3-glucoside	(genome.jp.10986)
90474440	Herbolide A	(Bouraouiet al., 2003)
101287064	herbolide E	(Bouraouiet al., 2003)
101287065	herbolide F	(Bouraoui et al., 2003)
101287066	herbolide G	(Bouraouiet al., 2003)
101287067	herbolide H	(Bouraoui et al.2003)
101287068	herbolide I	(Bouraouiet al., 2003)
101316780	herbolide B	(Bouraoui et al., 2003)
101316781	herbolide C	(Bouraoui et al., 2003)
101409165	5-Methyl-2-methylene-4-vinyl-5-hexene-1,3-diol	(genome.jp.10986)
102117175	torrentin	(genome.jp.10986)
13944248	Isoerivanin	(Boriky et al., 1996)

1-1-3- Macromolécules

Pour le test *in-silico* de l'effet antioxydant de l'armoise blanche, nous avons choisi la Peroxyrédoxine (Sudhamani et al. 2019). Ces protéines sensibles au potentiel redox sont impliquées dans le mécanisme de détoxification du H₂O₂, une molécule oxydante induite lors de situations de stress (Maheux, 2013). La structure dont ID PDB : 3MNG déposée par Hall et al. (2010) a été téléchargées sous format PDB et dont les structures tridimensionnelles obtenues par diffraction des rayons X (Tableau 04 et Figure 16).

Tableau 04: caractères de la structure utilisée dans le docking moléculaire.

Protéine	Méthode de détermination	Résolution	Valeur de R	Nombre de résidus	Ligand Co-cristallisé
3MNG	diffraction des rayons X	1.45 Å	0.136	161	(4S,5S)-1,2-Dithiane-4,5-diol

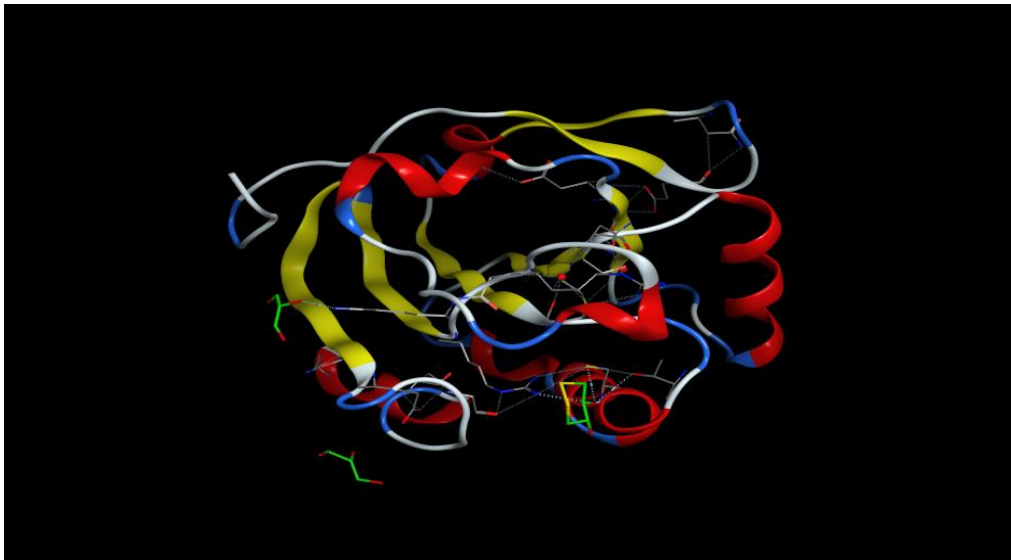


Figure 16: Structure tridimensionnelle de Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG)

1-1-4-Programmes (logiciels)

On a utilisé le logiciel MOE 2014 (Molecular Operating Environment) pour le Docking moléculaire.

1-2- Optimisation de l'extraction des antioxydants par plan d'expérience**1-2-1- Matériel végétal**

Le matériel végétal comprend la partie aérienne de l'espèce *Artemisia herba alba* récoltée de la région d'El-hamma, Wilaya de Khenchela au mois de Mars 2020.

L'identification botanique a été effectuée à l'aide de la flore locale **(Quezel et Santa,1963)** et confirmée par Dr. ZERAIB Azzeddine (maître de conférences à l'université Abbes Laghrour-Khenchela).

Après séchage pendant 2 semaines, le matériel végétal a été découpé en petits morceaux d'environ 1cm de longueur, et broyé à l'aide d'un mortier traditionnel pour obtenir une poudre grossière, puis réduite en poudre fine à l'aide d'un moulin. La poudre sera utilisée pour l'extraction polyphénols.

1-2-2- Matériel de laboratoire**I-2-2-1 Réactifs**

Trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (2%), Folin- ciocalteu, carbonate de sodium (Na_2CO_3 (20%), l'acide gallique, Quercétine, chlorure de sodium (NaCl), Méthanol, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DDPH), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Diméthylsulfoxyde (DMSO), eau distillée.

I-2-2-2 Appareillage

Spectrophotomètre, Bain-Marie, Agitateur magnétique, Vortex, Balance électrique, Tubes à vice, Micropipettes.

1-2-3- Programmes

On a utilisé le logiciel JMP7Discovery pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et leur activité antioxydant.

2- Méthodes

2-1- Le test *in-silico*

2-1-1- Test de fiabilité

La fiabilité du programme utilisé est testée en utilisant deux critères :

L'écart quadratique moyen ou le RMSD (Root Mean Square Déviation) entre la position du ligand du complexe cristallographique (position initiale) et celles des ligands amarrés par le programme MOE (position après redocking avec MOE). Un seuil maximal de 2Å est souvent utilisé pour discriminer une bonne position d'une mauvaise ;

L'analyse visuelle de la superposition du ligand simulé sur le ligand Co-cristallisé.

2-1-2- Préparation de la protéine (macromolécule)

Les molécules d'eau ont été retirées pour la stabilité des protéines, à l'exception de deux molécules (molécules 1109 et 1178) qui font partie du site actif de la protéine (**Figure 17**). Certains résidus qui ne sont pas impliqués dans la réaction catalytique de l'enzyme sont éliminés (sels et métaux), et des atomes d'hydrogène polaires ont été ajoutés. L'énergie des deux structures protéine et ligand Co-cristallisé est minimisée en utilisant les forces de champ dans l'Amber99 implanté dans le MOE.

2-1-3- Préparation des ligands

vingt-sept structures de constituants de l'armoise blanche ont été téléchargées de la banque de données PubChem sous format SDF tridimensionnel puis regroupées dans une seule base de données. Les structures des molécules ont été corrigées par l'addition des hydrogènes et la minimisation d'énergie en utilisant les forces de champs dans le MMFF94x implanté dans le MOE.

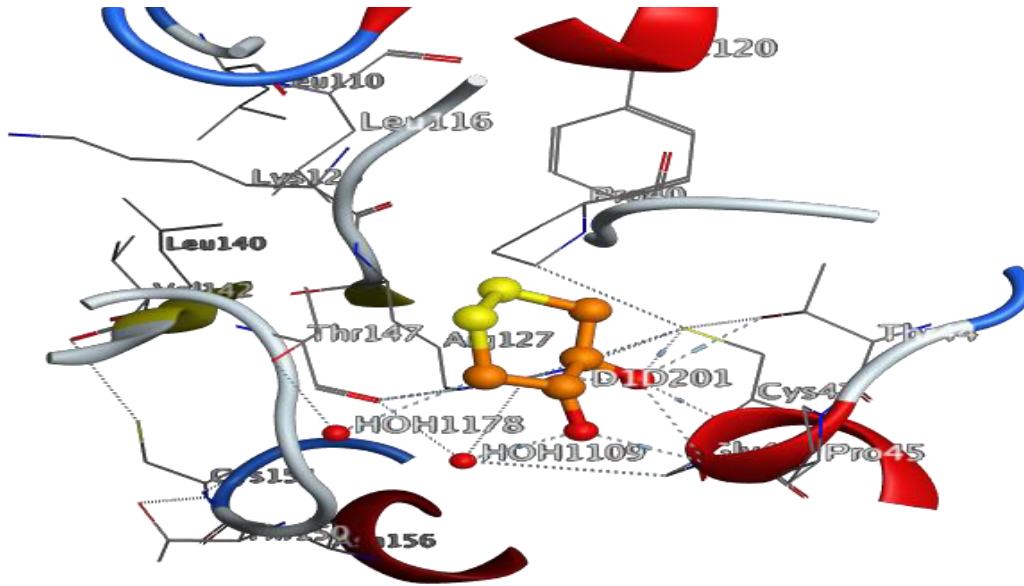


Figure 17: structure de site actif de la protéine testée.

2-1-4- Procédure de Docking moléculaire

Le Docking moléculaire été réalisé à l'aide du MOE 2014.0901. Le site actif de la protéine étudiée a été défini autour des ligands co-cristallisés. Ensuite, la base de données des constituants de l'armoise blanche a été ancrée dans le site actif de la protéine à l'aide de la méthode d'ancrage triangulaire et 30 conformations de chaque complexe ont été générées avec le score d'ancrage.

2-2- Optimisation de l'extraction des antioxydants

2-2-1- Plan d'expérience

On a choisi le plan central composite (CCD) pour l'optimisation de l'extraction des antioxydants à partir la partie aérienne de l'armoise blanche, en utilisant quatre réponses: le taux des polyphénols totaux (Réponse Y1). La teneur en flavonoïdes (Réponse Y2). L'activité antioxydant en utilisant H_2O_2 (Réponse Y3) et l'activité antioxydant en utilisant le DPPH (Réponse Y4).

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des antioxydants de l'espèce *Artemisia herba alba*, quatre facteurs ont été étudiés: le rapport solvant /eau (80/20, 50/50, 20/80), le rapport liquide /solide (g/10ml) (0.8, 1.2, 1.6), la température (c°) (30, 50, 70) et le temps d'extraction (heures) (1, 2, 3). Les quatre facteurs sont représentés en trois niveaux codés par -1, 0 et +1 pour le minimum, moyenne et le maximum respectivement. Les niveaux inférieurs, de base et supérieurs des paramètres à optimiser ont été fixés en s'inspirant des travaux antérieurs (Benmeziane et al., 2014 ; Saikia et al., 2015; Saikia et al., 2018).

Le tableau 05 réunit les valeurs des variables réelles et codées des trois paramètres. La construction de la matrice des expériences nous a donné 26 essais.

Tableau 05: valeurs des variables réelles et codées des facteurs étudiés.

Variable	Code du variable	-1	0	+1
Température (c°)	X1	30	50	70
Temps (h)	X2	1	2	3
Solide/liquide	X3	0.8	1.2	1.6
Méthanol/Eau	X4	20	50	80

La poudre obtenue (0.8, 1.2, 1.6g) a été mise à macérer dans un volume de 10ml de méthanol à différentes concentration (20%, 50%, 80%) sous agitation et incubation pendant (1, 2, 3h) à une température de (30, 50, 70 c°) suivant la matrice donnée par le logiciel JMP (Tableau 06). L'extrait a été filtré sous vide et les solides sont éliminés. Afin d'éviter les pertes pendant le processus de filtration qui pourrait brouiller les résultats ; le filtrat a été porté à un volume exact (10 ml) avec le solvant d'extraction.

Tableau 06 :Matrice d'expérience pour les facteurs étudiés pour l'optimisation de l'extraction des antioxydants de l'armoise blanche.

Essai	Variables indépendants				Facteur étudiés			
	X1	X2	X3	X4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	50	120	1.2	50				
2	70	60	1.6	80				
3	30	60	0,8	20				
4	70	60	0,8	80				
5	50	120	0.8	50				
6	30	180	0.8	20				
7	30	60	0,8	80				
8	30	180	0.8	80				
9	70	180	0.8	80				
10	70	60	1,6	20				
11	70	180	0.8	20				
12	30	60	1,6	80				
13	50	120	1.2	80				
14	50	180	1,2	50				
15	50	120	1,2	50				
16	30	180	1,6	80				
17	70	180	1,6	20				
18	30	180	1.6	20				
19	70	180	1.6	80				

20	30	120	1,2	50				
21	50	60	1,2	50				
22	30	60	1,6	20				
23	70	60	0,8	20				
24	70	120	1.2	50				
25	50	120	1,2	20				
26	50	120	1,6	50				

2-2-2- Dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux se fait par la méthode de Folin-Ciocalteu citée par **Moufouk et al. (2020)**. 200 μ l d'extrait ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables sont ajoutés à 1000 μ l de réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois v/v) et Après 4 min, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium de 7.5% (m/v) de concentration sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en μ g d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (μ g EAG/g d'extrait).

2-2-3- Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes contenus dans les extraits de l'armoise blanche estimés par la méthode d'AlCB (**Moufouk et al., 2020**), on met 1 ml trichlorure d'aluminium à 2% préparé dans le méthanol et rajouté à 1ml de différents extraits de la plante. L'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard: Quercétine. La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche(mg EQ/g MS).

2-2-4- Tests de l'activité antioxydant

2-2-4-1- Le test de DPPH

Le DPPH est un radical libre stable qui possède une coloration violet foncé, lorsqu'il est réduit la coloration devient jaune pâle. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Benariba et al., (2013)** avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100ml du méthanol.

Un volume de 100µl de chaque extrait est ajouté à 900 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,1 mM) fraîchement préparée. Le contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µl du méthanol avec 900µl d'une solution méthanolique de DPPH. Les tubes sont incubés incubation pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm.

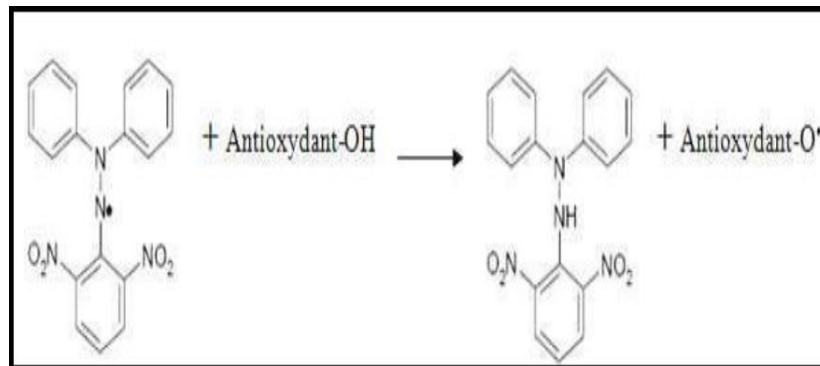


Figure 18 : réaction d'un antioxydant avec le radical libre DPPH.

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est exprimée en pourcentage et donnée par la formule suivante :

$$AA\% = \frac{Abs_{517\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon } 517}}{Abs_{517\text{ contrôle}}} \times 100$$

2-2-4-2- le test de H₂O₂

Le OH est le radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion super-oxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre suivant la réaction de Haber Weiss (**Castro et Freeman, 2001**).

Ce radical possède un électron libre avec un potentiel de réduction plus élevé (2310 mV) qui lui permet de réagir avec les lipides, les protéines les polypeptides et l'ADN particulièrement la thiamine et la guanine (Siddhuraju et Becker, 2007).

In vitro, la capacité à piéger le radical hydroxyle par les extraits des plantes est basée sur : la réaction de Fenton en mesurant la génération du radical OH et son effet sur l'oxydation et la dégradation des molécules biologiques tels que le désoxyribose de l'ADN. Dans cette technique le système implique l'auto- oxydation du complexe Fe²⁺-EDTA dans un milieu aqueux pour former O₂⁻, qui est rapidement dismuté en H₂O₂ à pH 7.4.

Après, ce dernier est interagit avec Fe²⁺ pour former les radicaux OH en présence de l'acide ascorbique comme catalyseur (réaction de Fenton)



La dégradation du désoxyribose par OH dégage certains produits estimés en malonaldéhyde (MDA), d'un chromogène rose lors du chauffage avec l'acide thiobarbiturique et dans un milieu acide.

La présence des anti-radicaux protège et diminue la production des MDA (Halliwell et al., 1987).

Notant que, le rôle d'ascorbate est la réduction du Fe³⁺ en Fe²⁺ et cela provoque la réaction de Fenton (Fe³⁺-EDTA + ascorbate Fe²⁺-EDTA + ascorbate oxydé).

La capacité du piégeage du radical hydroxyle est évaluée avec le pourcentage d'inhibition de l'oxydation de 2-désoxyribose par les radicaux hydroxyles. Le pourcentage du piégeage est calculé en basant sur la formule suivante : $\frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$ Pourcentage de piégeage %
 Où : A₀ : représente l'absorbance du contrôle sans extrait ; A₁ : représente l'absorbance après l'addition de l'extrait et de désoxyribose ; A₂ : représente l'absorbance de l'extrait sans désoxyribose.
 Le contrôle positif utilisé est celui du BHA. Les expériences sont répétées en 3 fois.

2-2-5- Analyse des résultats

La construction de la matrice des expériences nous a donné 26 essais. Afin de prédire le point optimal, une fonction polynomiale de second ordre a été élaborée. Elle permet d'étudier la

relation entre les variables indépendantes (la température, temps de macération, le rapport matière végétale/volume du solvant, et la concentration du solvant) et les réponses (le taux des polyphénols totaux, la teneur en flavonoïdes, l'activité Antioxydant en utilisant H_2O_2 , l'activité antioxydant en utilisant le DPPH).

La forme générale de l'équation polynomiale du second ordre est la suivante :

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

Avec :

Y_i : la réponse ;

β_0 : la constante du modèle;

X_i, X_j : les variables indépendantes ;

β_i : le coefficient linéaire ;

β_{ij} : le coefficient d'interaction ;

β_{ii} : le coefficient quadratique.

L'analyse statistique du modèle est exécutée en analysant la variance (ANOVA). Cette analyse inclut le test de Fischer (signification du modèle globale), sa probabilité associée $p(F)$, le coefficient de corrélation R et le coefficient de détermination (R^2) qui mesure la qualité d'ajustement du modèle de régression. Pour chaque variable, les modèles quadratiques sont représentés par des courbes de la surface de réponse (3D). Cette analyse est réalisée par le logiciel JMP 7 Discovery.

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

3-1- Test de Fiabilité du programme

Dans ce test nous avons évalué la capacité de logiciel MOE à prédire l'emplacement correct du ligand au sein du site actif de la protéine. La prédiction est acceptable si les valeurs de RMSD ne dépassent pas 2Å (Gabb et al., 1997). Les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans le **tableau 07** et la **figure19**:

Tableau 07 : Résultats de redocking du ligand dans le site actif de Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG) par le logiciel MOE.

Position	Score	RMSD	Interaction de ligand avec le site actif de Peroxyrédoxine
1	-4.5037	0.1835	4 liaisons d'hydrogène avec les hydroxyles de ligand (HD-THR44, HA-GLY46, HA-CYS47, HA-ARG127).
2	-4.2439	3.0866	4 liaisons d'hydrogène avec les deux atomes de soufre (HD-CYS47, HA-CYS47, HA-ARG127, HA-GLY46)
3	-4.2361	0.7515	Une seule liaison hydrogène avec un hydroxyle du ligand (HA-GLY46)
4	-4.1988	0.7735	3 liaisons hydrogène avec les deux hydroxyles du ligand (HA-CYS47, HA-ARG127, HA-GLY46)
5	-4.1863	0.9452	Deux liaisons hydrogène avec un hydroxyle du ligand (HA-CYS47, HA-ARG127)
HA : hydrogène accepteur, HD : Hydrogène accepteur			

Il ressort que la majorité des valeurs de RMSD se situe dans l'intervalle 0,18 –1,0 Å, la meilleur position (RMSD = 0.1835) est celle qui donne le meilleur score. Ce qui nous permet de dire que le programme MOE est un outil de modélisation bien adapté à l'étude *in-silico* de l'inhibition de cette protéine.

L'analyse visuelle montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la pose du ligand générée après le docking moléculaire (colorée en bleu) et celle de référence déterminée expérimentalement (colorée en vert), les seules différences enregistrées résident dans la longueur ainsi que les énergies des liaisons d'hydrogène avec le site actif de la protéine (**figure 19**). Cela témoigne davantage de la fiabilité du programme MOE pour l'étude *in-silico* de l'inhibition de Peroxyrédoxine.

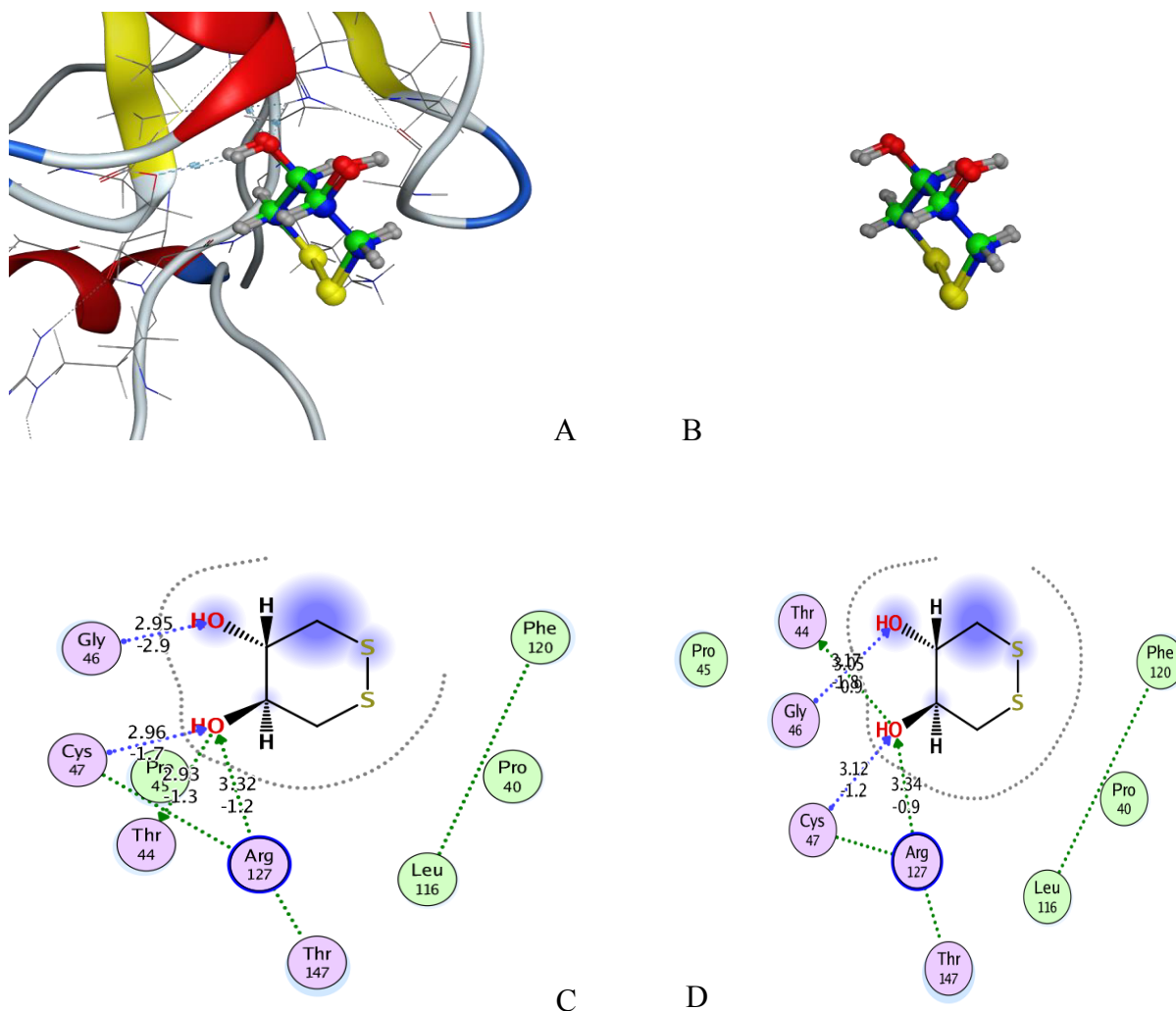


Figure 19 : Superposition et interactions des ligands du complexe simulé par MOE par rapport au ligand de référence. **A**, l'emplacement des deux poses du ligand (avant le docking colorée en vert, après le docking colorée en bleu) dans le site actif ; **B**, la superposition du ligand généré par le MOE sur pose expérimentale ; **C**, diagramme de l'interaction du ligand expérimental avec le site actif de la protéine ; **D**, diagramme de l'interaction du ligand généré par le MOE avec le site actif de la protéine.

3-2- Docking et Scoring

Le docking des 27 structures, constituants des extraits de l'armoise blanche, est effectué sur la Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG), une protéine impliquée dans le mécanisme de détoxification du H₂O₂, induite lors de situations de stress (Maheux, 2013). Les résultats obtenus sont illustrés dans le **Tableau 8**. Les meilleurs inhibiteurs sont choisis en comparant leurs scores par rapport à ceux du ligand co-cristallisé.

Tableau 8: Résultats de docking moléculaire des constituants de l'armoise blanche sur le site actif Peroxyrédoxine (PDB : 3MNG).

ID_PubChem	Constituants <i>d'A. herba alba</i>	Score_(kcal/mole)
68827	Artemisin	-4,8002
162350	Isovitexin	-5,1142
162464	cirsilineol	-5,3560
188323	cirsimartin	-5,0652
211707	Taurin	-4,9727
442658	schaftoside	-6,0906
442664	vecenin-2	-6,2611
736052	α -santonin	-4,6419
3084995	isoschaftoside	-6,1990
5280805	Quercetin 3-rutinoside	-6,7084
5281628	hispidulin	-4,9983
5496475	5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavone	-5,1878
12308602	Artemisiaalcohol	-4,5020
14021308	Erivanin	-5,1631
14413713	2,5-Dimethyl-4-vinyl-5-hexene-2,3-diol	-4,8326
44259782	Patuletin 3-glucoside	-6,0215
90474440	Herbolide A	-4,8318
101287064	herbolide E	-5,0884
101287065	herbolide F	-4,8141
101287066	herbolide G	-4,6160

101287067	herbolide H	-4,9781
101287068	herbolide I	-4,8516
101316780	herbolide B	-5,1639
101316781	herbolide C	-5,1368
101409165	5-Methyl-2-methylene-4-vinyl-5-hexene-1,3-diol	-4,6687
102117175	torrentin	-5,2235
13944248	Isoerivanin	-5,0735
Les meilleurs inhibiteurs sont présentés en gras		

Le docking moléculaire a fait ressortir 26 composés présentant un score inférieur à celui du ligand co-cristallisé qui est de -4.5037 kcal/mole, alors qu'un seul constituant (l'alcool d'artemisia) a présenté la même affinité que le ligand de référence (-4,5020 kcal/mole). Ceci montre que les constituants des extraits de l'armoise blanche sont des inhibiteurs potentiels de la cible.

Les résultats enregistrés peuvent être expliqués par les caractères physico-chimiques de ces constituants. En effet, une corrélation négative hautement significative a été observée entre le score de l'affinité des constituants de l'armoise blanche et leurs poids moléculaire, le nombre d'atomes lourds, le nombre d'atome hydrophobe, le nombre d'atome d'oxygène et la surface topologique (TPSA). Tandis que le score enregistré n'est pas affecté par la solubilité de ces molécules dans l'eau (**Figure 20**).

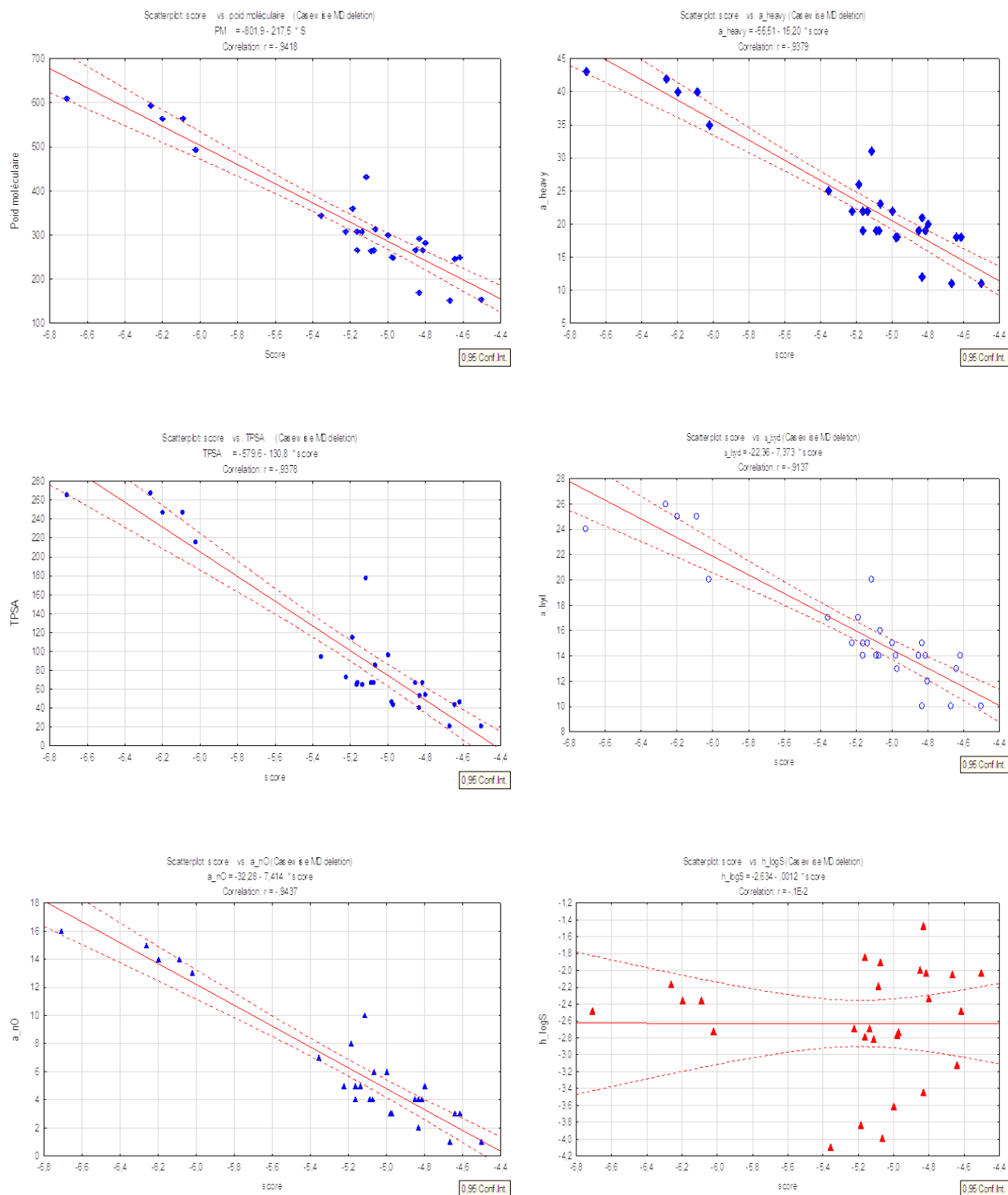


Figure 20: courbes de corrélation du score avec les caractéristiques physico-chimique des constituants de l'armoise blanche.

Les cinq meilleurs inhibiteurs ont des scores inférieurs à -6 kcal/mole. La Quercetin 3-rutinoside est le meilleur inhibiteur de cette protéine avec un score : -6,7084 kcal/mole. La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif. La **figure 21** présentée ci-dessous montre que la Quercetin 3-rutinoside prend la forme de la cavité enzymatique formée par les résidus du site actif, ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe et par la suite, une meilleure fixation de cet inhibiteur au niveau du site actif. Les interactions entre le site actif de la Peroxyrédoxine et la Quercetin 3-rutinoside sont présentées dans le **tableau 3** et la **figure 22**:

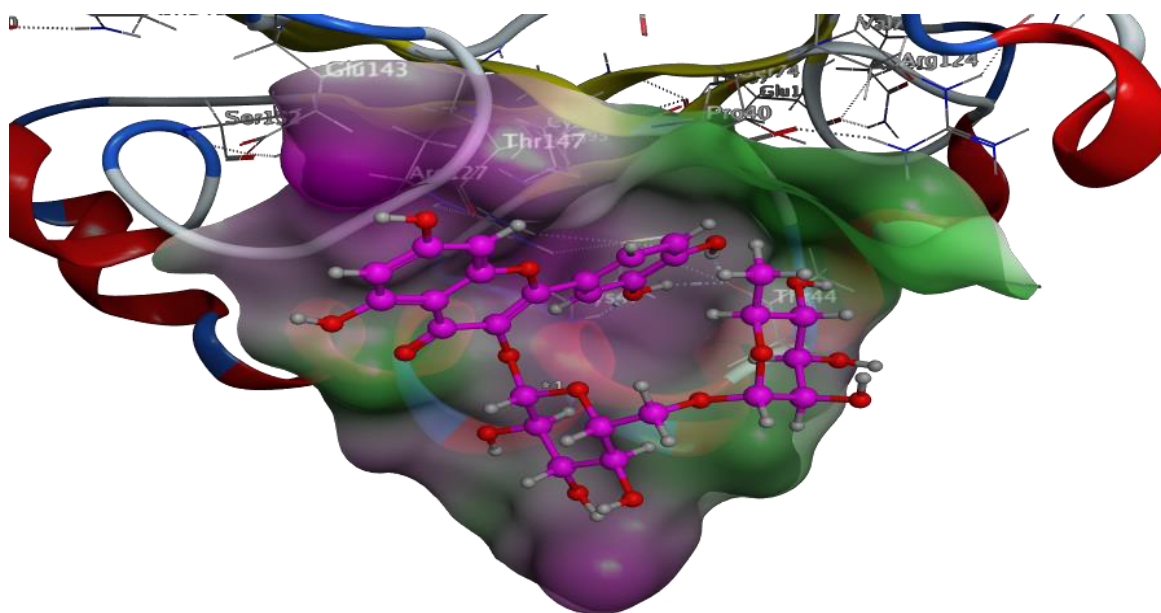


Figure 21: L'emplacement de la Quercetin 3-rutinoside dans le site actif de la Peroxyrédoxine.

L'analyse des résultats du docking moléculaire (**figure 22** et **Tableau 9**) ont montrés que le composé Quercetin 3-rutinoside est bien positionné au sein du site actif de la Peroxyrédoxine(3MNG) en formant quatre liaisons hydrogènes.

La première liaison est formée entre l'oxygène du groupement hydroxyle du composé O15 et le résidu THR44 avec une distance égale 2,98Å. La deuxième liaison est formée entre l'oxygène du groupement hydroxyle (O16) de l'inhibiteur et THR44 d'une distance égale 3.10Å. La troisième liaison est établie entre l'oxygène du groupement hydroxyle (O5) de l'inhibiteur et LYS49 avec une distance égale 3.32 Å. La dernière liaison est constatée entre l'oxygène du groupement hydroxyle de l'inhibiteur (O15) et le résidu CYS47 avec une distance égale à 3.07 Å (voir figure 22). De même, plusieurs interactions hydrophobiques sont formées entre l'inhibiteur et les résidus PRO40, PRO45, Phe120, Leu149 et Ile119 du site actif de l'enzyme.

Le vecenin-2 est le deuxième meilleur inhibiteur de la Peroxyrédoxine avec un score S= -6,2611 Kcal/mol.

La visualisation et l'analyse des résultats du docking représentés dans les figures 23 et 24 et le Tableau 10, ont montrés que le complexe vecenin-2-Peroxyrédoxine est stabilisé grâce aux liaisons d'hydrogène établies avec les groupements hydroxyles à l'extrémité de la structure de vecenin-2.

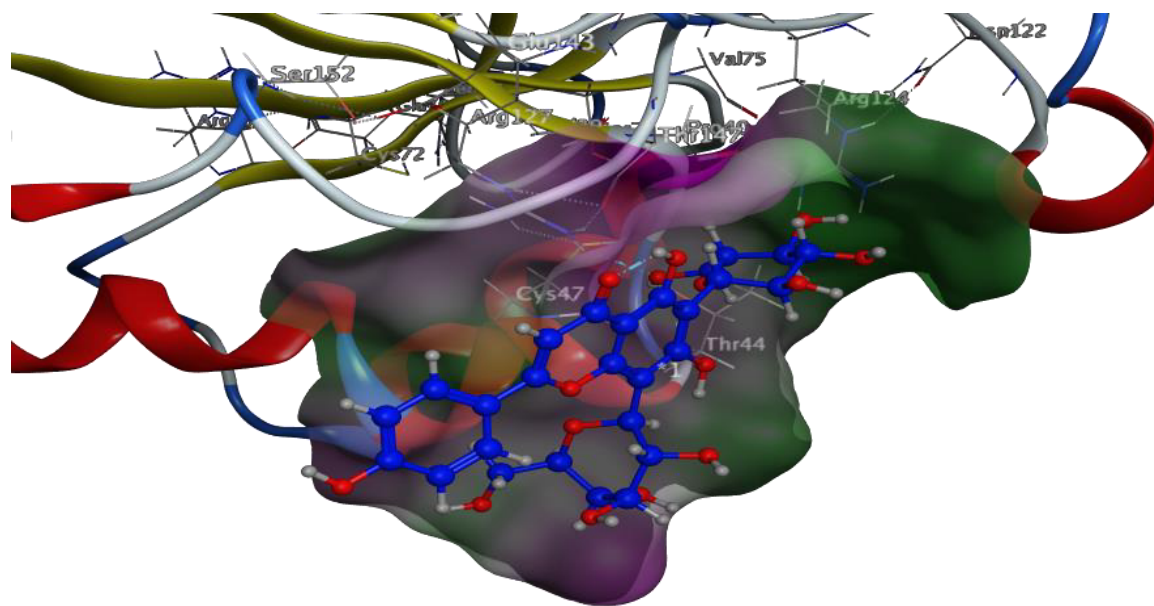


Figure 23: L'emplacement du vecenin-2 dans le site actif de la Peroxyrédoxine.

Tableau 10 :Résultats dudocking moléculaire du vecenin-2 sur la Peroxyrédoxine (3MNG).

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	Energie (Kcal/mol)
O13	THR44	HD	3,12	-0,8
O7	LYS49	HA	2,96	-6,3
O13	ARG127	HA	3,13	-1,4

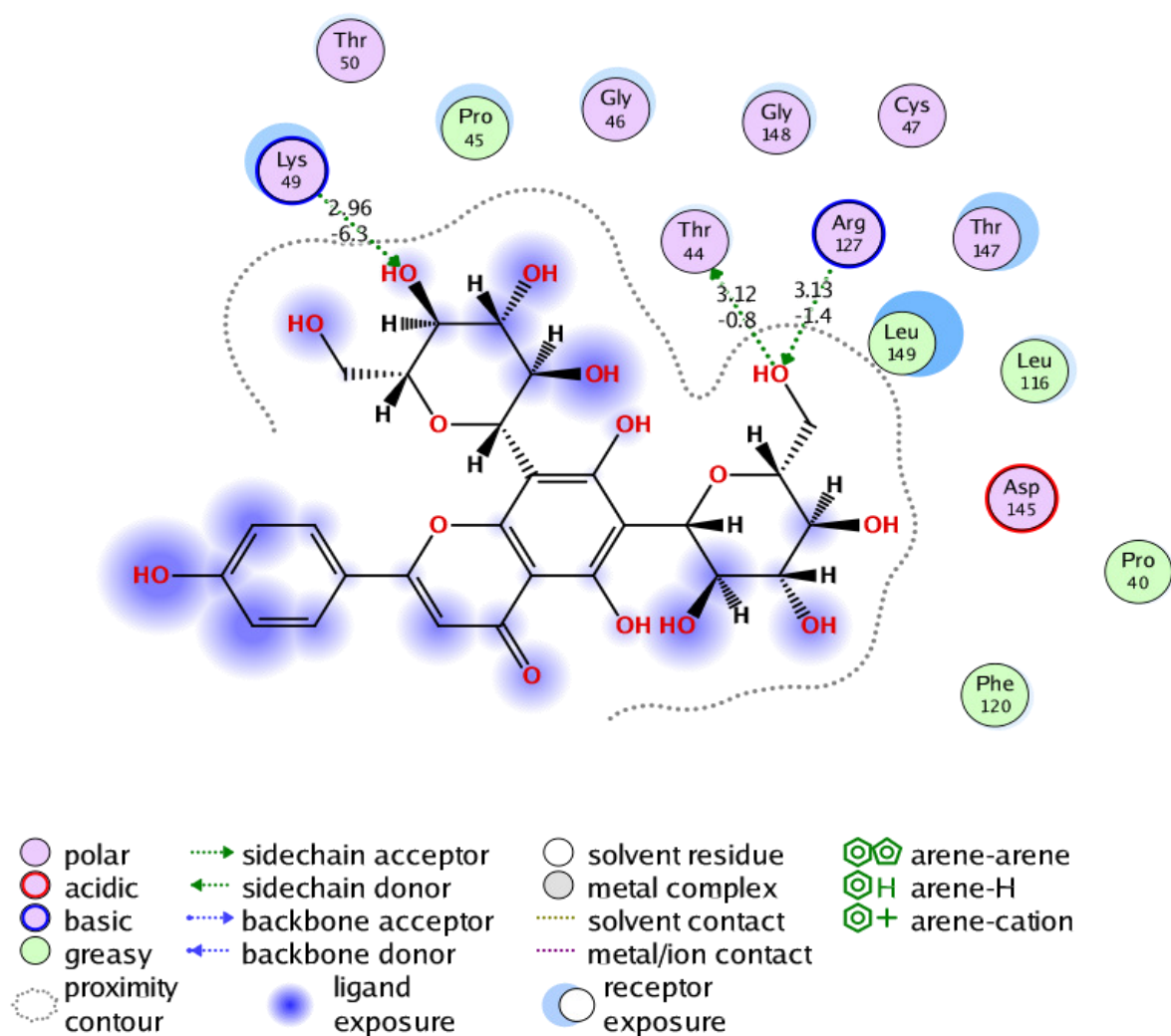


Figure 24:diagrammes des interactions du vecenin-2/Peroxyrédoxine.

Comme la montre la **figure 24**, ces liaisons sont constatées entre deux groupements hydroxyles du vecenin-2 (O13 et O7) et trois résidus : THR44, LYS49 et ARG127. De plus, de nombreuses interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe vecenin-2-Peroxyrédoxine. Ces interactions font intervenir les résidus Pro45, Leu116, Phe120, Pro40 et Leu149 du site actif de l'enzyme.

Le troisième meilleur inhibiteur de cette protéine est l'isoschaftoside avec un score de -6.1990 Kcal/mol (**figure 25**)

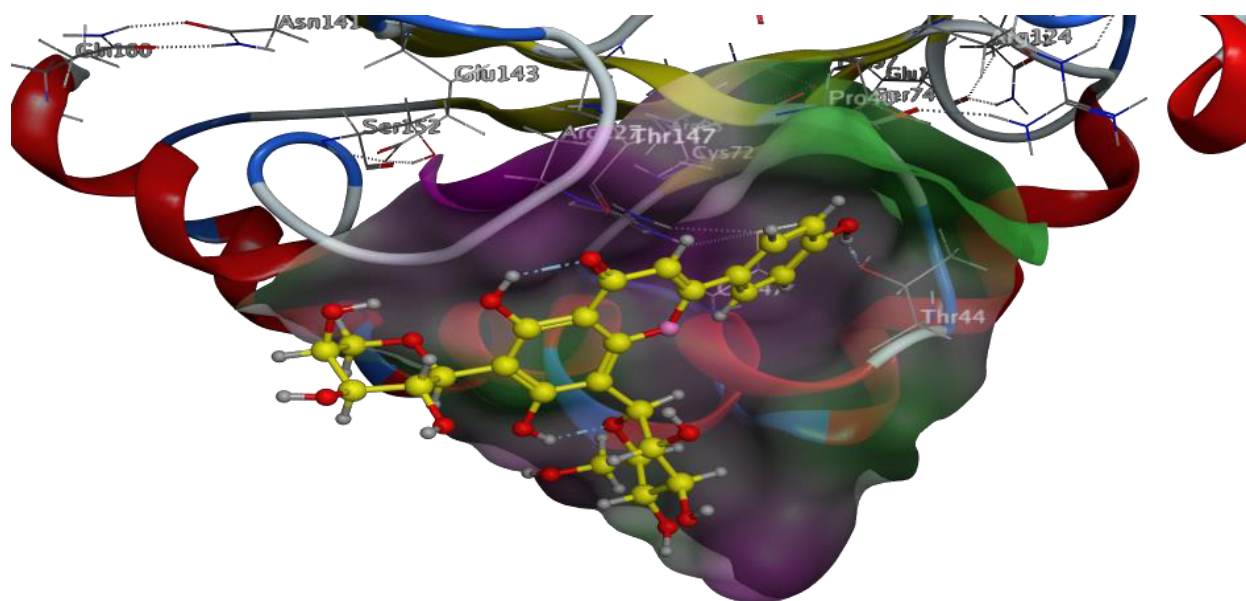


Figure 25:L'emplacement de l'isoschaftoside dans le site actif de la Peroxyrédoxine.

Deux liaisons hydrogènes contribuent à la stabilité de ce ligand dans le site actif de protéine (3MGN), qui ont été formées avec les résidus THR44 et LYS49 avec une longueur de 2.91 Å et 2.89 Å qui produit une énergie égale à -2,0 Kcal/mol et -1,0 Kcal/mol respectivement (**Tableau 11 et figure 26**). Les interactions hydrophobes sont formées avec LEU349, PHE120 et PRO20 (**figure 26**)

Tableau 11 :Résultats dudocking moléculaire de l'isoschaftoside sur Peroxyrédoxine (3MNG).

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	Energie (Kcal/mol)
O14	THR44	HD	2,91	-2,0
O5	LYS49	HA	2,89	-1,0

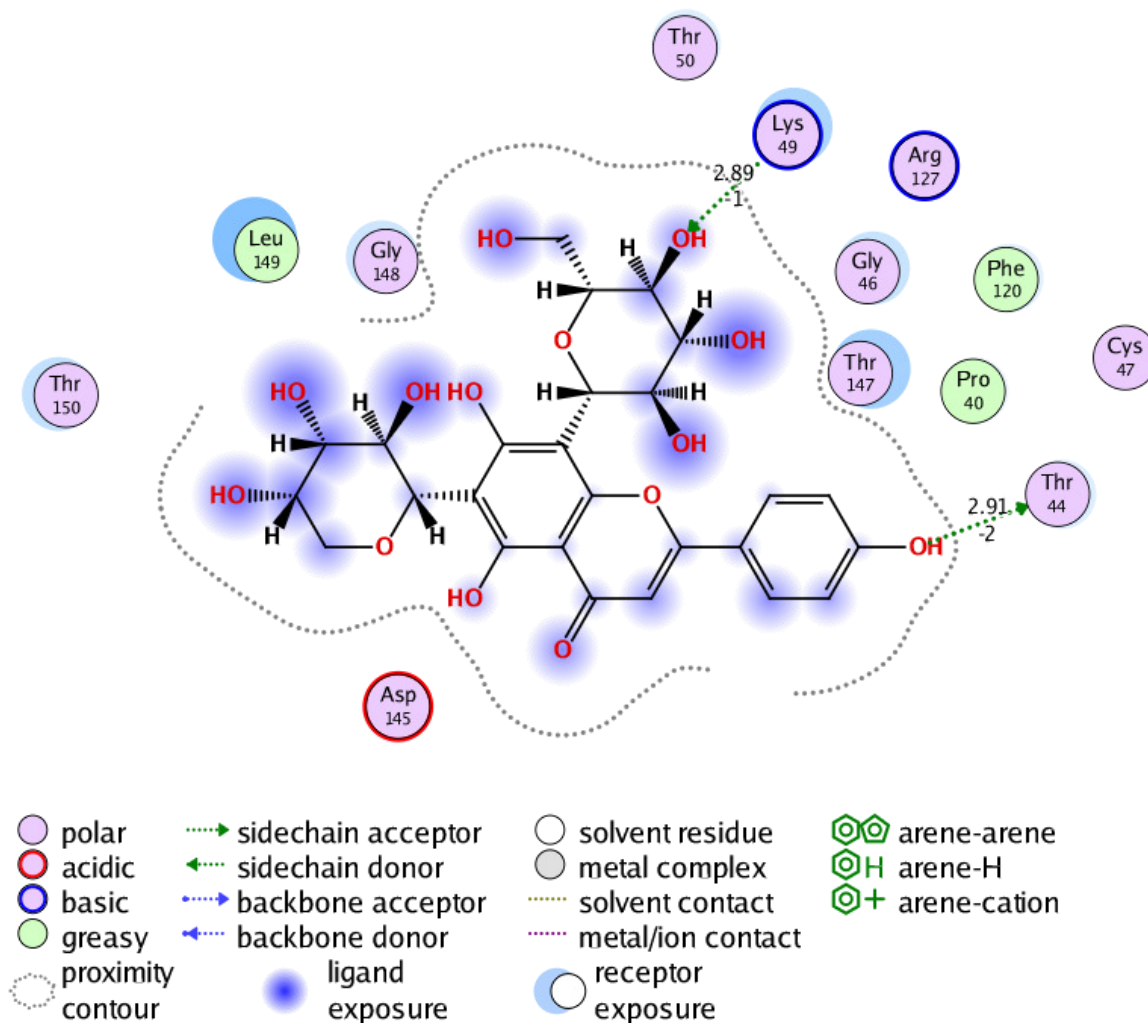


Figure 26:diagrammes des interactions de l'isoschaftoside/Peroxyrédoxine.

Le pouvoir inhibiteur des constituants testés pourrait être justifié par leurs structures. Les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, à la fin de la réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (Achat, 2013).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

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

Un intérêt croissant est accordé aux antioxydants naturels d'origine végétale en raison de leurs capacités biologiques prometteuses pour protéger le corps humain contre les effets néfastes des radicaux libres, pour retarder la progression de plusieurs maladies chroniques et éviter le rancissement des aliments par l'oxydation des lipides. L'évaluation des propriétés antioxydantes des composés naturels est très importante en vue de leurs utilisations en médecine, dans les secteurs alimentaires et en cosmétiques.

Le présent travail a pour l'objectif d'effectuer une optimisation par surfaces de réponses d'évaluer l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia herba alba*, plante algérienne utilisée en médecine traditionnelle et appartenant à la famille Astéracée.

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* a été évaluée par deux méthodes: La méthode virtuelle « in-silico » par le Docking moléculaire qui nous permet de prédire la structure d'un complexe moléculaire composé des principes actifs (ex. les constituants des extraits de l'armoise blanche), qui interagissent avec une cible protéique, afin de montrer le mécanisme par lequel cette protéine est impliquée.

Le docking moléculaire des constituants de l'extrait d'*Artemisia herba alba* sur la protéine Peroxyrédoxine nous a permis d'obtenir des résultats très intéressants, en effet, tous les composés testés ont montré une très bonne affinité vis-à-vis de la protéine cible, et ils se sont donc montrés de bons inhibiteurs. Parmi les composés testés, la Quercetin 3-rutinoside, le vecenin-2 et l'isoschaftoside se sont révélés les trois meilleurs inhibiteurs de cette protéine. Les complexes

Conclusion

formés entre ces composés et la Peroxyrédoxine sont stabilisés essentiellement par des liaisons hydrogènes.

Des études futures restent nécessaires afin de pouvoir déchiffrer et bénéficier de toutes les vertus et les qualités que représentent les plantes médicinales steppiques, et plus particulièrement celles utilisées dans notre médecine traditionnelle à travers des générations dont la fameuse armoise blanche.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Achat , S.** (2013). Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques . Thèse de Doctorat. Université d'Avignon, France.
- **Abu-Darwish , C ., Cabral , M.J ., Gonçalves, C ., Cavaleiro, M.T., Cruz, T ., Efferth, L ., et Salgueiro .** (2015) . Journal of ethnopharmacology . 174, 153-160.
- **Ayad , N .** (2008) . Etude ecophytochimique et apport nutritionnel de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba Asso*) du sud Oranais dans l'alimentation du cheptel. Thèse de Doctorat d'état. Faculté des sciences. Université de Sidi-Bel-Abbès , Algérie .
- **Ayad , N., Djennane , A ., Ayache , H ., et Hellal , B.** (2013) . Contribution à l'étude de l'implantation de l'armoise blanche « *Artémisia herba alba Asso* » dans la steppe du sud de Tlemcen. Revue Ecologie- Environnement .
- **Ahmed , A ., Abou-El-Ela , M ., Jakupovic , J., Seif-El Din , A ., and Sabri, N.** (1990). Phytochemistry , Eudesmanolides and other constituents from *Artemisia herba-alba* 29(11), 3661-3663.
- **Arrault , Alban (2007)** . Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Autre. Université d'Orléans,. Français. fftel-00275585ff

B

- **Berman, H.M ., Westbrook , J ., Feng, Z ., Gilliland, G ., Bhat, T. N ., Weissig, H ., & Bourne, P. E .** (2000). The protein data bank. Nucleic acids research, 28(1), 235-242.
- **Benariba Nabila ., RabeH Djaziri ., Wafaa Bellakhdar ., Nacera Belkacem., Marcel Kadiata ., Willy J Malaisse ., Abdullah .** (2013) . Sener Asian Pacific journal of tropical biomedicine 3 (1), 35-40 , Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts .

Références bibliographiques

- **Benmeziane, F., Djamai, R ., Cadot , Y., & Seridi, R.** (2014). Optimization of extraction parameters of phenolic compounds from Algerian fresh table grapes,(*Vitis Vinifera*). International Food Research Journal, 21(3).
- **Bruyne, T., Pieters, L ., Deelstra, H ., et Vlietink, A .** (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. Biochemical Systematic and Ecology. 27: 445-459.
- **Boriky, D., Berrada, M ., Talbi, M ., Keravis, G ., and Rouessac, F.**(1996), Phytochemistry Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba* . 43(1), 309.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie : Phytochimie Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 3ème Ed, Lavoisier, Paris. 107- 394 .
- **Bouraoui, N ., Lafi , B.** (2003). Plantes médicinales dans les traitements traditionnels (fréquence d'utilisation, formes de préparation et pathologies traitées). Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, Ecole supérieure des sciences et techniques de la santé, Tunis.
- **Baba Aissa , F.** (2000) . Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba 368 p.
- **Bouzidi , N.** (2016) . Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* » Université Mustapha Stambouli de Mascara. Botineau M. . Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Tec&Doc Lavoisier .
- **Bencheqroun , H.K ., Ghanmi, M ., Satrani , B ., Aafi, A ., et Chaouch , A.** (2012). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 81 : 4-21.

Références bibliographiques

- **Bruneton, J.**(1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- **Bouldjadj , R.** (2009) . Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia herba alba Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de magister. Université Mentouri , Constantine.
- **Bendahou , M.** (2007). Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de doctorat d'état en biochimie, Univ. Tlemcen, 282 p.
- **Brown, S.R.** (1980). Political subjectivity : Applications of methodology in political science. New Haven, CT: Yale University Press.
- **Bouraoui , N., Lafi , B.** (2003). Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, Tunis.
- **Ben Hammou , N.** (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Univ. AboubakrBelkaïd-Tlemcen , Algérie.

C

- **Cowan , M . M .** (1999) . plant Product as antimicrobialagents ,clinical microbiologie review 12(4) :564-582.

D

- **Derbel , S ., &Ghedira , K .** (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. Phytothérapie, 3(1), 28-34.
- **Dekkiche, Zakia .** (2018) . Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique

Références bibliographiques

impliquée dans les pathologies du sang . Mémoire de master . Université Frères Mentouri , Constantine1.

E

- **Elkouli , Mouhamed.** (2013). Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) comparée à l'unité fourragère de l'orge.

F

- **Friedman, J ., Yaniz , Z ., Dagni , A ., Pale , D .** (1986). with a preliminary classification of the healing potential and medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the negev desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.* Jun; 16 (2-3): 275-87 .
- **Fortune Brad ., Lin Wang ., Grant Cull ., Jin Dong ., George A.** (2006). *Cioffi Archives of Ophthalmology* 124 (5), 717-724, Objective To assess endothelin B receptor (ETbR) expression in human glaucomatous optic nerves and the spatial relationship between ETbR and astrocytes.

G

- **Gabb, H.A ., Jackson, R.M ., & Sternberg , M. J.** (1997). Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of molecularbiology*, 272(1), 106-120.
- **Grosdidier, A .** (2007) . Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier, France.. 90 p.
- **Goris, A .** (1967) . Manuel de botanique, édition Vigot Frères,
- **Goupy, Jacques .** (2006) . Lee Creighton «Introduction aux Plans d'expériences» 3ème Ed. Dunod, Paris. 324 pages.

Références bibliographiques

- **George, J ., Stuart Hunter ., William Gordon ., Hunter ., Roma Bins ., Kay Kirlin., Destiny Carroll Wiley.** (2005) . Statistics for experimenters: design, innovation, and discovery .for experimenters: design, innovation, and discovery

H

- **Hez ., Xia , W ., et Chen, J.** (2008). Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology.* 226: 1191-1196.
- **Hall, A ., Parsonage , D ., Poole , L . B ., &Karplus , P. A.** (2010). Structural evidence that peroxiredoxin catalytic power is based on transition-state stabilization. *Journal of molecularbiology,* 402(1), 194-209.
- **Harborne, J.B ., Williams, C . A.** (2000). advances in flavonoid research since. *Phytochemistry.*55, 481-504.
- **Heller, Joseph .** (1993) . Hermaphroditism in mollusks.,*Biological Journal of the Linnean Society* 48 (1), 19-42.

K

- **Kaouane , amina .** (2017) . .mémoir Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'Armoise blanche (*Artemesia herba alba*), Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques ,Département de Biochimie-Microbiologie .

L

- **Lim, D.W., Kim, Y.T., Jang, Y.J., Kim, Y.E ., et Han, D.** (2013) .Anti-obesity effect of *Artemisia capillaris* extracts in high-fat diet-induced obese rats. *Molecules.*;18:9241–9252. doi: 10.3390/molecules18089241.
- **Liu, N.Q ., Vander Kooy , F., Verpoorte , R.** (2009). *Artemisia afra*, A potential flagship for African medicinal plants? *S Afr J Bot,* 75, 185–195.

Références bibliographiques

M

- **Messai, L.** (2011) . Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (ARTEMISIA HERBA ALBA).Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- **Moon , J. K ., Shibamoto ,T .** (2009) . Antioxidant assays for plant and food components. J Agr Food Chem 57: 1655–66 .
- **Mohamed, A ., Magdi , H ., El-Sayed, A ., Hegazy, M.E ., Helaly , 1.S ., Esmail, A., et Mohamed, N.S.** (2010) . Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herba-alba. Rec. Nat. Prod. 4:11-25.
- **Mokrani, E.H .** (2012) . Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 75p.
- **Mounir,Tilaoui ., Hassan, Ait Mouse ., Abdeslam, Jaafari. and Abdelmajid,Zyad.** (2015). Comparative Phytochemical Analysis of Essential Oils from Different Biological Parts of Artemisia herba Alba and Their Cytotoxic Effect on Cancer Cells. PLoS One. 2015; 10(7): e 0131799.
- **Maurice, N .** (1997) . L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
- **Mouffouk, C., Mouffouk, S., Oulmi, K., Mouffouk, S., &Haba, H.**(2020). In vitro photoprotective, hemostatic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the species *Linariascariosa* Desf. South African Journal of Botany, 130, 383-388.
- **Maheux, E.** (2013). Caractérisation et étude de la régulation d'une isoformecytosolique de peroxyrédoxine chez les solanacées. Université de Montréal.
- **Marco, J., A.** (1989) . Phytochemistry, 28(11), 3121-3126.

Références bibliographiques

- **Marco, J. A ., Sanz-Cervera, J. F., Roperro, F. J., Batlle, N., Guara, M ., and Valles-Xirau, J.** (1998). *Phytochemistry* 47(7), 1417.

N

- **Nazck, M., et Shahidi , F.** (2004) . Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography A*, Vol. 1054, pp 95-111,

O

- **Ozenda , P.** (1983) . Flore du sahara. Edition CNRS. 2e édition. p416-442

P

- **Pourrat, Y .** (1974) .Propriétés éco-physiologiques associées à l'adaptation d'artémisia herba alba, plante d'intérêt pastoral au milieu désertique, thèse du 3ème cycle à l'université de Paris,
- **Pottier, G .** (1981) . Artémisia herba alba Flore de Tunisie: angiospermes dicotylédones gamopétales, 1012p
- **Pouget, M.** (1980) . Les relations sols végétations dans les steppes sud Algéroises. Thèse Doc. Es sciences, Université Aix-Marseille, 555 p
- **Pincemail, J., & Defraigne, J. O.** (2004). Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium «antioxydant et alimentation» institut Danone.

Q

- **Quzel , P., Santa, S.** (1962) .Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales.Ed. C.N.R.S, Paris. 1165p
- **Quezel, P., et Santa , S .** (1963) .Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. C.N.R.S. Ed., France

Références bibliographiques

- **Quezel, p ., barbero , m ., et akman , y. (1978) .** - Interprétation phytosociologique des groupements forestiers dans le bassin méditerranéen oriental. Doc. Phytosoc. Lille, II 329-352.

R

- **Ribnicky , D.M ., Poulev , A ., O'Neal , J ., Wnorowski , G., Malek , D.E ., Jager, R ., and Raskin , I . (2004).** Toxicological evaluation of the ethanolic extract of *Artemisia dracunculus* L. for use as a dietary supplement and in functional foods. Food and Chemical Toxicology 42 : 585-598.
- **Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon,P. Imprinta: Dunod, Paris. 254 p
- **Richter , G. (1993).** Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.

S

- **Akroum , souad . (2008).** Inhibition de quelques bactéries pathogènes par les extractionethanoliques de *rosmarinusofficinalis*. Université mentouri. Université Mentouri, Constantine. Département de Biologie Animale. Faculté de Biologie.
- **Saleh , N., El-Nougoum, Y. S ., Abd-Allah, M ., Abou-Zaid , M ., Dellmonica, G ., Chopin , J. (1985) .** Phytochemistry. 24(01): 201 203.
- **Segal, R ., Feurstein , I ., Danin , A . (1997).** Chemotypes of *artemisiaherbaalbain* Israel Based on their sesquiterpene lactone and essential oil constitution. BiochemicalSystematics and Ecology.1987; 15,(4), 411-416.
- **Squires , J.M ., Ferreira , J.F.S ., Lindsay, D.S., Zajac, A.M. (2011).** Effects of artemisinin and *Artemisia* extracts on *Haemonchuscontortus* in gerbils (*Merionesunguiculatus*). Vet Parasitol 175(1-2):103-108.

Références bibliographiques

- Shen , X.L ., Nielsen, M ., Witt , M.R ., Sterner, O ., Bergendorff , O ., Khayyal , M., Zhongguo ., Yao , Li XueBao . (1994). Inhibition of [methyl-3H] diazepam binding to rat brain membranes in vitro by dinatin and skrofulein .Sep, 15(5):385-8.
- Saleh, N., El-Nougoumy, S., Abd-Allah, M ., Abou-Zaid , M ., Dellmonica, G., Chopin , J. (1985) . Phytochemistry 24(01): 201 203.
- Sudhamani, H., Syam Prasad, G., Venkataramaiah, C., Raju, C. N., & Rajendra, W. (2019).In silico and in vitro antioxidant activity profiles of urea and thiourea derivatives of 5-hydroxytryptophan. Journal of Receptors and Signal Transduction, 39(4), 373-381.

T

- Tessier, F., &Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & sports, 10(1), 1-13

U

- Uttara, B ., Singh, A.V., Zamboni, P., et al. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downs- tream antioxidant therapeutic options. CurrNeuropharmacol 7: 65–74 .

Z

- Zohary, M.,(1962) . Plant life of Pas- 1estine and Jordan, New-York, Ronald Press.

Site web:

Centre national de la recherche scientifique. PubChem. [En ligne].

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource. [En ligne]

<http://www.pdb.org/pdb/home>.

- PhytoChemical Interactions DataBase Plants (*PCIDB*) [En ligne]

https://www.genome.jp/db/pcidb/ kna_species /10986