



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Domaine : Science de la nature et de la vie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**Etude de l'activité antioxydante de l'espèce
Artimisia campestris de la région désertique méridional
(Tassili /Hoggar)**

Soutenu par : BOUDJELAL Kamel

ZERZAIHI Oussama Aimen

Le : 25/07/2019

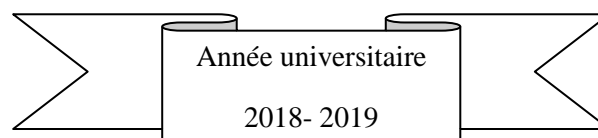
Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr KITOUNI R. (M.C.B - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mr. KASHI I. (Attaché de recherche-C.R.Bt. Constantine).

Co-Rapporteur : Mr. RAHMANI A. (Attaché de recherche-C.R.Bt. Constantine).

Examineur : Dr BENSOUICI C. (M.R.B -C.R.Bt. Constantine).



Remerciement

*Avant tout, nous remercions « ALLAH », le tout puissant de nous avoir donné la santé,
la force, le courage, la patience l'achèvement de cette mémoire.*

*Nous exprimons nos sincères remerciement a nos parents pour leur contribution pour chaque
travail que nous avons effectué.*

*QUE Mr Kashi Imed notre encadreur et Mr RAHMANI Abd el Rahman notre
co-encadreur veillent trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour avoir accepter de
diriger notre travail et pour tous leur conseils qui ont contribués a l'élaboration de ce projet.*

*Nous remercions vivement Dr Bensouici Chawki responsable de laboratoire de biochimie au
centre de Recherche en Biotechnologie, de nous avoir accueilli et aussi les facilités et les aides
qu'il nous a accordées durant la période de notre travail et pour son enthousiasme et son art
de simplicité.*

*Nous tenons a remercier vivement aussi Madame Guergouri Mounia pour son aide précieuse
qui nous a mis sur le bon chemin.*

*Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement aux membres de jury
Dr Bencouicis Chawki et Dr Kitouni Rachid pour leur présence et d'avoir sacrifier leur
temps pour juger ce travail.*

*Sans oublier de remercier tous les enseignants du Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie et spécialement tous les enseignants de département
de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.*

*Enfin nous remercions également tous ceux qui nous ont soutenus, encouragé et aidés au
cours de la réalisation de ce mémoire.*

Merci à tous et toutes

Dédicaces

Je dédie ce travail

À mes chers parents, mon père Ahmed et ma mère Rabia,

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement tout

au long de ma vie.

À mes frères.

À mes sœurs.

À mes neveux : Abdelraouf , raid , amjad , ayham , jasser , racim et anes

À mes nièces : hiba, baylassane et sadjida.

À toute ma famille BOUDJELAL de près ou de loin.

À mon binôme OUSSAMA qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce

travail et à sa famille.

À tous mes amis.

À La promotion de master 2 biochimie appliquée.

Et à tous ceux qui me connaissent

KAMEL

Dédicaces

*Avant tout je dédis ce mémoire de fin d'étude à vous mes parents,
Merci de m'avoir soutenus stout le long de ce grand chemin ; ce dédicace est un témoignage
de reconnaissance pour tout ce que vous avez sacrifiés pour moi, pour votre patience sans
limite et pour l'éducation que vous m'avez donné en faisant de moi un homme responsable
qui a abouti à l'accomplissement de ce travail.*

A mon frère et ma sœur, je vous remercie pour votre soutien moral le plus absolu.

*Je dédis aussi projet au membres de ma famille chacun à son Nom (mes oncles, mes tantes...)
merci de votre conseil qui m'a donné beaucoup de courage pour affronté tout les obstacles
qu'on a rencontré durent notre parcours.*

*A mon collègue KAMEL qui a partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce
travail.*

Enfin sans oublier de dédier ce mémoire à tous mes amis et surtout ABDELKARIM.

OUSSAMA

Sommaire

Introduction :.....	1
---------------------	---

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Etude botanique

I. Etude botanique	2
I.1. Présentation de la plante	2
I.2. Systématique de la plante.....	2
I.3. Description botanique	3
I.4. Origine et répartition géographique	4
I.5. Caractérisation chimique	4
I.6. Utilisation pharmaceutique et traditionnel	7
I.7. Activités biologique.....	7
I.7.1. Activité antioxydante.....	7
I.7.2. Activité antibactérienne	8
I.7.3. Activité hypoglycémiant	8
I.7.4. Effets antipoison.....	8
I.7.4. Effet antihypertenseur.....	9
I.8. Toxicité.....	9

Chapitre II : Métabolites secondaires

I. Les métabolites secondaires	10
I.1. Les composés polyphénoliques	10
I.1.1. Structure chimique	10
I. 1.2. Classification des polyphénols	11
I.2. Les flavonoïdes	12
I.2.1. Structure chimique	12
I.2.2. Classification des flavonoïdes	13
I.3 Les isoprénoïdes ou terpénoïdes	13
I.3.1. La Classification des composés terpéniques.....	14
I.4. Les tanins.....	15

Chapitre III : Stress oxydant

I. Stress oxydatif	17
--------------------------	----

II. Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	17
III. Les principales ERO.....	18
III.1. Les ERO radicalaires	18
III.1.1. Le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$	18
III.1.2. Le radical hydroxyle OH^{\cdot}	18
III.1.3. Les radicaux alkyles R^{\cdot} et peroxydes ROO^{\cdot}	19
III.2. Les ERO non radicalaires	19
III.2.1. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	19
IV. Origine du stress oxydant.....	19
V. Les conséquences du stress oxydant	20
VI. Antioxydants et systèmes de défense	20
VI.1. Antioxydants endogènes	20
VI.2. Antioxydants exogènes	21
VI.2. 1. Les polyphénols	21
VI.2. 2. Les vitamines	22
VI.2. 3. Les oligoéléments	22
VI.2. 4. Les caroténoïdes	22

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I. Matériel.....	24
I.1. Récolte et traitement de la plante.....	24
I.2. Réactifs chimiques et solvants	24
I.2.1. Réactifs.....	24
I.2.2. Les solvants.....	24
I.3. Matériel utilisé	25
I.3.1. Liste d'appareils utilisés.....	25
I.3.2. Verreries utilisées et autres	26
II. Méthodes	26
II.1. Broyage.....	26
II.2. Extraction par les solvants	26
<i>Calcul du rendement</i>	28
III. Protocoles	28
III.1. Dosage des Flavonoïde et des polyphénols	28

III.1.1. Flavonoïdes totaux.....	28
III.1.2. Contenu phénolique total.....	30
III.2. Les activités antioxydantes	31
III.2.1. Le piégeage du radical libre DPPH.....	31
III.2.2. L'activité de la réduction du radical-cation ABTS.....	32
III.2.3. La réduction du radical Galvinoxyl (GOR)	32
III.2.4. Pouvoir réducteur FRAP	33
III.2.5. L'activité phénanthroline.....	33
III.2.6. CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity).....	34

Chapitre II : Résultats et discussion

I.1. Rendements des extraits.....	35
II. Teneur en flavonoïdes et en polyphénols.....	35
II.1. Teneur des extraits en polyphénols.....	35
II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes.....	37
III. Les activités antioxydantes	38
III.1. Détermination des CI_{50} des extraits	38
III.1.1. Le piégeage du radical libre DPPH.....	42
III.1.2. Réduction du radical-cation ABTS	43
III.1.3. La réduction du radical Galvinoxyl (GOR)	44
III.2. Détermination des $A_{0.5}$ des extraits et des standards.....	45
III. 2.1. Le pouvoir réducteur FRAP	45
III.2.2. Le test phénanthroline.....	46
III.2.3. Le test CUPRAC	47
Conclusion.....	49

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

% d'inhibition : pourcentage d'inhibition.

FCR : réactif FolinCiocalteu

°C : degré Celsius

A : Absorption.

Ac : Absorbance contrôle.

AE : Absorbance extrait.

S : $AE - A C$.

P : $(S - b) / a$.

ABTS : 2,2'- azino-bis (3 éthylbenzothiazoline -6- sulfonique Acide).

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

BHT : Butyl Hydroxy Toluene

CUPRAC : cupric ion reducing antioxidant capacity

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl.

EAC : Extrait d'acétate d'éthyle

EBU : Extrait butanolique

EDI : Extrait dichlorométhanique

EME : Extrait méthanolique.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

ET : Ecart type.

G : Gramme.

GOR : Galvinoxyl radical

CI₅₀ : Concentration inhibitrice a 50%.

MeOH : Méthanol

ml : Millilitre

NC : Néocuproéne

Nm : Nanomètre

PE : Poids de l'extrait

PMV : poids de matière végétale

R : Rendement

SOD : Superoxyde dismutase

NT : Non testé

µg : Microgramme

µg EAG/Mg d'extrait : Microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait.

µg EQ/Mg d'extrait : Microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait.

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
1	Image de la plante <i>Artemisia campestris</i>	3
2	Image d' <i>Artemisia campestris</i> , et Dessins d' <i>Artemisia campestris</i> .	3
3	Structure des Flavonoïdes potentiellement impliqués dans les effets biologiques d' <i>Artemisia campestris</i>	5
4	Structure des Monoterpènes (et leurs types squelettiques), et sesquiterpènes, potentiellement impliqués dans les effets biologiques d' <i>Artemisia campestris</i>	6
5	Structure générale du phénol	10
6	Les six grandes classes des flavonoïdes	12
7	Structure de base des tanins	16
8	Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols)	23
9	Appareils utilisés dans la réalisation du protocole expérimental.	25
10	Protocole des différentes étapes de l'extraction liquide-liquide.	27
11	Protocole d'étude des activités biologiques	28
12	Courbe d'étalonnage d'Acide Gallique (Moyenne \pm ET de trois essais).	36
13	Courbe d'étalonnage de la gamme quercitrine (Moyenne \pm ET de trois essais).	37
14	Méthode graphique pour calculer le CI_{50} des trois essais d'extrait dichlorométhane	41
15	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).	42
16	Histogramme de la CI_{50} des extraits et standards par le test DPPH.	43
17	Histogramme de la CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test ABTS	44
18	Histogramme de la CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test GOR	45

19	Histogramme des $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenus par le test du pouvoir réducteur FRAP.	46
20	Histogramme des $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenues avec le test phénanthroline	47
21	Histogramme d' $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenues avec le test CUPRAC	48
22	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS)	57
23	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (GOR)	58
24	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire du test FRAP	59
25	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire du test phenanthroline	60
26	Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire du test CUPRAC	61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
1	Classification botanique de la plante <i>Artemisia campestris</i> .	2
2	Classification des polyphénols	11
3	les six grandes classes des flavonoïdes	13
4	Classification des composés terpéniques	14
5	Réactifs utilisés	24
6	Solvants utilisés et leurs formules	24
7	Différentes Verreries utilisées et autres	26
8	Poids et rendement de chaque extrait.	35
9	Absorbances des extraits et du contrôle	36
10	Moyennes des teneurs en polyphénols	36
11	Moyennes des teneurs en flavonoïdes et l'écart type des quatre extraits	37
12	Absorbances des quatre extraits au test DPPH	39
13	Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait dichlorométhane.	39
14	CI ₅₀ des trois essais et leur moyenne au test DPPH	40
15	Pourcentage d'inhibition et la CI ₅₀ du test DPPH	42
16	Absorbance de la gamme d'acide gallique	56
17	Absorbance de la gamme de la quercétine	56
18	Pourcentage d'inhibition et la CI ₅₀ pour l'ABTS	57
19	Pourcentage d'inhibition et la CI ₅₀ pour le test GOR.	58
20	Pourcentage d'inhibition et l A _{0,5} pour le test pouvoir réducteur FRAP	59
21	Pourcentage d'inhibition et l' A _{0,5} pour le test phénanthroline	60
22	Pourcentage d'inhibition et l' A _{0,5} pour le test CUPRAC	61

INTRODUCTION
GENERALE

Introduction :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant ». Il est défini par Halliwell et Gutteridge (1985) comme l'incapacité, pour un organe ou des cellules, de se défendre contre l'agression des radicaux libres générés par les dérivés de l'oxygène (Tessier et Marconnet, 1995). Le stress oxydant traduit un déséquilibre entre les espèces réactives à l'oxygène et d'autres radicaux libres, et les lignes de défense endogènes et exogènes, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier, 2003).

Actuellement, les plantes médicinales ont montrées une efficacité considérable dans le traitement de nombreuses maladies humaines, en raison de leurs faibles effets secondaires, contrairement aux antioxydants synthétiques comme le BHT (Butyl Hydroxy Toluene) et le BHA (Butyl Hydroxy Anisole) qui peuvent être toxiques et carcinogènes. De nouvelles recherches sont donc menées afin de découvrir de nouveaux antioxydants d'origine naturelle (Amarti *et al.*, 2011). Parmi ces plantes médicinales on trouve l'*Artemisia campestris* ("Tgouft"), l'espèce parmi les 11 espèces d'*Artémisia* spontanées enregistrées en Algérie (Quezel et Santa, 1962). Cette plante est connue par sa vaste utilisation dans la médecine traditionnelle locale. Son effet est dû à sa richesse en divers métabolites secondaires présentant un grand intérêt biologique tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, et les terpènes ainsi que les stérols (Moussaoui, 2010).

C'est pour cela que nous nous sommes intéressées à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et la quantification des teneurs en composés phénoliques des extraits de la partie aérienne de la plante *Artemisia campestris* qui a été récoltée de la région de l'Hoggar de la Wilaya de Tamanrasset.

Notre travail est divisé en deux parties :

La première partie présente une recherche bibliographique concernant la plante *Artemisia campestris*, les métabolites secondaires et le stress oxydatif.

La deuxième partie concerne la partie expérimentale dans laquelle nous exposerons les méthodes relatives à nos travaux, les résultats obtenus ainsi que leurs discussion et interprétation. Ceci est suivi par une conclusion générale.

Partie I

Etude bibliographique

Chapitre I

Etude botanique

I. Etude botanique

I.1. Présentation de la plante

L'armoise ou le genre d'*Artemisia* fait partie de la famille des Astéracées (Compositae). C'est un genre hétérogène composé de plus de 400 espèces, réparties dans plusieurs zones à travers le monde (Bencheqroun *et al.*, 2012).

En l'Algérie, ce genre est représenté par 11 espèces parmi lesquelles se trouve l'*Artemisia campestris* (Quezel et Santa, 1962).

I.2. Systématique de la plante

Tableau 1 : Classification botanique de la plante *Artemisia campestris*.

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous famille	<i>Asteroideae</i>
Tribu	<i>Anthemideae</i>
Sous Tribu	<i>Artemisiinae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia campestris</i>

Noms vernaculaires:

En Français: Armoise champêtre, Aurogne des champs.

En Arabe: Allala, Tgouft, Taguq, Degoufet, Tadjouq, Tedjok, Hellala, Tamemmayt, Um nefsa (Gast, 1989 ; Sabeg et Ghouar, 2018 ; Quezel et Santa, 1962).

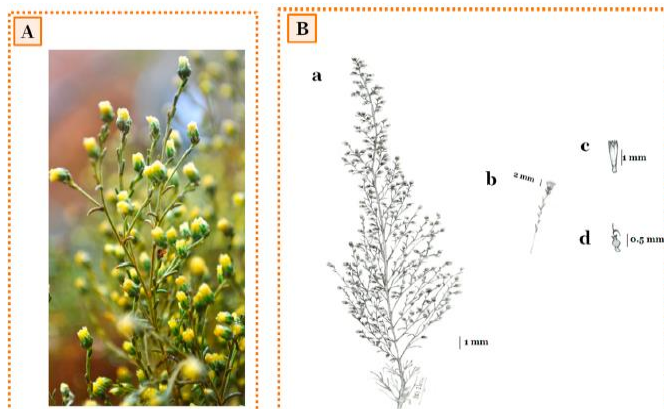
I.3. Description botanique

L'*Artemisia campestris* est une plante aromatique vivace, herbacée, d'une hauteur de 30-150 cm (Quezel et Santa, 1962). Ses tiges sont dressées, rougeâtres, ligneuses à la base striée et très ramifiées. Ses feuilles glabres d'un vert foncé, basales sont 2-3 pinnatiséquées, pétiolées ou même auriculées, les supérieures sont pinnatiséquées sessiles et dressées (Boudjouref, 2011).



Figure 1 : Image de la plante *Artemisia campestris* (Benchelah *et al.*, 2004)

Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux. Elle ne contient que 3 à 8 fleurs étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à périphériques sont femelles, les autres sont mâles. Sa floraison est en Mai à Septembre (Ghrib, 2009).



A : Image d'*Artemisia campestris*.

B : Dessins d'*Artemisia campestris* ;

B-a : Panique inflorescence

B-b : Capitule avec alternance feuilles

B-c : Fleur male, B-d : Fleur femelles.

Figure 2 : Image et Dessins d'*Artemisia campestris*, (Dib et El Alaoui-Faris , 2018).

I.4. Origine et répartition géographique

L'*Artemisia campestris* est originaire de l'Asie. Elle pousse de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya dans l'hémisphère sud. Elle est présente en Afrique du sud, en Australie et en Amérique du sud (Boudjouref, 2011). L'*Artemisia campestris* prédomine dans les régions arides d'Afrique du nord comme le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et la Libye. Elle pousse dans les prairies sèches et riches en bases (Dib *et al.*, 2016).

En Algérie, elle est rare dans la région présaharienne. Elle est absente au Sahara septentrional, rare dans la Tefedest et au Tassili et assez répandue au Hoggar. On la trouve dans les lits pierreux et sablonneux des oueds de montagne et dans les étages Méditerranéens, d'où elle descend assez bas dans l'étage tropical. (Gast, 1989)

I.5. Caractérisation chimique

La plante *Artemisia campestris* contient plusieurs famille de composées chimique dont des saponosides, des tanins, des flavonoïdes et des terpènes ainsi que des stérols (Moussaoui, 2010). Des nombreuse études ont montré que *Artemisia campestris* contenait une grande quantité de flavones, telles que la chrysine, l'apigénine, l'hispiduline, la cirsimaritrine, la linderoflavone B, la ficine, l'isoficine, la lutéoline, l'eupafoline, le cirsilineol, l'eupatorine. D'autre part, la sous-classe des flavonols sont représentée principalement : par le kaempférol et ses dérivés, par la quercétine et ses dérivés et par la myricétine et ses dérivés (Dib *et al.*, 2016).

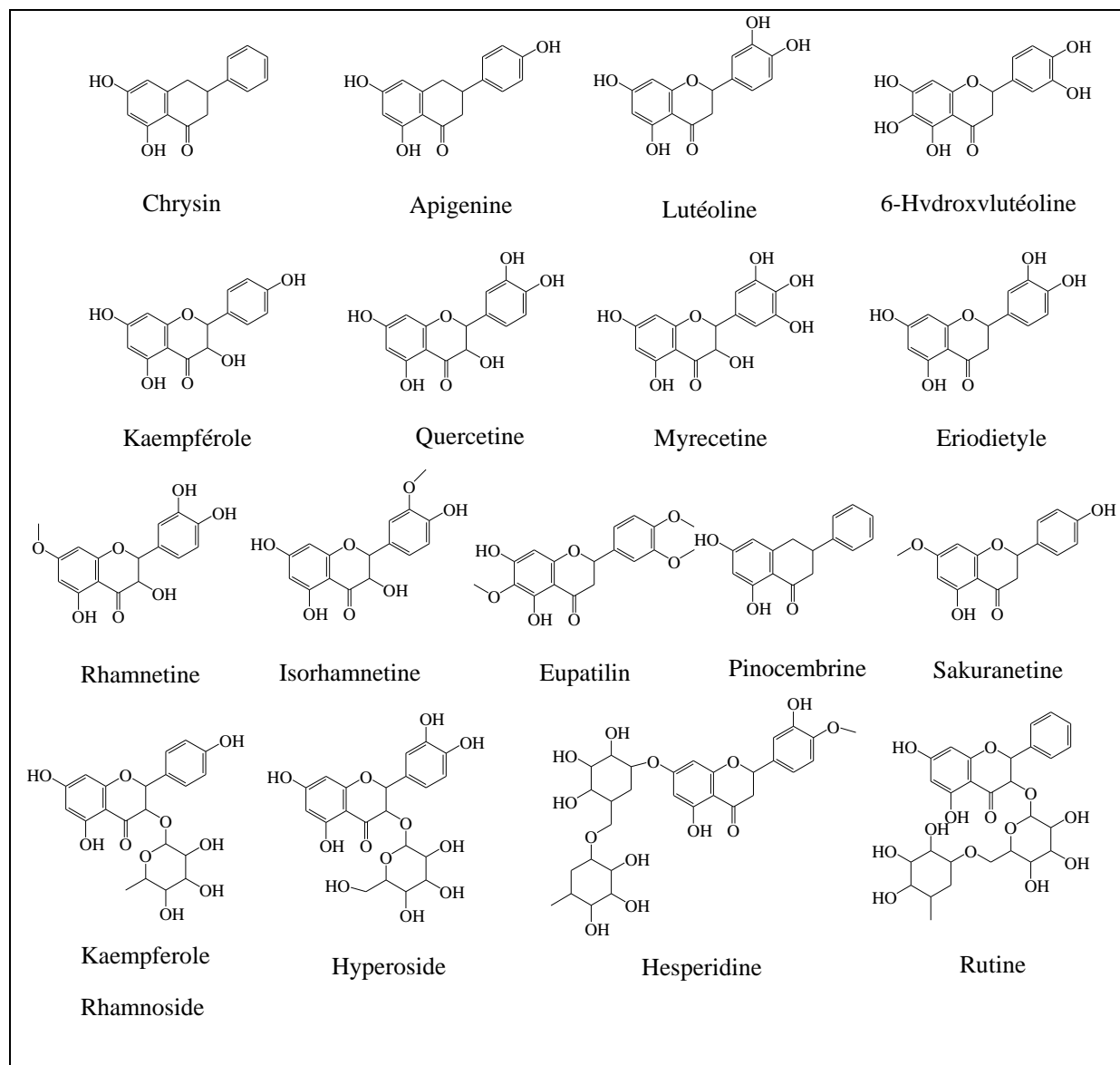


Figure 3: Structure des Flavonoïdes potentiellement impliqués dans les effets biologiques

d'Artemisia campestris (Dib et El Alaoui-Faris , 2018)

Une étude récente a montré que la plante *Artemisia campestris* est riche aussi en composés phénoliques, représentée principalement par l'acide isochlorogénique A, B ou C, l'isomère de l'acide hydroxybenzoïque (2,3dihydroxybenzaldéhyde), l'acide caféique, l'acide méthoxy-cinnamique, l'acide dicaféoylquinique, l'acidesyringique, l'acide férulique et l'acide protocatéchique (Pereira, et *al.*, 2018). Par ailleurs, les huiles essentielles obtenues à partir d'*Artemisia campestris* sont riches en monoterpènes ; leur teneur est estimée à 84,5 jusqu'à 91,7%, alors que la totale des sesquiterpènes est estimée à 5,1 jusqu'à 7,2%.

Les principales composantes d'*Artemisia campestris* ont été identifiées. On en trouve le β -pinène (25,6%), l' α -acétate de terpényle (18,8%), l' α -pinène (18,4%), la sabinène (17%), le (Z, E)-farnésol (10,3%), le camphre (9,2%), le camphène (7,7 %), le limonène (6,6 %), le cédrol (5,4 %), lebornéol (5,2 %), le p-cymène (4,1 %), et le verbenone (3,8 %) (Dib *et al.*, 2016).

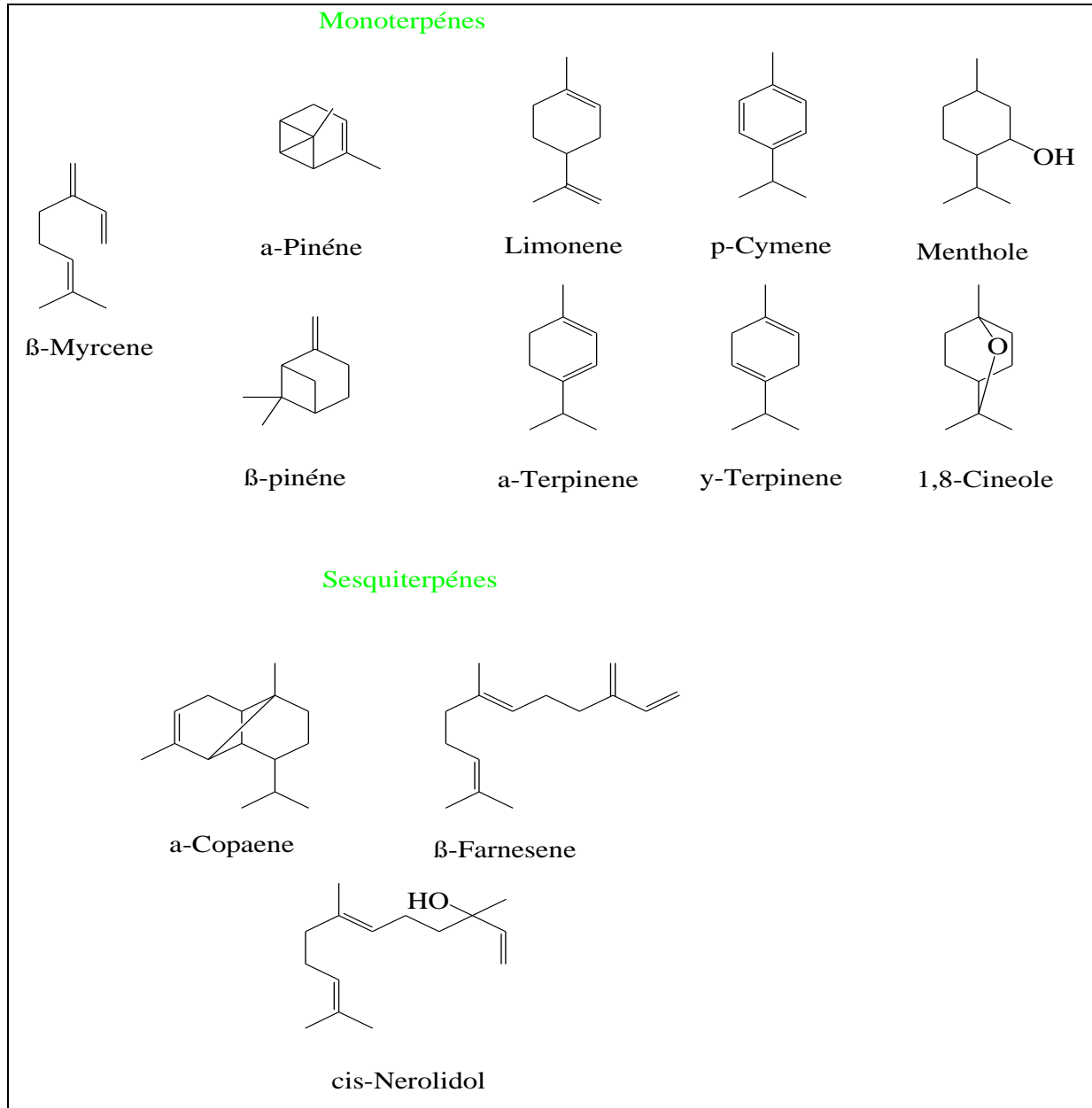


Figure 4 : Structure des Monoterpènes, et sesquiterpènes, d'*Artemisia campestris*

(Dib et El Alaoui-Faris , 2018).

I.6. Utilisation pharmaceutique et traditionnel

Les plantes médicinales dont l'*Artemisia campestris* sont utilisées sous forme de décoction, de poudre, d'infusion, de compresses, de pommade et de macération pour traiter les pathologies digestive, les affections internes, la pathologie broncho-pulmonaire, la pathologie féminine, et les piqûres de scorpion (Bouallala *et al.*, 2014). La consommation de l'*Artemisia campestris* est recommandée comme purificateur et régulateur de la circulation sanguine pour la femme enceinte ou pour celle qui vient d'accoucher. Ses feuilles sont aussi employées comme cataplasme pour cicatrifier les blessures et comme remède contre la rougeole. Cette plante est classée au Sahara central comme remèdes « chauds », pour soulager les douleurs rhumatismales (Gast, 1989).

Selon Saihi, (Saihi , 2011) dans le nord-ouest de l'Italie l'*Artemisia campestris* est utilisée comme un ingrédient important pour la préparation de boissons amères. Elle est aussi utilisée en parfumerie et dans une gamme d'applications alimentaires comme les soupes, les sauces et les salades.

I.7. Activités biologique

I.7.1. Activité antioxydante

Une étude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia campestris* par la méthode DPPH a montré que l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* à une concentration de 62,5 µg/ml ,a inhibé la formation de 28,83 % du DPPH⁻, et donc la CI50, qui est la concentration d'extrait nécessaire pour provoquer une inhibition de 50 % de la concentration initiale de DPPH, était supérieur à 62,5 µg/ml, tandis que la CI50 pour l'échantillon d'acide ascorbique, utilisée comme étalon, était estimé entre 2 et 3,5 µg/ml (Sefi *et al.*, 2013). Une autre étude qui concerne l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* effectuée par trois méthodes différentes, le DPPH, la β-carotène et l'ABTS montre que l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une importante activité antioxydante (Akrouit *et al.*, 2011).

I.7.2. Activité antibactérienne

L'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris* n'exerçait une activité antibactérienne que contre les Gram positifs, sans effet antagoniste sur les espèces bactériennes Gram négatives. Les concentrations minimales inhibitrices contre les espèces *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi*, étaient de 12,5 ; 12,5 ; 250 ; 500 et 250 µg/ml, respectivement. Concernant les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* L. L'activité antibactérienne a été testée contre les espèces *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, et *Staphylococcus aureus*. La meilleure activité antibactérienne a été obtenue contre la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et l'*Escherichia coli* avec des zones d'inhibition de 23 et 20 mm, respectivement (Al-Snafi, 2015).

I.7.3. Activité hypoglycémiant

Des études antérieures ont rapporté l'effet antidiabétique de 200 mg/kg, i.p de l'extrait aqueux, une fois administré aux rats diabétiques induits par l'alloxane. Cet effet a été évalué après 21 jours de traitement par le fabricant il y'a eu une réduction du glucose sérique (147 mg/dl), simultanément une augmentation du taux d'insuline sérique (30%), en plus d'une baisse de 63% du taux de glucose après 2 heures du test de tolérance au glucose. De plus, l'extrait aqueux obtenu à partir des racines et de la décoction d'organes aériens de l'*Artemisia campestris* a présenté une puissante inhibition de glucosidase microbienne, alors que la teinture racinaire a présenté une inhibition de l' α -glucosidase des mammifères (Dib et El Alaoui-Faris , 2018)

I.7.4. Effets antipoison

L'activité anti-venimeuse d'extraits de feuilles d'*Artemisia campestris* contre le scorpion *Androctonus australis garzonii* et les venins de vipère *Macrovipera lebetina* a été examinée. Les tests ont été effectués en fixant la dose d'extrait à 3 mg / souris, alors que les doses de venin étaient variables. Une activité significative sur les venins du scorpion *Androctonus australis garzoni* pour l'extrait éthanolique a été détectée et une activité neutralisante significative de l'extrait de dichlorométhane contre le venin d'une vipère *Macrovipera lebetina* a été obtenue. L'effet de l'extrait aqueux de feuilles sèches d'*Artemisia campestris* sur les variations hémodynamiques induites par le venin

de *Buthus occitanus tunetanus* a été testé chez des rates gravides ou non. Les résultats ont montré que l'ampleur de l'hypertension induite par le venin était beaucoup plus importante chez les rates gravides (maximum de 156% de la valeur de base) que chez celles ayant subi un cycle (maximum de 143,9% de la valeur de base). Une fois injecté seul, l'extrait aqueux de feuilles d'*Artemisia campestris* induisait une diminution progressive significative de la pression artérielle moyenne. Cet effet a complètement aboli le choc hypertensif induit par le venin, lorsque des rats envenimés ont été prétraités avec l'extrait. L'extrait aqueux de feuilles d'*Artemisia campestris* empêché la phase hypertensive induite associée au venin de scorpion, probablement induite par une voie adrénergique (Al-Snafi, 2015).

I.7.4. Effet antihypertenseur

Selon l'essai clinique mené sur 14 adultes fumeurs et non-fumeurs volontaires, la pression diastolique et la fréquence cardiaque ont diminué après 30 à 45 minutes, après la prise de la décoction d'*Artemisia campestris* à 20 mg/ml, sans pour autant affecter la pression artérielle moyenne de ce dernier groupe non hypertendu. Le pourcentage du nombre d'hommes fumeurs qui étaient déjà hypertendus était diminué de 50 à 33%, après une heure de prendre l'extrait bouilli à l'eau (Ben-Nasr *et al.*, 2014).

I.8. Toxicité

Les principales substances toxiques présentes dans la plante *Artemisia campestris* sont les huiles essentielles β -pinène et le géraniol. Elles sont réparties dans toute la plante mais à une concentration plus élevée dans les feuilles et les tiges. Les effets toxiques de l' α -pinène sont similaires à ceux du turpentine qui est un irritant puissant de tous les tissus jusqu'au tractus intestinal et les reins. Pour l'homme, la limite d'exposition au turpentine est de 100 ppm ; Aucun effet cumulatif n'a été enregistré pour le turpentine. Cette intoxication aura lieu lors de l'ingestion de grandes quantités de la plante avec une dose supérieure à 15 g de feuilles (Moussaoui, 2010).

Le test de l'Activité toxique des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* a montré que la létalité (CL50) des larves de crevettes saumâtres était de 15 à 20 μ g/mL. Cette toxicité est due à la présence du caryophyllène et du germacrène (Judzentiene *et al.*, 2010).

Chapitre II

Métabolites secondaires

I. Les métabolites secondaires

Le terme « métabolisme secondaire », qui a été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes (Guillaume, 2008). Ils sont responsables de l'adaptation et de la survie des plantes, en particulier dans des conditions défavorables (Takshak et Agrawal, 2019). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002) Parmi les composés polyphénoliques, on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes et les tanins.

I.1. Les composés polyphénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les feuilles de nombreuses plantes supérieures et dans les fruits (Reitzer *et al.*, 2007). Ce sont des composés chimiques principalement biosynthétisés naturellement par les plantes et les organismes marins dont ils sont généralement extraits. Les polyphénols sont composés de plusieurs unités phénoliques (C_6H_6O). En fonction du nombre et de la structure de liaison des unités phénoliques, les polyphénols sont divisés en quatre groupes principaux, les flavonoïdes, les stilbènes, les lignanes et les acides phénoliques, présentant des propriétés physiques, chimiques et biologiques différentes (Shavandi *et al.*, 2018). Les polyphénols comprennent un large groupe de métabolites secondaires végétaux qui contribuent à la croissance des plantes, à la pigmentation, à la pollinisation et à la résistance aux agents pathogènes, les prédateurs et les stress environnementaux (Ou *et al.*, 2019).

I.1.1. Structure chimique

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles liés à un cycle benzénique.

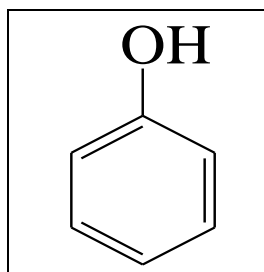
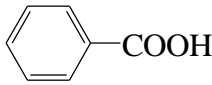
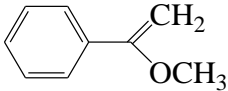
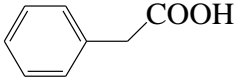
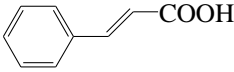
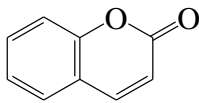
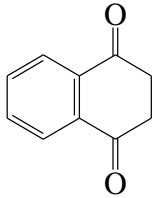
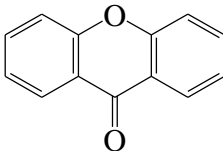


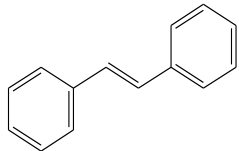
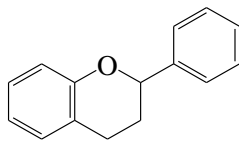
Figure 5 : structure générale du phénol.

I. 1.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols ont plusieurs groupes phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcoolique, carboxylique, etc.). Dans cette famille de molécules, de nombreuses substances peuvent être classées en différents groupes selon leur structure (Macheix *et al.*, 1990 ; Nagendran *et al.*, 2006), comme le montre le Tableau 2.

Tableau 2 : Classification des polyphénols (Crozier *et al.*, 2006).

Nbre de carbones	Squelette	Classification	Structure de base	Exemple
7	C6-C1	Acides phénols		Acide gallique
8	C6-C2	Acétophénone		Gallacetophénone
8	C6-C2	Acides phénylacétique		Acide p-hydrxy phénylacétique
9	C6-C3	Acides hydroxycinnamique		Acide p-Coumarique
9	C6-C3	Coumarines		Esculetin
10	C6-C4	Naphtoquinones		Juglone
13	C6-C1-C5	Xanthones		Mangiférine

14	C6-C2-C6	Stilbènes		Resvératol
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes		Naringénine

I.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés polyphénoliques les plus abondants contenus dans les végétaux (Stoclet, 2010). Ces molécules sont considérées comme des pigments presque universels de plantes, elles sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La plupart du temps, ils existent à l'état naturel sous forme d'hétérosides (Djemai, 2008).

I.2.1. Structure chimique

Leur structure (Figure 6) comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (A et B) porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone, ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène (Stoclet, 2010).

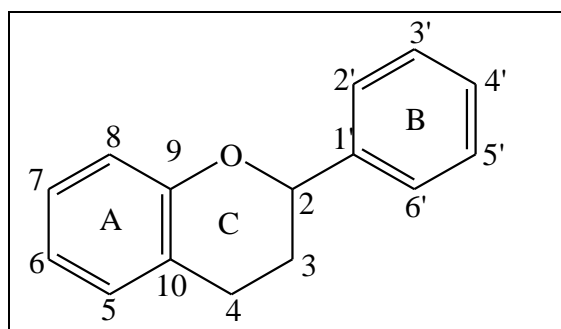


Figure 6 : Structure générale des Flavonoïdes.

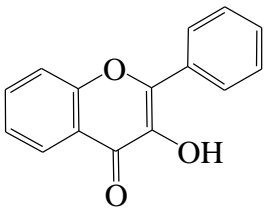
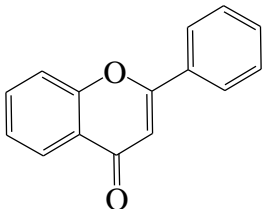
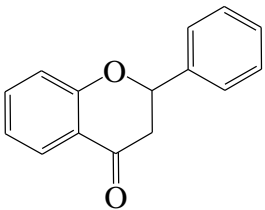
I.2.2. Classification des flavonoïdes

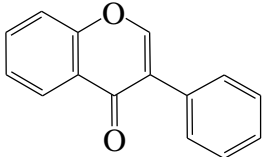
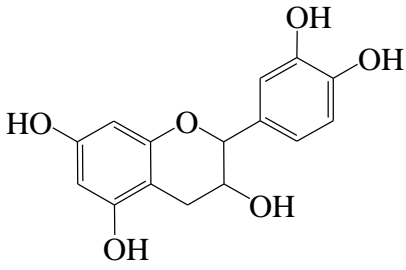
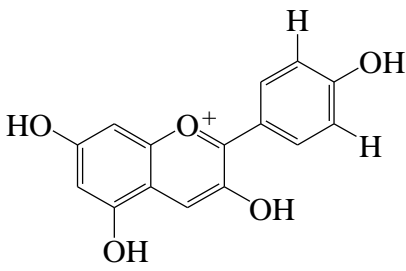
Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituant portés sur le cycle C (Figure 7). (Pietta, 2000).

I.3 Les isoprénoïdes ou terpénoïdes

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes. L'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faible poids moléculaire, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées (Gravot, 2008).

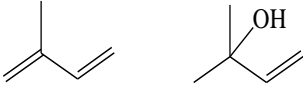
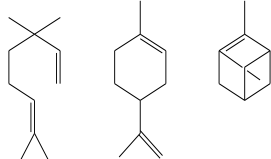
Tableau 3 : les six grandes classes des flavonoïdes (Morand, 2014)

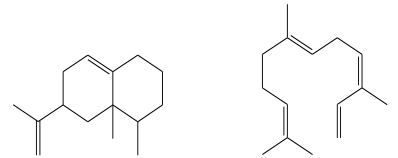
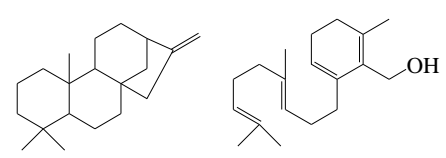
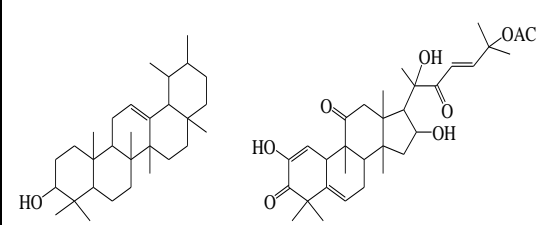
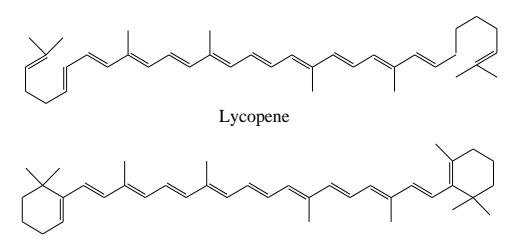
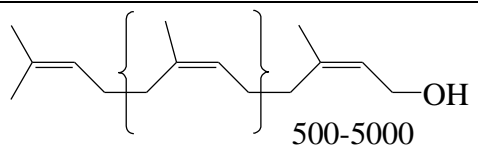
Classes	Structures	Molécules	Sources alimentaires majeures
Flavonols		Quercétines, kaempférol, myricétine.	Oignons, épinards, brocolis, tomates, thé, vin rouge
Flavones		Apigénine, lutéoline	Céréales, plantes aromatiques, tisanes
Flavanones		Hespérétine, naringénine, ériodictyol	Agrumes

Isoflavones		Daidzéine, génistéine	Soja, légumineuses
Flavanols		Monomères : Catéchine, gallocatéchine Polymères : proanthocyanidines	Cacao, thé ; pomme, fruits
Anthocyanes		Cyanidine, pélargonidine, malvidine, delphinidine	Baies, fruits rouge, vin rouge

I.3.1. La Classification des composés terpéniques

Tableau 4 : Classification des composés terpéniques (Benabdelkader, 2012).

Classe	Formule brute	Nbre d'isoprène	exemple
Hémierpènes	C_5H_8	1	 Isoprene Methylbutenol
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	2	 Linalool Limonene α -Pinene

Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	3	 5-epi-Aristolochene α -farnesene
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	4	 Kaurene Geranylgeraniol
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	6	 α -Amyrin Cucurbitacine E
Tetraterpènes	$C_{40}H_{64}$	8	 Lycopene β -Carotene
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	45-30000	 500-5000 le caoutchouc (cis-1,4-polyisoprène)

I.4. Les tanins

On peut dire d'un point de vue général, que les tanins sont des composés phénoliques présents dans la nature sous forme polymérisée. Dans les végétaux, il existe en effet deux types de polymères phénoliques ayant des propriétés complexes, les tanins et les lignines. Les tanins sont des polyphénols ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3.000 qui, en

plus des propriétés classiques des phénols, ont une aptitude à transformer les peaux fraîches en cuir imputrescible (Doat, 1978). Les tanins peuvent se diviser en deux classes:

- **Les pyrogalliques (ou hydrolysables)** : Ce sont des esters du glucose et d'acides phénoliques (soit l'acide gallique soit l'acide ellagique) (Gazengel et Orecchioni, 2013).
- **Les catéchiqes (ou condensés non hydrolysables)** : Ce sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 2009).

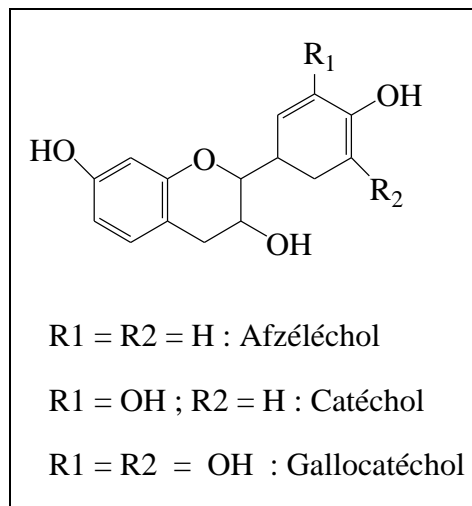


Figure 7 : Structure de base des tanins.

Chapitre III

Stress oxydant

I. Stress oxydatif

Le stress oxydatif (ou oxydant) se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les radicaux libres, en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (Bensakhria, 2018). Plusieurs espèces radicalaires existent dans la nature, celles dérivant de l'oxygène sont appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou radicaux libres oxygénés (ROS de l'acronyme anglais Reactive Oxygen Species), celles dérivant du carbone et celles dérivant de l'azote (oxyde nitrique NO, peroxydite . NO₃⁻, ...). Dans ce qui suit, nous allons parler uniquement des ERO.

II. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène et dont l'existence est relativement courte avec un temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de l'ordre de quelques nanosecondes à quelques heures. Ils sont produits sous forme de molécules, ions et radicaux dans de nombreux processus chimiques et biologiques. Leurs rôles diffèrent de manière significative en fonction de leurs types, des réactions auxquelles ils participent et de la cible. Dans les processus biologiques, les ERO sont des sous-produits naturels du métabolisme de l'oxygène qui jouent un rôle important dans la transduction des signaux cellulaires et dans le métabolisme de l'oxygène et l'homéostasie. Cependant, sous la pression de l'environnement (tel que les rayonnements ionisants), les niveaux des ERO peuvent augmenter considérablement ce qui cause le stress oxydatif, entraînant des dommages cellulaires et diverses maladies (Su *et al.*, 2018).

III. Les principales ERO

III.1. Les ERO radicalaires

III.1.1. Le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Le radical superoxyde est produit à partir de l'oxygène moléculaire principalement par les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes, macrophages et éosinophiles). Malgré le fait qu'il participe à l'inactivation des virus et des bactéries, sa présence à un taux élevé, résultant de la stimulation excessive ou inappropriée des cellules phagocytaires, peut entraîner des lésions tissulaires sévères, comme c'est le cas dans le syndrome d'ischémie-reperfusion. En effet, l'activation de la xanthine oxydase par l'ischémie va provoquer une formation importante de radicaux superoxydes en présence d'oxygène lors de la reperfusion (Goudable et Favier, 1997). Le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est l'ERO qui possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organiques en raison, notamment, d'une constante de vitesse faible. On lui connaît quelques cibles privilégiées comme le cytochrome c, la vitamine C, et bien entendu la SOD. Cependant, l' $O_2^{\bullet-}$ est capable de produire d'autres radicaux beaucoup plus réactifs. Il s'agit de toxicité indirecte (Migdal et Serres, 2011).

III.1.2. Le radical hydroxyle OH^{\bullet}

Le radical hydroxyle OH^{\bullet} est l'oxydant le plus puissant des ERO avec une constante de vitesse assez élevée. Le OH^{\bullet} est une espèce qui réagit avec des substrats sur son lieu de production, qui ne possède pas de cibles privilégiées et qui a une très faible durée de vie. Le OH^{\bullet} peut oxyder un substrat selon trois modes d'action : un arrachement d'un électron, un arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique ou une addition sur une double liaison. Les deux derniers modes d'action conduisent à la formation de radicaux centrés sur le carbone (Migdal et Serres, 2011). Ce radical peut être produit à partir de l'eau par les radiations ionisantes dans tous les organismes vivants, mais il est surtout formé par la réaction de Fenton à partir d' H_2O_2 . L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Le radical hydroxyle formé est très oxydant. Il peut initier une peroxydation lipidique qui pourra continuer en chaîne. C'est le radical le plus dangereux pour l'organisme (Goudable et Favier, 1997).

III.1.3. Les radicaux alkyles R[•] et peroxydes ROO[•]

Les radicaux alkyles sont les derniers maillons dans la chaîne de production des ERO. Ils sont les résultats de l'action oxydante des OH[•] sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés (RH). Les R[•] et ROO[•] sont à l'origine des processus radicalaires en chaîne et en particulier de la peroxydation lipidique (St-Louis, 2011).

III.2. Les ERO non radicalaires

III.2.1. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est produit en grande partie à partir du radical superoxyde en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction. Le H₂O₂ est un produit plus stable que les radicaux superoxydes, c'est pourquoi il diffuse très facilement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. C'est un oxydant très puissant capable d'accepter deux électrons supplémentaires. Il est potentiellement toxique pour la cellule et il est utilisé par la myéloperoxydase pour produire de l'hypochlorite qui permet de tuer les microorganismes pathogènes (Goudable et Favier, 1997).

IV. Origine du stress oxydant

L'organisme peut avoir à faire face à une production en radicaux libres beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation. Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant, soit couplant la défense à l'énergie (comme la G6PD), soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (Favier, 2003).

V. Les conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

VI. Antioxydants et systèmes de défense

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases ; l'autre exogène apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque;. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

VI.1. Antioxydants endogènes

VI.1.1. Superoxydes dismutases

Les Superoxydes dismutases(SOD) éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H_2O_2 et en OH^+ et OH^- . Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et Favier, 1997).

VI.1.2. Catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène. (Goudable et Favier, 1997).Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Haleng *et al.*, 2007).

VI.1.3. Glutathion peroxydases

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Dans la cellule, dans les conditions physiologiques, la forme glutathion réduit est prédominante (95%). Les GSHPX connues sont des enzymes à sélénium. Le sélénium est intégré dans la protéine sous forme de sélénocystéine. Le facteur limitant de la synthèse des sélénoprotéines, et donc des GSHPX, est la teneur intracellulaire en sélénium. Le stress oxydant selon sa nature et son intensité peut entraîner une modification de la synthèse des GSHPX pour une meilleure adaptation cellulaire ou une inactivation de l'enzyme. Il est important de noter que la lutte contre les radicaux libres passe par un effet complémentaire des SOD et des GSHPX. En effet, le radical superoxyde n'est pas particulièrement agressif pour les milieux biologiques, les SOD seules ont donc un effet ambigu générant du peroxyde d'hydrogène qui, lui, est très cytotoxique expérimentalement surtout en présence de traces de fer. Il faut donc la présence concomitante des SOD et des GSHPX pour obtenir un effet protecteur optimum contre les radicaux libres (Goudable et Favier, 1997).

VI.2. Antioxydants exogènes

VI.2. 1. Les polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des ERO et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007)

VI.2. 2. Les vitamines

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être très importants dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Garait, 2006). La vitamine C, hydrosoluble est, avant tout, un excellent piègeur des ERO ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$) (Garait, 2006). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Haleng *et al.*, 2007).

VI.2. 3. Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) (Garait, 2006).

VI.2. 4. Les caroténoïdes

La β carotène, la lutéine, le lycopène, la cryptoxanthine et les pigments xanthophyllessont aussi des piègeurs d'ERO et plus particulièrement de l'oxygène singulet (Benaraba, 2007).

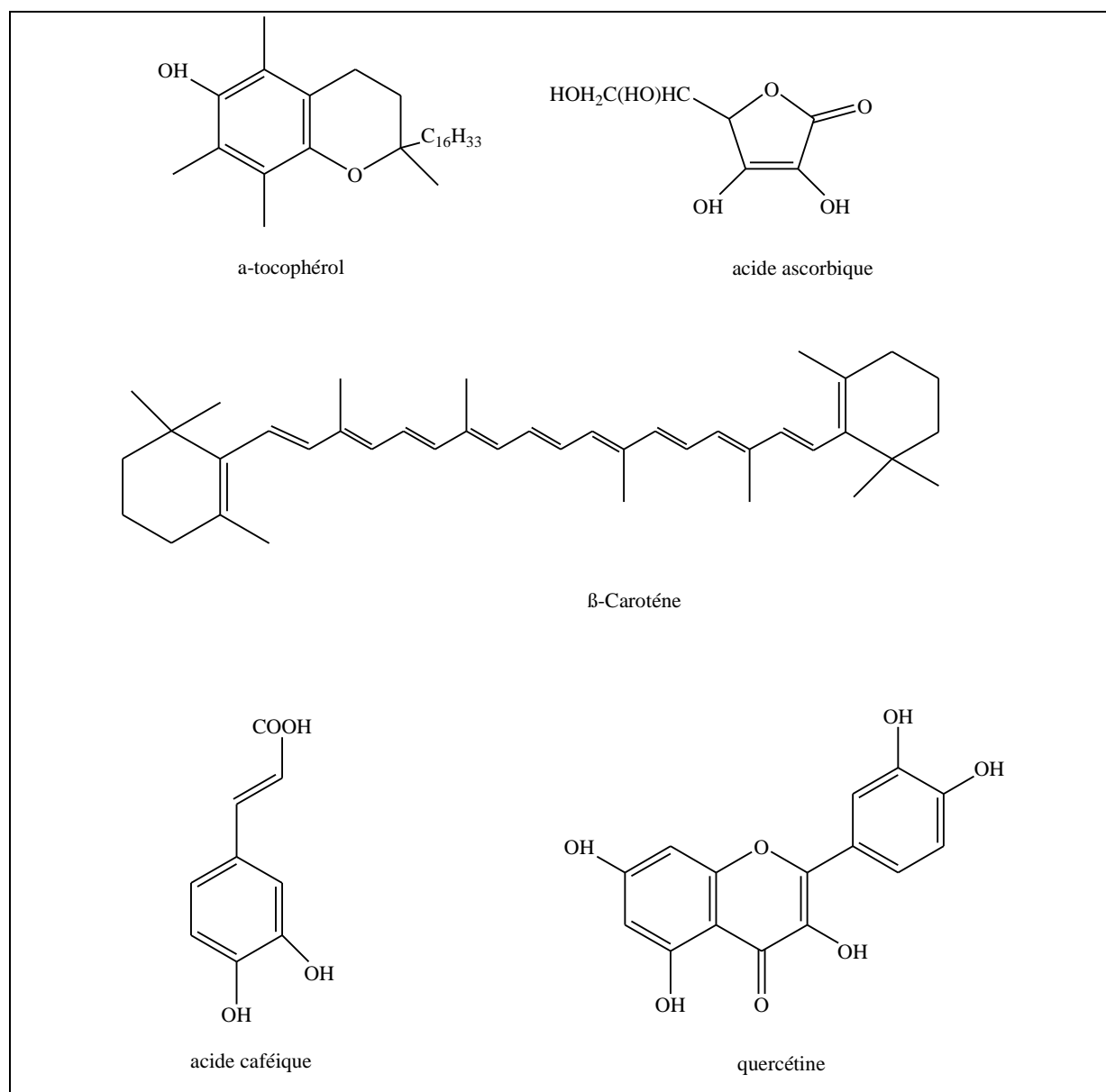


Figure 8 : Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène, acide caféique et quercétine (Gardès-Albert *et al.*, 2003)

Partie II

Etude expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Nous présentons dans cette partie les travaux expérimentaux réalisés au laboratoire de biochimie, Centre de Recherche Biotechnologie (C.R.Bt) de Constantine, ces travaux concerne l'étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*.

I. Matériel

I.1. Récolte et traitement de la plante

La récolte de la plante *Artemisia campestris* a été effectuée au mois de Novembre 2018, dans la région de Tassili (Hoggar), dont l'altitude est d'environ 1800 m, la plante a été identifiée par le botaniste Chagga Abdellah (Botaniste de l'université de Tamanrasset), Après la récolte, la partie aérienne de la plante a été bien nettoyée et lavée, ensuite séchée sous l'ombre dans un endroit bien aéré à une température ambiante et à l'abri de l'humidité.

I.2. Réactifs chimiques et solvants

I.2.1. Réactifs

Tableau 5: Réactifs utilisés

DPPH	Galvinoxyl
α -tocophérol	Acétate d'ammonium $\text{CH}_3\text{COONH}_4$
BHT	Chlorure de cuivre CuCl_2 ,
BHA	Neocupronine
ABTS	Acétate de potassium (CH_3COOK)
Persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3$)
Phosphate buffer	Quercétine
Potassium ferricyanide $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	Folin-Ciocalteu
Chloroaceticacid (TCA)	acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$)
Chlorure de fer FeCl_3	Acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$)
Phenanthroline	Carbonate de sodium (Na_2CO_3)

I.2.2. Les solvants

Tableau 6: Solvants utilisés et leurs formules

Solvant	Formule	Solvant	Formule
Méthanol	CH_3OH	Acétate d'éthyle	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
Dichlorométhane	CH_2Cl_2	Butanol	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$
Acétate d'éthyle	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$		

I.3. Matériel utilisé

I.3.1. Liste d'appareils utilisés



Lecteur de microplaque



Rota-vapeur



Broyeur à lame



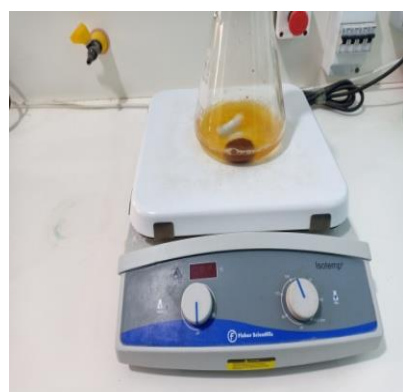
Balance électrique



Bac à ultrason



Agitateur vortex



Agitateur magnétique



Ph-mètre



Etuve

Figure 9 : Appareils utilisés dans la réalisation du protocole expérimental.

I.3.2. Verreries utilisées et autres

Tableau 7: Différentes Verreries utilisées et autres.

Béchers	Entonnoirs
Eprouvettes graduées	Spatules
Ampoule à décanter	Microplaques
Micropipettes	Pisettes
Erlenmeyers	Coton stérile
Papier aluminium	Para- film

II. Méthodes

II.1. Broyage

Pour la préparation des extraits, la partie aérienne de la plante (Les feuilles) séchée dans un endroit sec à l'abri de la lumière, a été broyée en poudre très fine à l'aide d'un broyeur électrique.

II.2. Extraction par les solvants

L'extraction est une opération qui vise à récupérer des substances hydrosolubles à partir de la poudre de plantes, à l'aide d'un solvant organique.

La préparation des extraits à partir d'*Artemisia campestris* est effectuée par macération. 50 g de la poudre végétale sont macérés dans un mélange hydro-alcoolique Méthanol/Eau (70:30 (v/v)), pendant 24 heures à température ambiante. L'extrait obtenu est filtré sur papier filtre, puis concentrée sous pression réduite à 45°C avec un rotavapeur de type BÜCHI R-210. Cette opération a été répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait brut hydrométhanolique est ainsi obtenu. 150 ml d'eau distillée sont ajoutés à cet extrait et l'ensemble est placé dans un bac à ultrason, ensuite filtré avec du coton stérile. A l'aide d'une ampoule à décanter, nous avons procédé à des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le butanol. L'extraction avec chaque solvant est renouvelée trois fois pour un meilleur résultat. Les phases organiques sont récupérées puis concentrée sous pression réduite à 41, 43 et 60°C, successivement avec le rotavapeur permettant ainsi d'obtenir l'extrait dichloro-méthanique, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait Buthanolique.

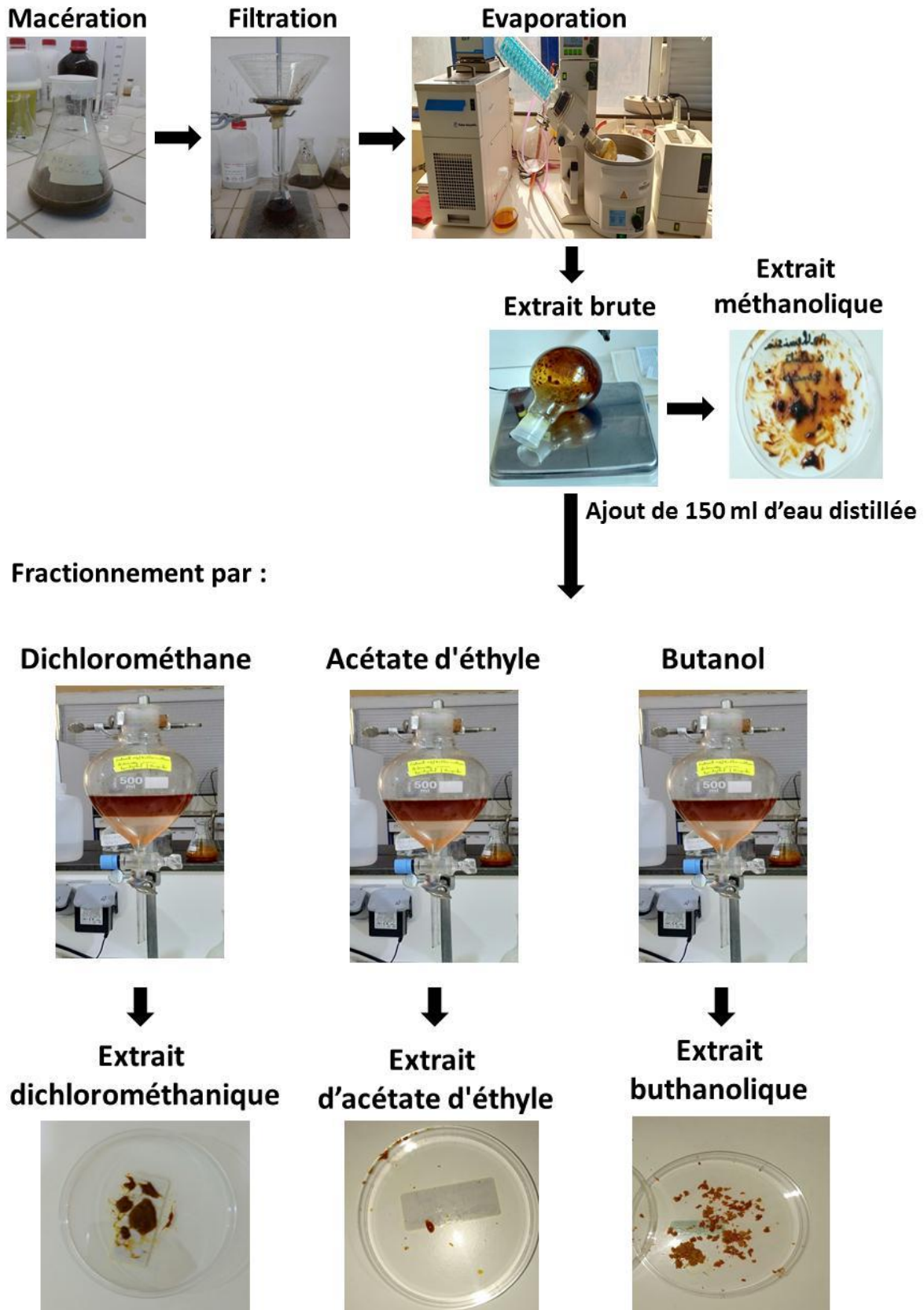


Figure 10 : Protocole des différentes étapes de l'extraction liquide-liquide.

Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids des fractions obtenues et le poids de la matière végétale. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{PE}{PMV} \times 100$$

R : rendement

PE : poids de l'extrait (en g)

PMV : poids de matière végétale (en g)

III. Protocoles

Le protocole expérimental est présenté sur l'organigramme suivant :

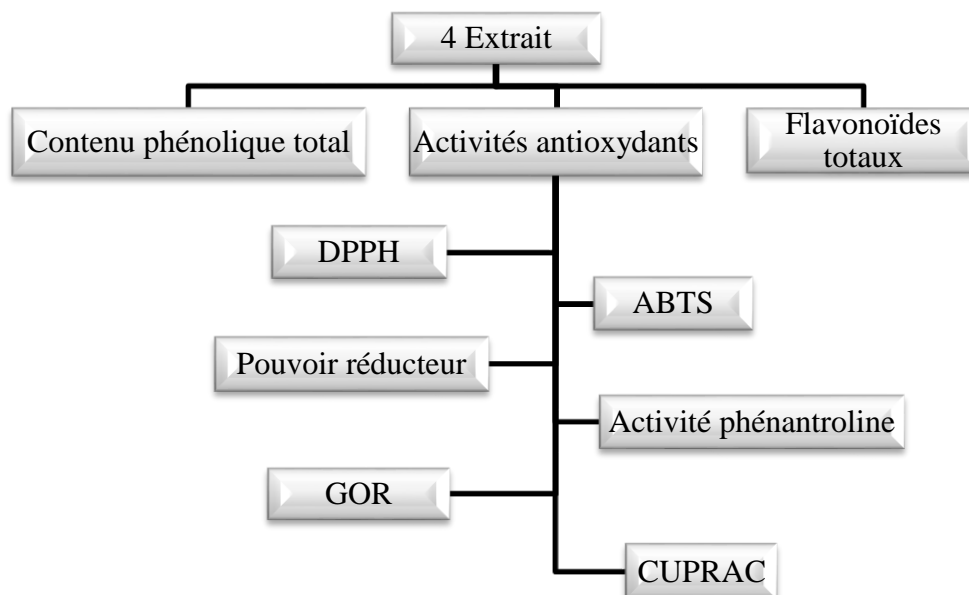


Figure 11 : Protocole d'étude des activités biologiques.

III.1. Dosage des Flavonoïde et des polyphénols

III.1.1. Flavonoïdes totaux

a. Principe de la réaction

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode connue (Topçu *et al.*, 2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque à 96 puits.

b. Mode opératoire**1-Préparation des solutions**

Une solution S_1 d'acétate de potassium CH_3COOK de concentration 1M est préparée par la dissolution de 9.80 g de CH_3COOK dans 100 ml d'eau distillée. La solution à 10% en nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$) est préparée en dissolvant 10 g de ce produit dans 100 ml d'eau distillée.

2-Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 milligramme d'extrait de plante est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution S_2 .

c. Procédure**1-Pour l'extrait**

On mélange 50 μl de S_2 (extrait de plante), 130 μl de MeOH, 10 μl de S_1 (CH_3COOK) et 10 μl d' $\text{Al}(\text{NO}_3)_2, 9\text{H}_2\text{O}$, on attend 40 mn et on réalise la lecture à 415 nm. L'échantillon blanc est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μl extrait + 150 μl méthanol).

2-Pour l'étalon***Préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine :***

On prend 1 mg de la Quercétine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution S_m à 0,2 mg/ml. Des solutions diluées sont préparées dans des eppendorfs à partir de cette solution mère comme suit :

Quercétine (25)	25 μl S_m + 175 μl MeOH
Quercétine (50)	50 μl S_m + 150 μl MeOH
Quercétine (75)	75 μl S_m + 125 μl MeOH
Quercétine (100)	100 μl S_m + 100 μl MeOH
Quercétine (125)	125 μl S_m + 75 μl MeOH
Quercétine (150)	150 μl S_m + 50 μl MeOH
Quercétine (175)	175 μl S_m + 25 μl MeOH
Quercétine (200)	200 μl S_m + 0 μl MeOH

50 μl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque à 96 puits. On y ajoute 130 μl de MeOH, 10 μl de S_1 (CH_3COOK) et 10 μl d' $\text{Al}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, on attend 40 mn et on réalise la lecture à 415 nm.

III.1.2. Contenu phénolique total

a. Principe de la réaction

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Miller (Müller *et al.*, 2010).

Le réactif FCR, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue résultante est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, et possède une absorption maximale aux environs de 750 -765 nm.

b. Mode opératoire

- **Préparation de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%**

Cette solution est préparée en dissolvant 7,5 g de Na_2CO_3 dans 100 ml d'eau distillée.

- **Préparation de l'extrait de plante**

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou de méthanol).

- **Préparation de Folin Ciocalteu (FCR)**

Dans une fiole jaugée de 10 ml on place 1ml de la solution FCR concentré (2M) et on complète le volume avec de l'eau distillée.

c. Procédure

A 20 μl d'extrait de plante on ajoute 100 μl de FCR dilué (1 :10) et 75 μl de carbonate de sodium à 7,5%, et on place le mélange à l'obscurité pendant 2h. La lecture est réalisée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait de plante par le solvant utilisé (le méthanol).

d. Gamme d'étalonnage

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On dissout 0,5 mg de l'acide gallique dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution S₁ à 0,2 mg/ml. Les solutions diluées sont préparées dans des eppendorfs comme suit:

25µg/ml	—————>	25 µl de S1 + 175µl de MeOH
50 µg /ml	—————>	50 µl de S1 + 150µl de MeOH
75µg/ml	—————>	75 µl de S1 + 125µl de MeOH
100µg/ml	—————>	100 µl de S1 + 100µ de MeOH
125µg /ml	—————>	125 µl de S1 + 75µl de MeOH
150µg /ml	—————>	150 µl de S1 + 50µl de MeOH
175 µg /ml	—————>	175 µl de S1 + 25µl de MeOH
200µg /ml	—————>	200 µl de S1

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque auxquelles on ajoute 100µl de FCR (1 :10) et 75 µl de Na₂CO₃ à 7,5%. Le mélange est incubé pendant 2h de temps et la lecture est réalisée à 765 nm.

III.2. Les activités antioxydantes

III.2.1. Le piégeage du radical libre DPPH

a. Principe de la réaction

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois, 1958) l'α-tocophérol, le BHT et le BHA sont utilisés comme des standards.

b. Mode opératoire

• Préparation de la DPPH

On dissout 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et on garde le mélange à l'abri de la lumière à 4 °C. L'absorbance enregistrée avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm est de 0.5 .

c. Procédure

On mélange 160 µl de DPPH et 40 µl d'extrait, et on réalise la lecture à 517 nm.

III.2.2. L'activité de la réduction du radical-cation ABTS

a. Principe de la réaction

Cette activité est déterminée par la méthode de Re (Re *et al.*, 1999).

b. Procédure

La solution à 7 mM de l'ABTS préparée en dissolvant 19,2 mg d'ABTS dans 5 ml d'H₂O et la solution à 2.45 mM de persulfate de potassium K₂S₂O₈ préparée en dissolvant 3,3 mg de K₂S₂O₈ dans 5 ml H₂O ,sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 16 h . L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée avec de l'éthanol ou de l'eau à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

160 µl d'ABTS⁺ sont mélangée à 40 µl d'extrait. On attend 10 mn et on réalise la lecture à 734 nm.

L'activité de l'ABTS⁺ est exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée par l'équation suivante :

$$ABTS^+(\%) = \frac{A_C - A_E}{A_C} \times 100$$

A_C : Absorbance contrôle.

A_E : Absorbance extrait.

III.2.3.La réduction du radical Galvinoxyl (GOR)

a. Principe de la réaction

L'activité GOR est déterminée par la méthode décrite par Shi (Shi *et al.*, 2001).

b. Mode opératoire

Un mélange de 40 µl d'extrait et 160 µl de Galvinoxyl (0,1 mM) est incubé pendant 120 mn. La lecture est réalisée à 428 nm.

III.2.4. Pouvoir réducteur FRAP

a. Principe de la réaction

L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode d' Oyaizu (Oyaizu, 1986) avec une légère modification.

b. Procédure

Un mélange constitué de 10 µl d'extrait, 40 µl de solution tampon phosphate (pH 6.6) et 50 µl de ferricyanide de potassium (1%) $K_3Fe(CN)_6$ (1 g de $K_3Fe(CN)_6$ dans 100 ml H_2O) est incubé à 50 °C pendant 20 mn. On y ajoute 50 µl de tri-chloroaceticacide (TCA) à 10% (1 g de TCA dans 10 ml H_2O), 40 µl d' H_2O et 10 µl de chlorure de fer $FeCl_3$ à 0.1% (0,1 g de $FeCl_3$ dans 100 ml H_2O). La lecture est réalisée à 700 nm.

III.2.5. L'activité phénanthroline

L'activité phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska (Szydłowska-Czerniaka *et al.*, 2008).

a. Préparation

- **Préparation d'une solution de phénanthroline à 0.5%**

0.05 g de 1,10-Phénanthroline sont dissous dans 10 ml de méthanol.

- **Préparation d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0.2%**

0.02 g de $FeCl_3$ sont dissous dans 10 ml d' H_2O .

b. Procédure

Un mélange de 10 µl d'extrait, 50 µl de $FeCl_3$ à 0.2%, 30 µl de phénanthroline à 0.5% et 110 µl de méthanol est incubé à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. La lecture est réalisée à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

III.2.6. CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)

Cette activité est déterminée par la méthode d'Apak (Apak , *et al.*, 2004).

a. Préparation des solutions

1,927 g d'acetate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) + 25 ml (H_2O) \longrightarrow S₁

0,042625 g de ($\text{CuCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$) +25 ml d' H_2O \longrightarrow S₂

0,039 g de Néocupronine + 25 ml d'éthanol \longrightarrow S₃

b. Procédure

On mélange 40 μl d'extrait avec 60 μl de S₁, 50 μl de S₃ et 50 μl de S₂ et on attend 1 h de temps. La lecture est réalisée à 450 nm.

Chapitre II

Résultats et discussion

I.1. Rendements des extraits

L'extraction des flavonoïdes des feuilles d'*Artemisia campestris* est réalisée par macération dans un mélange Méthanol/H₂O avec des proportions 7/3 en volume (v/v). Le fractionnement par des solvants à polarité croissante, entre autres le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le butanol, permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction. Cette extraction nous a permis après évaporation des solvants, de récupérer des quantités d'extraits solides à partir de chaque phase. Le poids récupéré et le rendement calculé pour chaque extrait, sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 8: Poids et rendement de chaque extrait.

Matière végétal	Extrait	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)
50 g	E ME	10,08	20,16
	Dichlorométhane	0,68	1,36
	Acétate d'éthyle	0,28	0,56
	Butanol	2,12	4,24

Les résultats obtenus montrent que l'extrait butanolique représente le rendement le plus élevé avec 4.24%, suivi par l'extrait dichlorométhanique avec 1.36%. Cependant, l'extrait acétate d'éthyle possède le rendement le plus bas avec 56%. La différence de rendement entre les extraits est due aux techniques d'extraction utilisées et aux solvants utilisés.

Il est difficile de comparer les résultats obtenus avec ceux de la bibliographie, car le rendement qui est lié à la quantité de métabolites présents dans la plante n'est que relatif et dépend des propriétés génétiques, de l'origine géographique, des conditions et à la durée de stockage de la récolte et de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee *et al.*,2003).

II. Teneur en flavonoïdes et en polyphénols

II.1. Teneur des extraits en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait est calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en microgrammes équivalent en acide gallique par milligramme d'extrait. La mesure de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 765 nm.

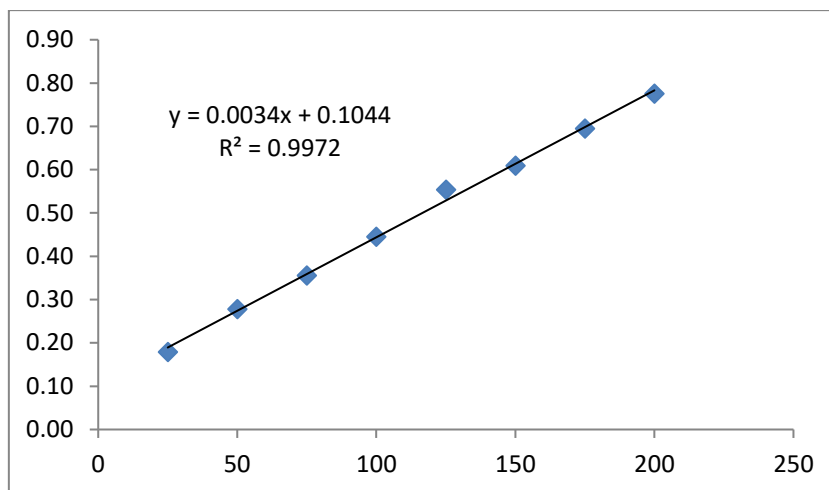


Figure 12 : Courbe d'étalonnage d'Acide Gallique (Moyenne \pm ET des trois essais).

Tableau 9 : Absorbances des extraits et du contrôle

Extrait	E ME	E ME	E ME	E DI	E DI	E DI
AE	2.577	2.501	2.611	2.761	2.791	2.702
AC	0.104	0.104	0.101	0.107	0.107	0.107
S	2.47	2.40	2.51	2.65	2.68	2.60
P	696.65	674.29	707.53	749.88	758.71	732.53
Extrait	E AC	E AC	E AC	E BU	E BU	E BU
AE	2.483	2.473	2.42	2.028	2.022	1.963
AC	0.1	0.113	0.105	0.105	0.105	0.117
S	2.38	2.36	2.32	1.92	1.92	1.85
P	670.18	663.41	650.18	534.88	533.12	512.24

Tableau 10: Moyennes des teneurs en polyphénols.

Calcul des Teneurs		
Extrait	Moyenne	SD
E ME	692,82	16.94
E DI	747.04	13.32
E AC	661.25	10.17
E BU	526.75	12.60

On remarque d'après les résultats du tableau 9 que la quantité des composés phénoliques totaux est de 526.75 µg EGA/mg pour l'E BU et 747.04 µg EGA/mg pour l'E DI. Cependant, une quantité moyenne de 661.25 et 692,82 µg EGA/mg, a été détectée pour l'extrait E AC et pour le brut, respectivement.

II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et a été exprimée en microgrammes équivalent en quercétine par milligramme d'extrait, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 415 nm.

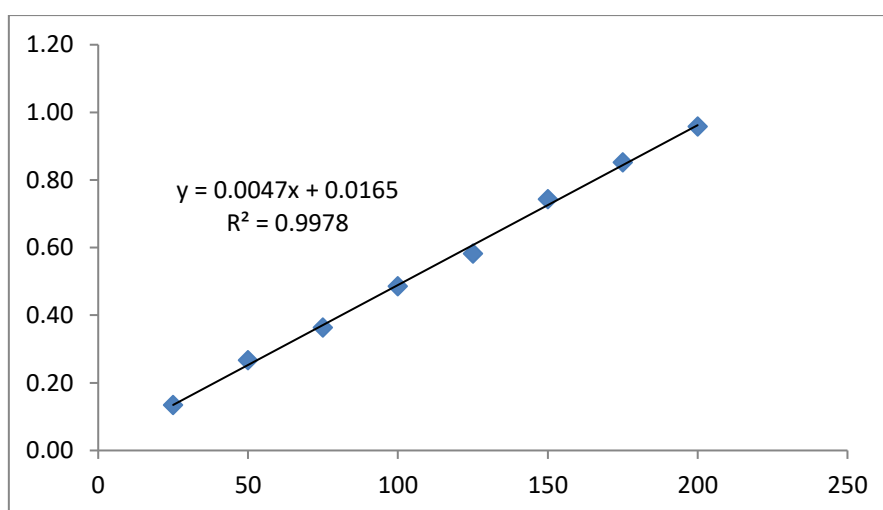


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 11: Moyennes des teneurs en flavonoïdes et l'écart type des quatre extraits.

Calcul des Teneurs		
Extrait	Moyenne	SD
E ME	132.87	3.22
E DI	74.86	4.97
E AC	61.24	4.71
E BU	-3.30	0.37

D'après les résultats du tableau 10 le taux des flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans l'extrait Brut avec 132.87 µg EQ/mg. Cependant, le taux des flavonoïdes des extraits E DI et E AC est de l'ordre de 74.86 et 61.24 µg EQ/mg, respectivement. Il est important de souligner que le choix des solvants dans la méthode utilisée, ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, influence sur le contenu total en polyphénols et en flavonoïdes, et par conséquent affectent les activités biologiques méditées par ces métabolites (Lee *et al.*, 2003).

III. Les activités antioxydantes

Il existe plusieurs méthodes utilisées pour déterminer l'activité antioxydante d'un échantillon. Dans cette étude, les propriétés antioxydantes des extraits de méthanol, du dichlorométhane, d'acétate d'éthyle, et du butanol, des feuilles de la plante *Artemisia campestris* ont été déterminées par les six méthodes suivantes: Le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du radical-cation ABTS, la réduction du radical Galvinoxyl(GOR), le test du pouvoir réducteur FRAP, le test du phénanthroline et le test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity).

Les capacités antioxydantes des extraits de la plante ont été comparées avec ceux des standards le BHA et le BHT. Pour toutes les activités sauf pour le test du pouvoir réducteur, les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec l'acide ascorbique, l'acide tannique et l' α -Tocophérol.

III.1. Détermination des CI_{50} des extraits

La CI_{50} (Concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical libre. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. La CI_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé. Plus la valeur de la CI_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Bentabet *et al.*, 2014).

Exemple pour calculé CI_{50} :

Tableau 12: Absorbances des quatre extraits au test DPPH.

EM	EM	EM	ED	ED	ED	EAC	EAC	EAC	EBU	EBU	EBU
0.067	0.068	0.07	0.067	0.066	0.066	0.063	0.064	0.063	0.064	0.065	0.063
0.069	0.072	0.085	0.067	0.067	0.067	0.064	0.063	0.073	0.065	0.064	0.065
0.181	0.162	0.164	0.128	0.123	0.123	0.083	0.085	0.086	0.081	0.074	0.075
0.271	0.274	0.269	0.254	0.239	0.235	0.22	0.176	0.221	0.206	0.215	0.2
0.331	0.336	0.325	0.317	0.31	0.313	0.291	0.298	0.3	0.292	0.273	0.23
0.356	0.352	0.357	0.346	0.345	0.348	0.307	0.336	0.325	0.321	0.327	0.35
0.37	0.381	0.38	0.373	0.372	0.369	0.359	0.364	0.436	0.362	0.35	0.359
0.391	0.384	0.399	0.397	0.391	0.384	0.401	0.386	0.418	0.326	0.393	0.4

La dernière ligne du tableau 11 représente la ligne du contrôle.

Alors la moyenne de contrôle (MC)= 0.3892,

et l'écart type (ET)= 0.0219952.

Calcul du pourcentage d'inhibition du 2ème extrait (dichlorometane):

$$I\% = \frac{A_C - A_E}{A_C} \times 100$$

Avec : A_C : Absorbance du contrôle.

A_E : Absorbance de l'extrait.

Tableau 13: Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait dichlorométhane.

E D	ED	ED
82.7837	83.0407	83.0407
82.7837	82.7837	82.7837
67.1092	68.3940	68.3940
34.7323	38.5867	39.6146
18.5439	20.3426	19.5717
11.0921	11.3490	10.5782
4.1542	4.4111	5.1820

L'équation de la courbe linéaire est sous la forme $Y = a X + b$

Pour la détermination de la CI_{50} ($Y=50$) :

$$X = \frac{Y - b}{a}$$

$$IC50 = \frac{Y - b}{a}$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$

Tableau14: CI_{50} des trois essais et leur moyenne au test DPPH.

Y	A	B	CI_{50}	$CI_{50}ORT$	ORT ET
50	2,590	2,355	18,40	17,82	0,50
50	2,537	5,439	17,56		
50	2,560	5,182	17,51		

-Méthode graphique pour calculer la CI_{50} des trois essais d'extrait dichlorometane :

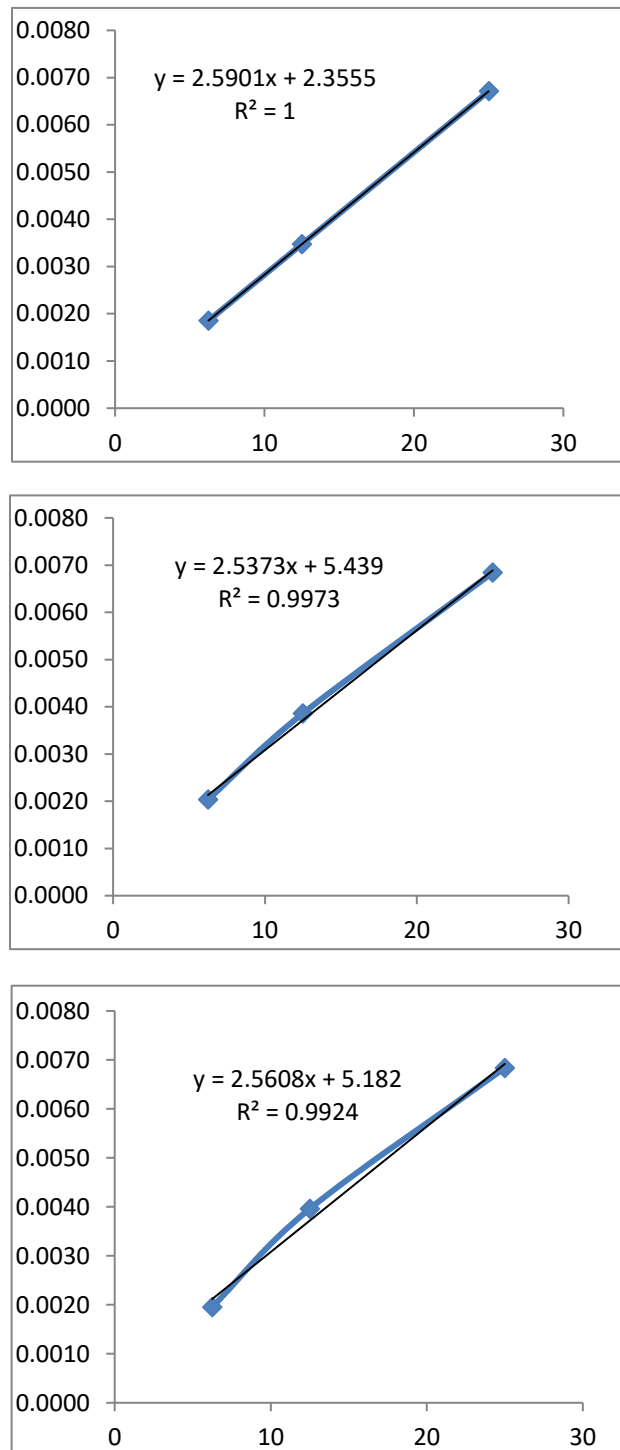


Figure 14 : Méthode graphique pour calculer la CI_{50} des trois essais d'extrait dichlorometanique.

III.1.1. Le piégeage du radical libre DPPH

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant pur, ou d'un extrait antioxydant. La solution éthanolique du DPPH de couleur mauve-foncé est caractérisée par son spectre UV présentant un maximum d'absorbance à 517 nm. Sous l'action d'un antioxydant AOH qui le réduit en DPPHH, sa couleur change et devient jaune (Noureddine *et al.*, 2015).

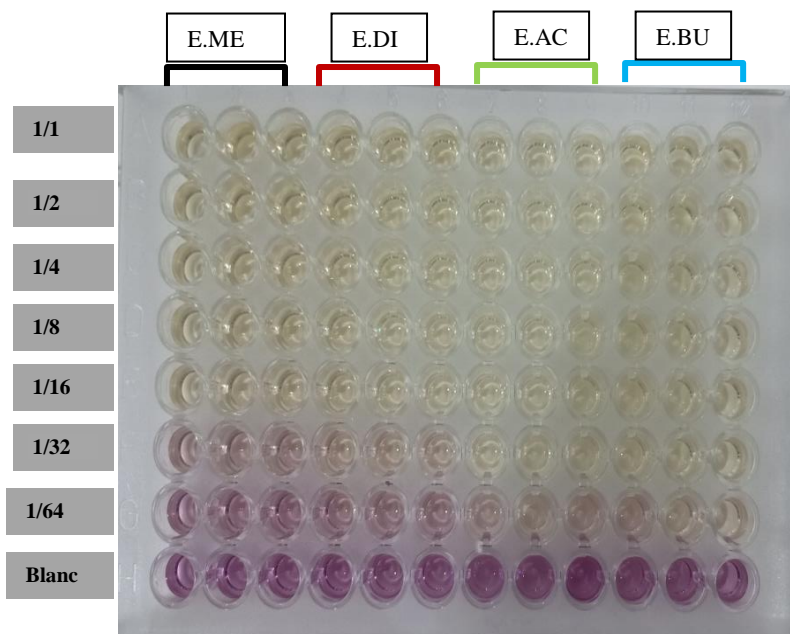


Figure 15 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).

Tableau 15: Pourcentage d'inhibition et la CI_{50} du test DPPH.

Extrait	% Inhibition du test DPPH						
	1.5625 μ g	3.125 μ g	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g
E Me	3,13 \pm 1,56	8,78 \pm 0,68	15,03 \pm 1,42	30,28 \pm 0,65	56,57 \pm 2,68	80,64 \pm 2,19	82,44 \pm 0,39
E DI	4,58 \pm 0,53	11,01 \pm 0,39	19,49 \pm 0,90	37,64 \pm 2,57	67,97 \pm 0,74	82,78 \pm 0,00	82,96 \pm 0,15
E AC	0,73 \pm 11,07	17,09 \pm 3,76	23,85 \pm 1,21	47,15 \pm 6,60	78,24 \pm 0,39	82,87 \pm 1,42	83,73 \pm 0,15
E BU	8,27 \pm 1,60	14,52 \pm 3,93	31,91 \pm 8,16	46,81 \pm 1,94	80,30 \pm 0,97	83,38 \pm 0,15	83,55 \pm 0,26
BHT	6,77 \pm 1,22	11,69 \pm 1,88	22,21 \pm 1,30	37,12 \pm 1,80	52,63 \pm 2,70	56,02 \pm 0,53	83,60 \pm 0,23
BHA	22,21 \pm 1,24	28,95 \pm 1,16	54,33 \pm 1,59	76,76 \pm 1,65	84,09 \pm 0,35	87,53 \pm 0,82	87,73 \pm 0,15
CI_{50} μg/mL							
E Me	E DI	E AC	E BU	BHT	BHA		
21,92 \pm 0,94	17,82 \pm 0,50	14,66 \pm 0,75	13,29 \pm 1,56	22,32 \pm 1,19	5,73 \pm 0,41		

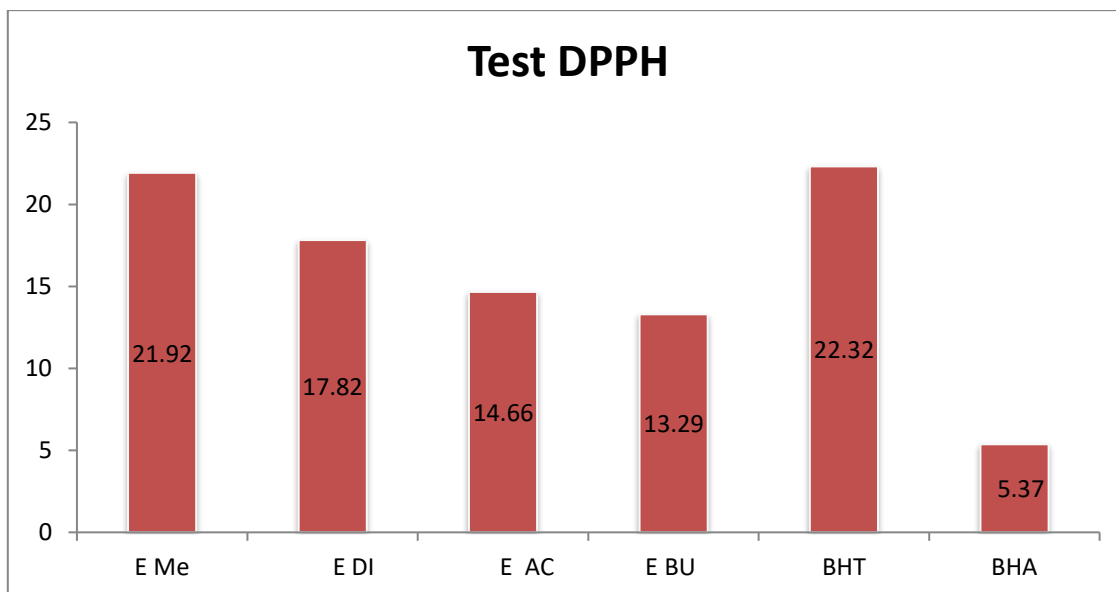


Figure 16 : Histogramme de la CI₅₀ des extraits et standards obtenus par le test DPPH.

D'après le tableau 14 et la figure 16, les résultats révèlent que l'extrait buthanolique est le plus actif avec une CI₅₀ de 13,29 ± 1,56 µg/ml suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle avec une CI₅₀ de 14,66 ± 0,75 µg/ml. Les deux extraits du dichlorométhane et du méthanol sont les plus faibles avec des valeurs de CI₅₀ de 17,82 ± 0,50 et 21,92 ± 0,94 µg/mL, respectivement. En comparaison avec les standards BHT et BHA dont les CI₅₀ sont de 22,32 ± 1,19 et 5,73 ± 0,41 µg/ml, respectivement, tous les extraits montrent une activité antioxydante plus importante que celle du standard BHT. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une activité antioxydante plus importante que celle obtenue avec la même plante, évaluée dans d'autres travaux (Noureddine *et al.*, 2015 ; Bakchiche et Gherib, 2014).

III.1.2. Réduction du radical-cation ABTS

La méthode de réduction du radical-cation ABTS est l'une des méthodes les plus utilisées pour la détermination de la concentration des radicaux libres. En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), forme le radical ABTS^{•+} de couleur bleue (à verte). L'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydant (Zaabat *et al.*, 2010).

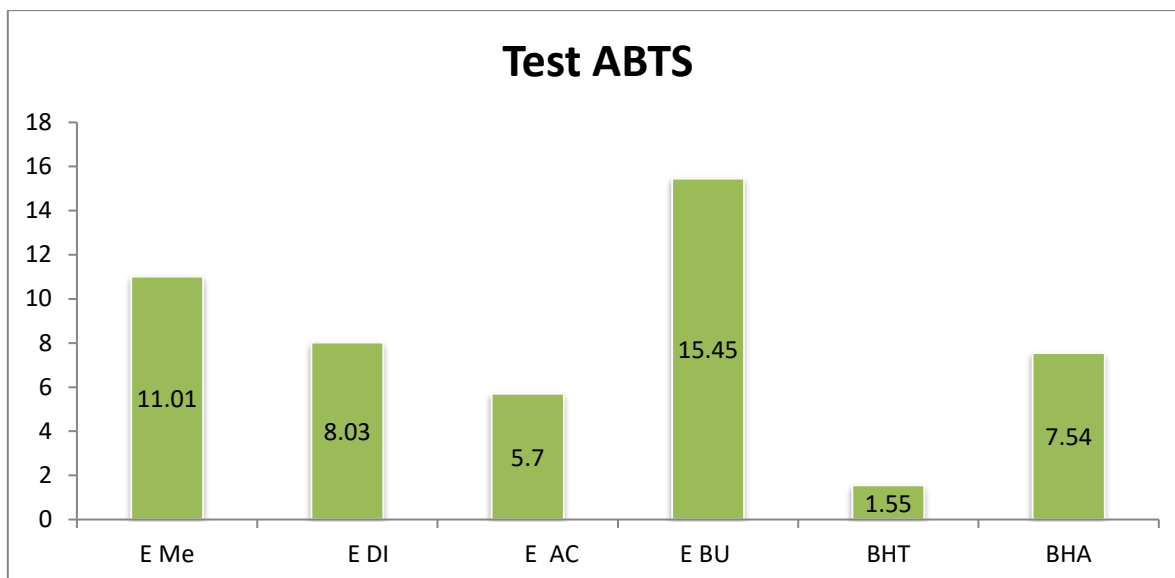


Figure 17 : Histogramme de la CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test ABTS.

Nos résultats révèlent que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus actif avec une CI_{50} de $5,70 \pm 0,40$ $\mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait du dichlorométhane avec une CI_{50} de $8,03 \pm 0,80$ $\mu\text{g/ml}$. Par ailleurs, les extraits méthanolique et buthanolique sont les plus faibles avec des valeurs de la CI_{50} de $11,01 \pm 0,99$ et $15,45 \pm 0,74$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. En comparaison avec les standards BHT et BHA dont les CI_{50} sont de $1,55 \pm 0,26$ et $7,54 \pm 0,67$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement, seulement l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité antioxydante plus importante que le standard BHA. Ces résultats sont plus significatifs que ceux trouvés par Bakchiche et al. lors l'étude de la même plante (Bakchiche et Gherib, 2014)

III.1.3. La réduction du radical Galvinoxyl (GOR)

Le $\text{GO}\cdot$ est un radical relativement stable. Il est largement utilisé pour l'évaluation rapide de l'activité antioxydante des polyphénols grâce à la capacité de transférer des atomes d'hydrogène labiles aux radicaux. Ce test vise à déterminer la capacité des phénols à réduire le radical $\text{GO}\cdot$ de couleur jaune à la forme réduite incolore. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 428 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydant (Shang *et al.*, 2015).

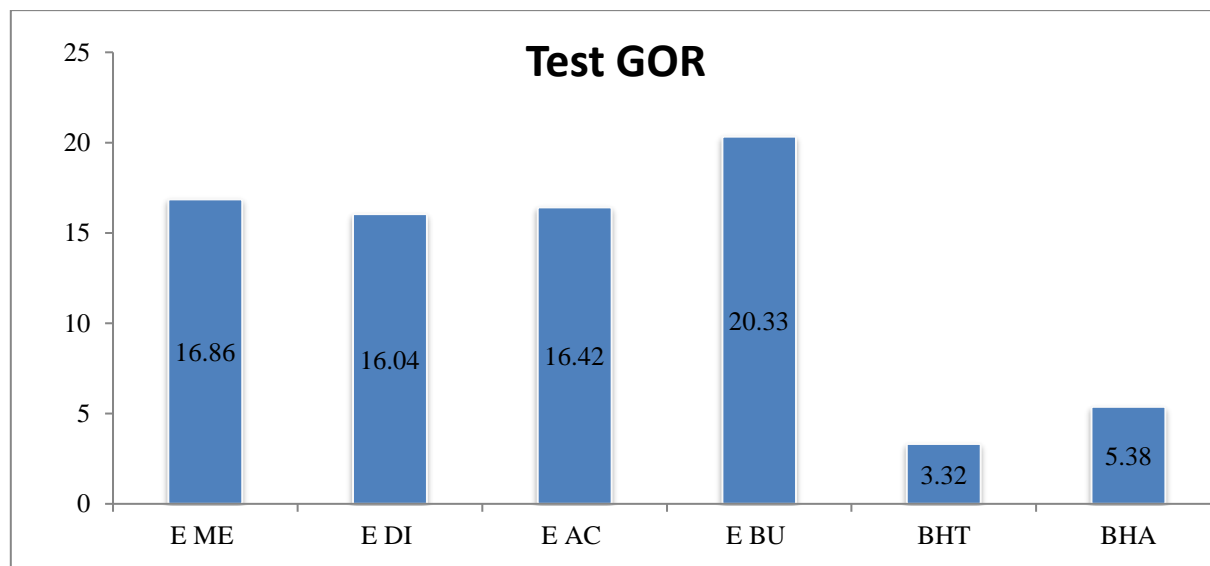


Figure 18 : Histogramme de la CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test GOR

Nos résultats révèlent que les trois extraits (du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle et du méthanol) sont les extraits les plus actifs avec une CI_{50} de $16,04 \pm 0,47$, $16,42 \pm 0,44$ et $16,86 \pm 0,23$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Alors que l'extrait buthanolique est l'extrait le plus faible avec une CI_{50} de l'ordre de $20,33 \pm 0,73$ $\mu\text{g/ml}$. En comparaison avec les standards BHT et BHA dont la CI_{50} est de $3,32 \pm 0,18$ et $5,38 \pm 0,06$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement, tous les extraits montrent une activité antioxydante plus faible.

III.2. Détermination des $A_{0.5}$ des extraits et des standards

Les valeurs $A_{0.50}$ correspondant à la concentration de 0,50 d'absorbance, ont été calculées à partir du graphique d'absorbance en fonction de la concentration de chaque échantillon, afin de comparer les données d'activité. Plus la valeur de l' $A_{0.50}$ est petite plus la capacité de l'antioxydant est meilleur.

III. 2.1. Le pouvoir réducteur FRAP

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir donneur d'électron. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Bentabet *et al.*, 2014).

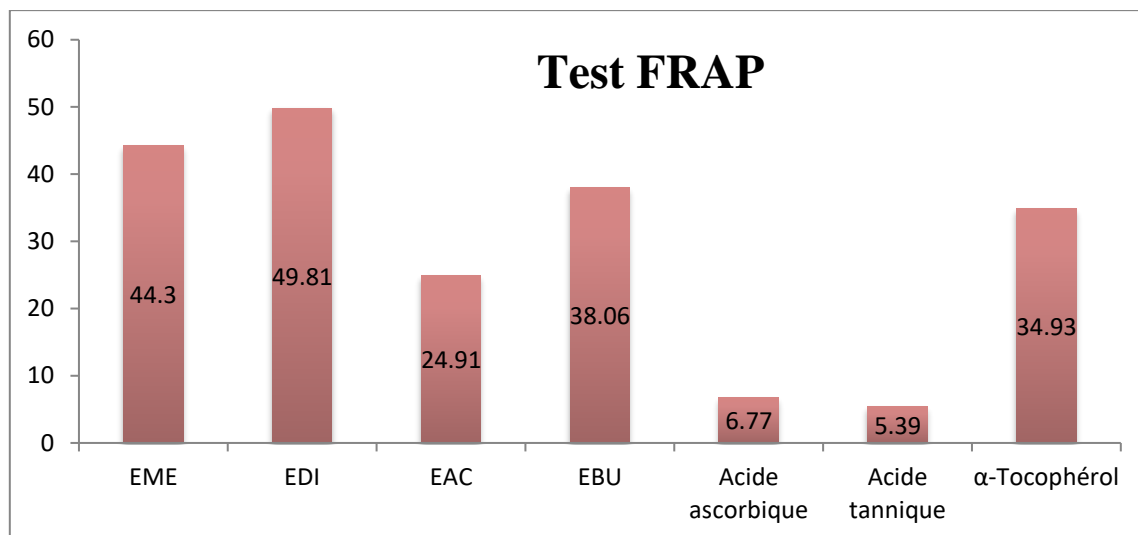


Figure 19 : Histogramme des $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenus par le test du pouvoir réducteur FRAP.

Nos résultats révèlent que l'extrait acétate d'éthyle est le plus actif avec une $A_{0.50}$ de $24,91 \pm 7,13$ $\mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait buthanolique avec une $A_{0.50}$ de $38,06 \pm 6,34$ $\mu\text{g/ml}$. Les extraits dichlorométhane et du méthanolique sont les plus faibles avec des valeurs de $A_{0.50}$ de $49,81 \pm 0,22$ et $44,30 \pm 3,18$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. En comparaison avec les standards l'acide ascorbique, l'acide Tannique et l' α -Tocophérol dont les $A_{0.50}$ sont de $6,77 \pm 1,15$, $5,39 \pm 0,91$ et $34,93 \pm 2,387$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement, tous les extraits montrent une activité antioxydante inférieure sauf pour l'extrait acétate d'éthyle dont l'activité antioxydante est plus importante que celle de l' α -Tocophérol.

III.2.2. Le test phénanthroline

La méthode phénanthroline est une méthode appliquée pour mesurer la capacité antioxydante totale des antioxydants. Cette méthode est basée sur la réduction de Fe^{+3} par un agent antioxydant pour donner l'ion Fe^{+2} qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge orangé, et qui absorbe à 510 nm (Szydłowska-Czerniaka *et al.*, 2008).

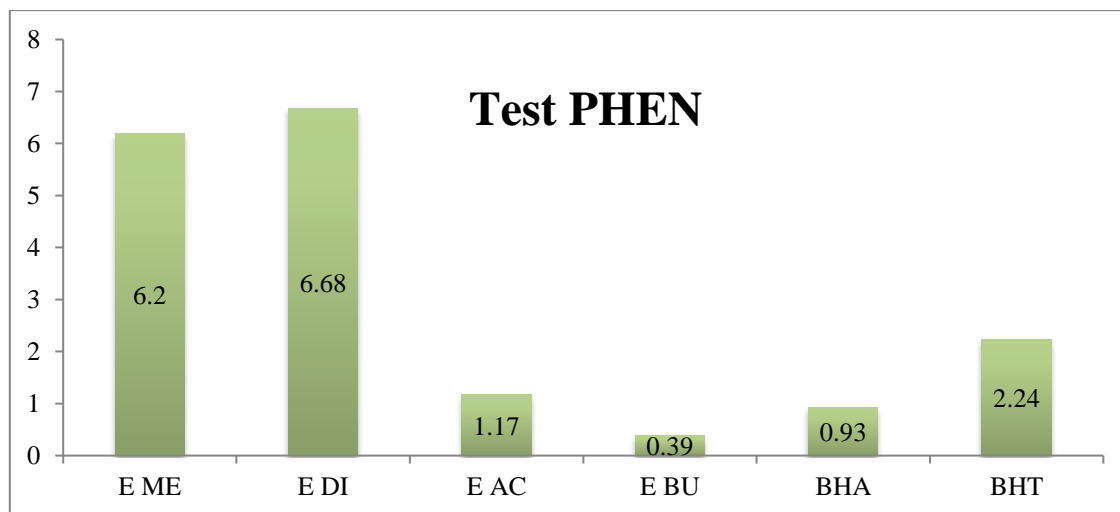


Figure 20 : Histogramme des $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenues avec le test phénanthroline.

Nos résultats révèlent que les deux extraits buthanolique et d'acétate d'éthyle sont les extraits les plus actifs avec des $A_{0.50}$ de 0,390 et $0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$, respectivement, alors que les extraits du méthanol et du dichlorométhane, sont les plus faibles avec les valeurs de $A_{0.50}$ de $6,20 \pm 0,68$ et $6,68 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$, respectivement. En comparaison avec les standards BHA et BHT dont les $A_{0.50}$ sont de $0,93 \pm 0,07$ et $2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$, respectivement, seulement les deux extraits buthanolique et d'acétate d'éthyle montrent une activité antioxydante plus importante.

III.2.3. Le test CUPRAC

La méthode CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) est largement utilisée pour mesurer l'activité antioxydante. Elle est basée sur la réduction en présence d'un agent antioxydant du complexe néocuproéne (NC)- cuivre (Cu^{+2}) de couleur bleu en complexe Nc-Cu^+ de couleur jaune-orangé qui absorbe à 450 nm (Apak *et al.*, 2007).

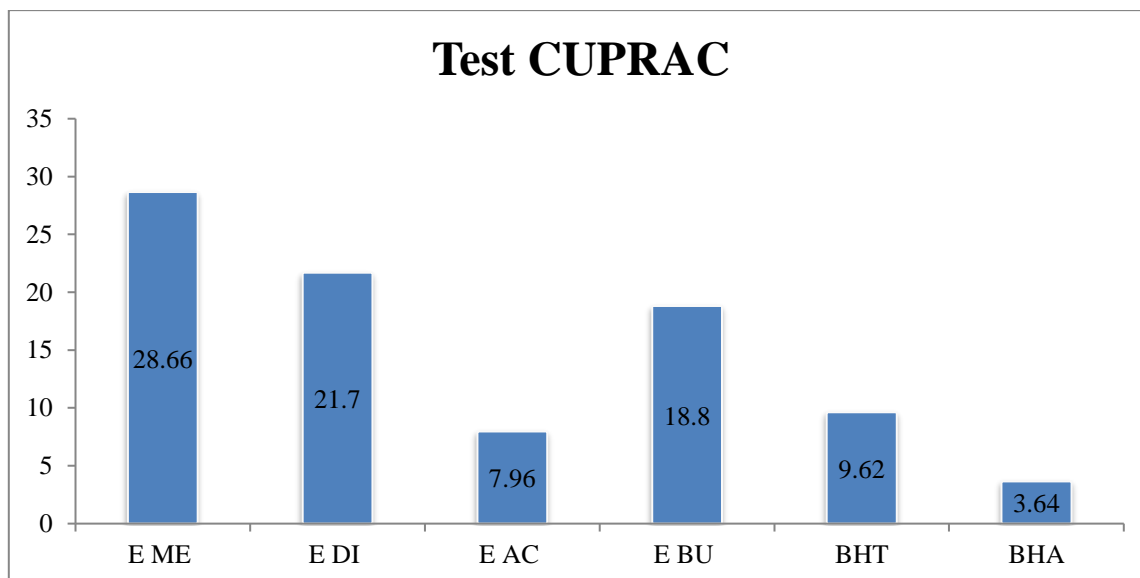


Figure 21 : Histogramme d' $A_{0.50}$ des extraits et standards obtenues avec le test CUPRAC.

Nos résultats révèlent que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus actif avec une $A_{0.50}$ de l'ordre de $7,96 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait buthanolique avec une $A_{0.50}$ de $18,80 \pm 0,68 \mu\text{g/ml}$. Les deux extraits du dichlorométhane et du méthanol sont les plus faibles avec des valeurs d' $A_{0.50}$ de $21,70 \pm 0,52$ et $28,66 \pm 1,92 \mu\text{g/mL}$, respectivement. En comparaison avec les standards BHT et BHA dont les $A_{0.50}$ sont de 9.62 ± 0.87 et $3.64 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$, respectivement, tous les extraits montrent une activité antioxydante modérée. Cependant, l'activité de l'extrait d'acétate d'éthyle est plus importante que celle du BHT.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Notre travail porte sur l'étude de l'espèce *Artemisia campestris* qui appartient à la famille des Astéracées, l'une des familles les plus importantes dans la région méditerranéenne, et la plus utilisée dans la médecine traditionnelle.

L'activité antioxydante des différents extraits testés a été évaluée par les méthodes DPPH, ABTS, GOR, le pouvoir réducteur (FRAP), phénanthroline et CUPRAC. Une quantification des composés phénoliques (phénols et flavonoïdes) a également été réalisée.

Les résultats obtenus durant cette étude nous ont permis de conclure que :

- Le rendement de l'extrait brut est de 20.16%. Parmi les rendements des différentes fractions, celui de la fraction butanolique est le plus élevé avec une valeur de 4.24%. Le pourcentage de la fraction dichlorométhanique et acétate d'éthyle sont de l'ordre de 1.36 et 0.56%, respectivement.
- La quantification des polyphénols totaux réalisés par la méthode de Folin-Ciocalteu révèle une teneur plus élevée en polyphénols totaux dans l'extrait EDI avec une valeur de 747.04 $\mu\text{gEAG/mg}$. Les teneurs des extraits EBU et EAC sont de 526.75 et 661.25 $\mu\text{gEAG/mg}$, respectivement. Cependant, pour l'extrait brut la quantité des composés polyphénoliques totaux est de 692.82 $\mu\text{gEAG/mg}$.
- ❖ Le dosage des flavonoïdes a montré une forte teneur dans l'extrait EDI avec 74.86 $\mu\text{gEQ/mg}$, suivi par l'extrait EAC avec une teneur de 61.24 $\mu\text{gEQ/mg}$. Par ailleurs, l'extrait brut contient 132.87 $\mu\text{g/mg}$.
- ❖ L'étude de l'activité antioxydante avec les différentes méthodes utilisées a montré que nos extraits ont plus ou moins un puissant pouvoir antioxydant. Les résultats les plus significatifs sont observés avec l'extrait d'acétate d'éthyle avec un CI_{50} de l'ordre de $5,70 \pm 0,40 \mu\text{g/ml}$ pour l'ABTS, et avec des valeurs de $A_{0.5}$ de $0,90 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$, de $24,91 \pm 7,13 \mu\text{g/ml}$ et de $7,96 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$ pour le test phénanthroline, le test du pouvoir réducteur et le test CUPRAC, respectivement. Certains de nos extraits présentent dans certains tests une activité antioxydante plus élevée que celle des standards.

Il serait intéressant d'approfondir notre étude afin de la compléter, par :

- La purification des extraits par des techniques chromatographique, et d'identifier la structure exacte des métabolites en utilisant des techniques plus sophistiqués telles que la spectrométrie de masse.
- Tester l'activité enzymatique des extraits en utilisant les différents enzymes *in vitro* (Alpha amylase, acétycholineésterase).
- Séparer et identifier les autres métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les quinones, les tanins (catéchique et vrais), les saponines, les stérols et les polyterpènes.
- Effectuer d'autres activités biologiques *in vitro* telles que l'activité antivirale, l'activité antimicrobienne, l'activité anti alzheimer et l'activité antidiabétique
- Faire des essais *in vivo* concernant l'activité antalgique, anti-inflammatoire, antivirale et anticancéreuse.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références

- Akrouf, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., et Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology* , 342–347.
- Bouallala, M., Bradai, L., & Abid, M. (2014). Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Case de la région du Souf. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes* , 2, 18 – 26.
- Dib, I., & El Alaoui-Faris, F. (2018). *Artemisia campestris* L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (109), 1884–1906.
- Al-Snafi, A. I. (2015). the pharmacological importance of *artemisia campestris*. *Asian J. Pharm. Res* , 5 (2), 88-92 .
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., *et al.* (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces du thym du maroc. *Acta Botanica Gallica* , 158 (4), 513-523.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., *et al.* (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* , 12, 1496-1547.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 52, 7970–7981.
- Bakchiche, B., & Gherib, A. (2014). Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d’Algérie. *International Journal of Innovation and Applied Studies* , 9 (1), 167-172.
- Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d’espèces méditerranéennes d’intérêt pharmacologique. *Biologie végétale*. Université Jea.
- Benaraba, R. (2007). Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III). 1/246.
- Benchelah, A. C., Bouziane, H., & Maka, M. (2004). Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. (6), 191-197.

- Bencheqroun, H., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., et Chaouch, A. (2012). Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège , 81 , 4-21.
- Ben-Nasr, H., Salama, M., Ksouda, K., Zeghal, K. M., et Hammami, S. (2014). Hemodynamic effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* in adult men. Applied Pharmaceutical Science, , 4 (04), 038-042.
- Bensakhria, A. (2018). Toxicologie Générale , Le Stress Oxydatif , RechercheGate ,70-86.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. researchGate , 1-8.
- Boudjouref, B. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris*. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie Option: Biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie,. 1-78.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales 4eme édition.Paris : Tec & Doc 937-938, 261, 442-444.
- Crozier, A., Clifford, M. N. et Hiroshi, A. (2006). Plant Secondary Metabolites : Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. p2.
- Dib, I., Angenot, L., Mihamou, A., Ziyyat, A., et Tits, M. (2016). *Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. herbal medicine , 6-46.
- Djemai, Z. (2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.
- Doat, J. (1978). Les tanins dans les bois tropicaux. Bois et forêts des tropiques , 182 , 37-54 .
- Favier, A. (2003) le stress oxydant, Actual. Chim.,108–115.
- Garait, B. (2006). Le Stress Oxydant Induit Par Voie Metabolique (Regimes Alimentaires) Ou Par Voie Gazeuse (Hyperoxie) Et Effet De La Glisodin. Biologie cellulaire .Université Joseph-Fourier. Grenoble I.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique .
- Gast, M. (1989). Armoise. Encycl. berbère, 6, 905-908.
- Ghrib. (2009). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp.sahariensis; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coll. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister Option: Substances naturelles, Activités biologiques et synthèse, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen Faculté des Sciences, Algérie,. 1-111.

- Goudable, J., et Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants, *Nutr Clin Métabol* 11:115-20 .
- Gravot, A. (2008). Support de cours sur le métabolisme secondaire (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV) Université de Rennes 1 – L2 UE PHR.
- Guillaume, J. (2008). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbiacharacias L.*
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Charlier, C., & Chapelle, J. (2007). Le stress oxydant. *Med Liege* , 62 ,10 , 628-63.
- Judzentiene, A., Budiene, J., Butkiene, R., Kupcinskiene, E., Laffont-Schwob, I., & Masotti, V. (2010). Caryophyllene Oxide-rich Essential Oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. *campestris* and Their Toxicity. *Natural Product Communications* , 5 (12), 1981 - 1984.
- Lavoisier. Le préparateur en pharmacie 2eme édition .coordonnateurs.page 1165,1174.2013
- Lee, k. w., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher. *J. Agric. Food Chem* , 51 (25), 7292-7295.
- Lutge, U., Kluge, M., & Bauer, G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.Lavoisier . Paris.
- Macheix, J. J., fleuriet, A., & Billot, J. (1990). Fruit phenolics.CRC press,Boca Raton.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant , médecine/sciences ; 27 : 405-12.
- Morand, C. (2014). Micro-constituants, oligoéléments et peptides bioactifs : leurs effets en pathologie cardio-métabolique : Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardio-métabolique.
- Moussaoui, B. (2010). Etude de l'effet de l'extrait de la plaante d'*artemesia campestris* sur les cellules tumorales et son role dans la protection du stress oxydatif induit par la cisplatine , Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biologie cellulaire et moléculaire Option: toxicologie cellulaire , Université Mentouri Constantine, Algerie., 1-143.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology* , 43, 992–999.
- Zaabat, N. , Darbour, N. ,Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordheim, A., Chekir-Ghedira, L., Akkal, S., Dijoux-Franca, M.-G. (2010). Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé,une Lamiaceae endémique algérienne. *Phytothérapie* , 8, 353–358.
- Nagendran, B., Kalyana, S., et samir, S. (2006). phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses.*foodchemitry*; 99:191-203.

- Noureddine, A., Saidat, B., Bakchiche, B., et Maatallah, M. (2015). Comparative study of antioxidant activity index by the tests of cerium and DPPH :Application on three local medicinal plants. *Innovative Space of Scientific Research Journals* , 13 (3), 681-690.
- Ou, J., Wang, M., Zheng, J., & Ou, S. (2019). Positive and negative effects of polyphenol incorporation in baked foods, *Food Chemistry* ,1-48.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* , 44, 307–315.
- Pereira, C. G., Barreira, L., Bijttebier, S., Pieters, L., Marques, C., Santos, T. F., *et al.* (2018). Health promoting potential of herbal teas and tinctures from *Artemisia campestris* subsp.maritima: from traditional remedies to prospective products. *Scientific reports* .
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. 63: 1035-1042.
- Quezel et Santa. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Paris: CNRS, 571-1170.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med* , 26, 1231–1237.
- Reitzer, F., Vincent, Allais, M., et Florent, M. (2007). Polyphenols at interfaces , *Advances in Colloid and Interface Science* , 1-51.
- Sabeg, K et Ghouar, M. (2018). Étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Master En Biochimie Option: Biochimie des Molécules bioactives et leurs applications, Université L'arbi ben Mhidi Oum El bouaghi, Algérie, 1-30.
- Saihi, R. (2011). Etude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante *artemesia campestris* de la région djelfa. mise en évidence de l'activité biologique . Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en chimie Option: chimie organique , Université d'Oran, Algérie,. 1-67.
- Sefi, M., Troudi, A., Ben Hamida, F., Soudani, N., Boudawara, T., et Zeghal, N. (2013). Protective effects of *Artemisia campestris* upon fenthion-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny. *Gen. Physiol. Biophys* , 577–588.
- Shang, Y. J., LIU, B. Y., et Zhao, M. M. (2015). Details of the Antioxidant Mechanism of Hydroxycinnamic Acids. *Food Chemistry and Safety* , 33 (3), 210–216.
- Shavandi, A., Bekhit, A. A.-D., Pouya, S., Izadifar, Z., Bekhit, A. A., et Khademhosseini, A. (2018). Polyphenol uses in Biomaterials Engineering, *Biomaterials*.
- Shi, H., Noguchi, N., et Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymol* , 335, 157-66.
- St-Louis, R. (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. *Neurosciences [q-bio.NC]*. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.

Stoclet, J. C. (2011). Flavonoïdes alimentaires et santé humain. *Annales Pharmaceutiques Françaises* , 69,78-90.

Su, Y., Song, H., & Lv, Y. (2018). Recent advances in chemiluminescence for reactive oxygen species sensing and imaging analysis. *Microc* .

Szydłowska-Czerniaka, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* , 76, 899-905.

Takshak, S., et Agrawal, S. B. (2019). Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*.

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

Topçu, G., Ay, A., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., et Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* , 103, 816–822.

Annexes

Tableau 16: Absorbance de la gamme d'acide gallique.

[C] µg/ml	Ab1	Ab2	Ab3	Moyenne ± ET
200	0.772	0.757	0.796	0.78
175	0.678	0.718	0.689	0.7
150	0.622	0.59	0.614	0.61
125	0.544	0.55	0.567	0.55
100	0.442	0.445	0.448	0.45
75	0.353	0.353	0.361	0.36
50	0.281	0.274	0.278	0.28
25	0.152	0.188	0.197	0.18

Tableau 17: Absorbance de la gamme de la quercétine.

[C] ug/ml	Ab1	Ab2	Ab3	Moyenne ± ET
200	0.977	0.935	0.963	0.96
175	0.818	0.892	0.846	0.85
150	0.717	0.78	0.733	0.74
125	0.553	0.614	0.58	0.58
100	0.467	0.507	0.484	0.49
75	0.386	0.33	0.374	0.36
50	0.277	0.258	0.267	0.27
25	0.119	0.131	0.153	0.13

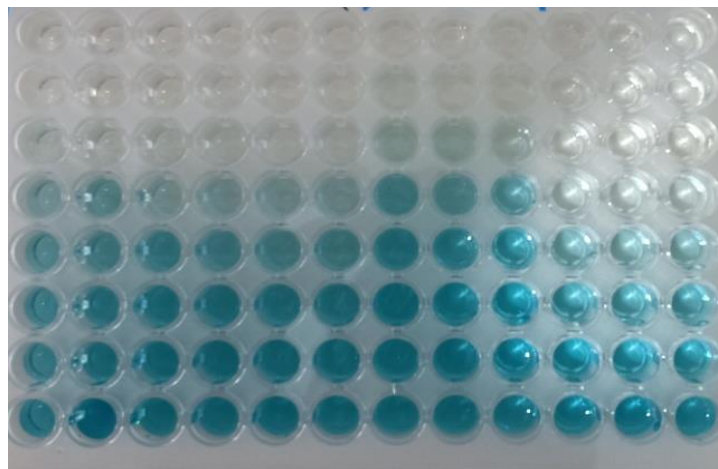


Figure 22 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire ABTS.

Tableau 18 : Pourcentage d'inhibition et la CI_{50} pour l'ABTS.

Extrait	Test ABTS						
	1.5625 μ g	3.125 μ g	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g
EME	13,38 \pm 0,57	21,75 \pm 1,28	34,93 \pm 2,06	56,72 \pm 10,73	88,19 \pm 2,82	93,48 \pm 0,00	93,76 \pm 0,28
EDI	13,67 \pm 0,75	24,96 \pm 1,10	42,26 \pm 2,68	65,88 \pm 0,78	88,80 \pm 1,78	92,68 \pm 0,30	93,15 \pm 0,16
EAC	14,90 \pm 3,26	33,80 \pm 1,84	57,90 \pm 2,70	81,95 \pm 1,00	91,02 \pm 0,16	92,63 \pm 0,14	93,05 \pm 0,14
EBU	7,34 \pm 2,82	12,20 \pm 0,64	25,58 \pm 0,75	42,02 \pm 3,41	75,66 \pm 3,30	90,31 \pm 2,44	93,24 \pm 0,08
BHT	35.61 \pm 0.75	58.56 \pm 3.22	75.57 \pm 8.07	92.29 \pm 1.60	93.15 \pm 0.19	94.06 \pm 0.63	91.31 \pm 0.26
BHA	31.47 \pm 1.60	34.13 \pm 1.31	40.28 \pm 2.88	49,71 \pm 0.12	63.72 \pm 2.02	78.52 \pm 0.80	88.81 \pm 0.37
CI_{50}							
E ME	E DI	E AC	E BU	BHT	BHA		
11,01 \pm 0,99	8,03 \pm 0,80	5,70 \pm 0,40	15,45 \pm 0,74	1.55 \pm 0.26	7.54 \pm 0.67		

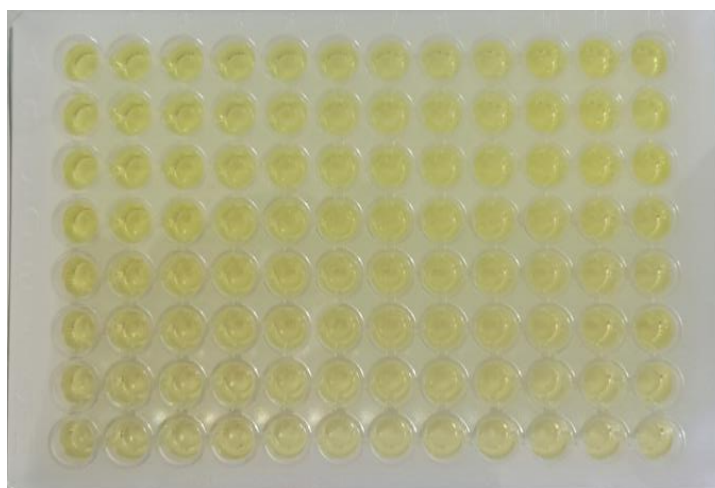


Figure 23 : Profil de la microplaquette de dosage de l'activité anti-radicalaire (GOR).

Tableau 19: Pourcentage d'inhibition et la CI_{50} pour le test GOR.

Extrait	Test GOR						
	1.5625	3.125 μ g	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g
EME	1,99 \pm 0,95	6,68 \pm 1,11	16,10 \pm 0,62	43,16 \pm 2,49	71,31 \pm 0,73	73,50 \pm 0,10	74,31 \pm 0,21
EDI	2,15 \pm 1,18	8,99 \pm 1,01	19,82 \pm 2,50	47,63 \pm 1,44	71,09 \pm 0,68	74,98 \pm 0,45	75,39 \pm 0,10
EAC	1,17 \pm 2,23	6,25 \pm 1,07	21,52 \pm 1,12	45,64 \pm 2,58	69,32 \pm 0,64	74,56 \pm 0,18	77,42 \pm 0,61
EBU	4,25 \pm 1,06	7,17 \pm 0,64	8,61 \pm 0,53	22,40 \pm 1,47	65,77 \pm 3,52	70,18 \pm 0,26	71,02 \pm 0,85
BHT	34,66 \pm 2,62	49,23 \pm 0,77	61,29 \pm 0,69	68,89 \pm 0,26	70,02 \pm 0,50	70,49 \pm 0,55	71,13 \pm 0,74
BHA	25,99 \pm 2,56	39,15 \pm 0,88	54,16 \pm 0,27	65,02 \pm 1,26	70,19 \pm 0,51	70,32 \pm 0,65	70,60 \pm 0,10
CI_{50}							
EME	EDI	EAC	EBU	BHT	BHA		
16,86 \pm 0,23	16,04 \pm 0,47	16,42 \pm 0,44	20,33 \pm 0,73	3,32 \pm 0,18	5,38 \pm 0,06		

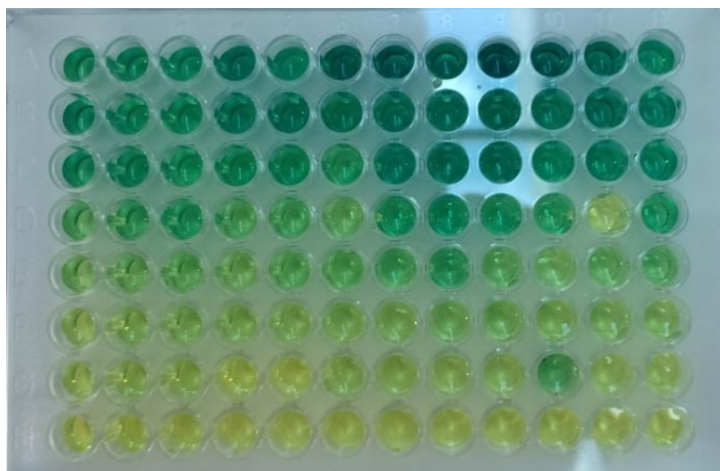


Figure 24: Profil de la microplaque de dosage de l'activité du pouvoir réducteur FRAP.

Tableau 20: Pourcentage d'inhibition et $I_{A_{0.5}}$ pour le test pouvoir réducteur FRAP.

Extrait	Test FRAP						
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg
EME	0,13 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,28 \pm 0,00	0,38 \pm 0,01	0,55 \pm 0,06	0,60 \pm 0,03	0,70 \pm 0,05
EDI	0,07 \pm 0,05	0,14 \pm 0,02	0,27 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,53 \pm 0,00	0,77 \pm 0,17	1,01 \pm 0,13
EAC	0,11 \pm 0,02	0,19 \pm 0,03	0,32 \pm 0,12	0,56 \pm 0,07	0,79 \pm 0,09	0,80 \pm 0,02	1,53 \pm 0,70
EBU	0,17 \pm 0,14	0,18 \pm 0,01	0,25 \pm 0,03	0,44 \pm 0,05	0,64 \pm 0,08	0,88 \pm 0,13	1,34 \pm 0,13
Acide ascorbique	0,35 \pm 0,05	0,46 \pm 0,03	0,84 \pm 0,12	0,93 \pm 0,30	1,18 \pm 0,34	1,37 \pm 0,20	1,44 \pm 0,21
acide tannique	0,28 \pm 0,02	0,78 \pm 0,06	1,02 \pm 0,07	1,24 \pm 0,18	0,86 \pm 0,6	1,01 \pm 0,21	1,02 \pm 0,13
α -Tocophérol	0,11 \pm 0,00	0,16 \pm 0,00	0,21 \pm 0,03	0,35 \pm 0,03	0,73 \pm 0,03	1,37 \pm 0,08	1,81 \pm 0,09
$A_{0.5}$							
EME	EDI	EAC	EBU	Acide ascorbique	Acide tannique	α -Tocophérol	
44,30 \pm 3,18	49,81 \pm 0,22	24,91 \pm 7,13	38,06 \pm 6,34	6,77 \pm 1,15	5,39 \pm 0,91	34,93 \pm 2,38	

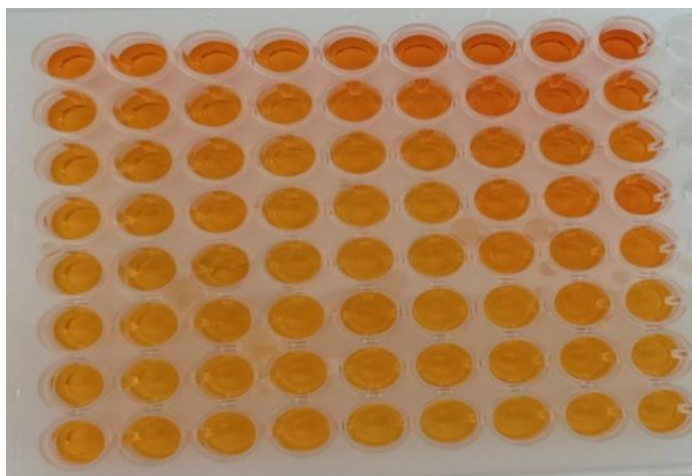


Figure 25 : Profil de la microplaquette de dosage de l'activité anti-radicalaire du test phénanthroline

Tableau 21: Pourcentage d'inhibition et l' $A_{0,5}$ pour le test phénanthroline

Extrait	Test phénanthroline								
	0,390625	0,78125	1,5625	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	$A_{0,5}$ $\mu\text{g/mL}$
EME	0,39 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02	0,41 \pm 0,00	0,45 \pm 0,01	0,51 \pm 0,01	0,59 \pm 0,01	0,83 \pm 0,01	NT	6,20 \pm 0,68
EDI	0,38 \pm 0,01	0,39 \pm 0,00	0,40 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,48 \pm 0,02	0,68 \pm 0,01	0,89 \pm 0,13	NT	6,68 \pm 0,19
EAC	0,43 \pm 0,00	0,49 \pm 0,01	0,56 \pm 0,02	0,63 \pm 0,02	0,67 \pm 0,04	0,91 \pm 0,05	1,07 \pm 0,03	NT	1,17 \pm 0,33
EBU	0,57 \pm 0,03	0,65 \pm 0,00	0,67 \pm 0,05	0,79 \pm 0,02	0,85 \pm 0,04	0,95 \pm 0,05	0,99 \pm 0,00	NT	<0,390625
BHA	NT	0,49 \pm 0,01	0,59 \pm 0,01	0,73 \pm 0,02	0,93 \pm 0,01	1,25 \pm 0,04	2,10 \pm 0,05	4,89 \pm 0,06	0,93 \pm 0,07
BHT	NT	0,47 \pm 0,01	0,47 \pm 0,01	0,53 \pm 0,03	1,23 \pm 0,02	1,84 \pm 0,01	3,48 \pm 0,03	4,84 \pm 0,01	2,24 \pm 0,17

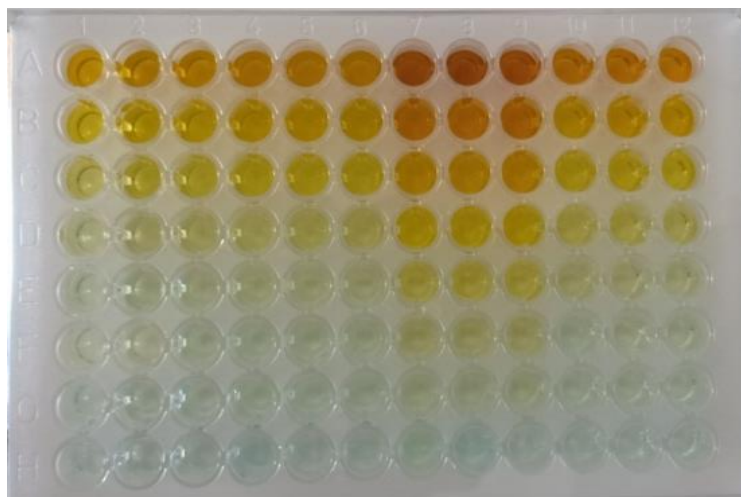


Figure 26 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire du test CUPRAC.

Tableau 22: Pourcentage d'inhibition et l' $A_{0.5}$ pour le test CUPRAC.

Extrait	Test CUPRAC							
	1.5625 μ g	3.125 μ g	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	$A_{0.5}$ μ g/mL
EME	0,10 \pm 0,00	0,17 \pm 0,06	0,17 \pm 0,00	0,27 \pm 0,02	0,48 \pm 0,03	0,80 \pm 0,04	1,60 \pm 0,17	28,66 \pm 1,92
EDI	0,11 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02	0,59 \pm 0,01	1,06 \pm 0,02	1,59 \pm 0,08	21,70 \pm 0,52
EAC	0,17 \pm 0,01	0,27 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,74 \pm 0,04	1,29 \pm 0,05	2,01 \pm 0,08	3,13 \pm 0,11	7,96 \pm 0,29
EBU	0,13 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	0,24 \pm 0,01	0,37 \pm 0,02	0,64 \pm 0,01	1,14 \pm 0,08	2,02 \pm 0,05	18,80 \pm 0,68
BHT	0,11 \pm 0,04	0,19 \pm 0,01	0,33 \pm 0,04	0,66 \pm 0,07	1,03 \pm 0,07	1,48 \pm 0,09	2,04 \pm 0,14	9,62 \pm 0,87
BHA	0,23 \pm 0,07	0,46 \pm 0,00	0,78 \pm 0,01	1,34 \pm 0,08	2,36 \pm 0,17	3,45 \pm 0,02	3,76 \pm 0,03	3,64 \pm 0,19

Résumé

Résumé

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique, dichlorométhanique, acétate d'éthyle et butanolique de la plante médicinale *Artemisia campestris*. L'activité antioxydante est réalisée en utilisant six méthodes à savoir, le piégeage du radical DPPH, le piégeage du radical-cation ABTS . La réduction du radical GOR, le test du pouvoir réducteur FRAP, le test du phénantroline et le test CUPRAC. L'étude de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de ces extraits a été également réalisée. Les résultats ont montré que les extraits méthanolique, dichlorométhanique, acétate d'éthyle et butanolique ont une activité antioxydante plus ou moins en piégeant les radicaux libres par comparaison avec les standards BHT, BHA. Ces résultats sont en corrélation avec les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. Donc, notre étude a montré que la plante médicinale *Artemisia campestris* est très riche en composés phénoliques et présente une bonne activité antioxydante. Ces résultats nous permettent de dire que la plante pourrait être utilisée comme une source potentielle de molécules bioactives piègeurs d'espèces réactives à l'oxygène et d'autres radicaux libres, réduisant ainsi les effets du stress oxydatif.

Mots clés : *Artemisia campestris*, activité antioxydante, teneur en polyphénols, teneur en flavonoïdes, stress oxydatif, espèces réactives de l'oxygène, radicaux libres.

الملخص

هذا العمل هو مساهمة في تقييم نشاط مضادات الأكسدة في مستخلصات الميثانول، الديكلوروميثان، أسيتات إيثيل و البوتانول من النبتة الطبية *Artemisia campestris* يتم تنفيذ نشاط مضادات الأكسدة باستخدام ستة طرق هي اختبار: CUPRAC, FRAP, GOR, ABTS, DPPH واختبار فينانترولين كما أجريت دراسة على محتوى البوليفينول والفلافونويد في هذه المستخلصات. أظهرت النتائج أن مستخلصات الميثانول، ديكلورو ميثان، إيثيل الأسيتات والبيوتانول لها نشاط مضادات الأكسدة بشكل أو بآخر عن طريق محاصرة الجذور الحرة مقارنة بمعايير BHT, BHA ترتبط هذه النتائج بمستويات البوليفينول والفلافونويد. لذلك، أظهرت دراستنا أن النبتة الطبية *Artemisia campestris* غنية جداً بالمركبات الفينولية ولها نشاط مضاد للأكسدة جيد. نتيج لنا هذه النتائج أن نقول إنه يمكن استخدام النبتة كمصدر محتمل للجزيئات النشطة حيويًا التي تحبس الأنواع المتفاعلة بالأكسجين وغيرها من الجذور الحرة، مما يقلل من آثار الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية : *Artemisia campestris*، نشاط مضادات الأكسدة، محتوى البوليفينول، محتوى الفلافونويد، الإجهاد التأكسدي، أنواع الأكسجين التفاعلية، الجذور الحرة.

Summary

This work is a contribution to the evaluation of the antioxidant activity of the methanolic, dichloromethane, ethyl acetate and butanolic extracts of the medicinal plant *Artemisia campestris*. The antioxidant activity is carried out using six methods namely, DPPH radical scavenging, ABTS radical-cation trapping, Reduction of the GOR radical, FRAP reducing power test, phenanthroline test and CUPRAC test. The study of the polyphenol and flavonoid content of these extracts was also evaluated. The results showed that the methanolic, dichloromethane, ethyl acetate and butanolic extracts have more or less antioxidant activity by trapping the free radicals compared with the BHT and BHA standards. These results correlate with polyphenol and flavonoid content. So, our study showed that the medicinal plant *Artemisia campestris* is very rich in phenolic compounds and has a good antioxidant activity. These results allow us to say that the plant could be used as a potential source of bioactive molecules trapping oxygen-reactive species and other free radicals, by reducing the effects of oxidative stress.

Key words: *Artemisia campestris*, antioxidant activity, polyphenol content, flavonoid content, oxidative stress, reactive oxygen species, free radicals.

Présenté par : ZERZAIHI OUSSAMA AIMEN

Année universitaire : 2018/2019

BOUDJELAL KAMEL

Etude de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia campestris* de la région désertique méridional (Tassili /Hoggar)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique, dichlorométhanique, acétate d'éthyle et butanolique de la plante médicinale *Artemisia campestris*. L'activité antioxydante est réalisée en utilisant six méthodes à savoir, le piégeage du radical DPPH, le piégeage du radical-cation ABTS . La réduction du radical GOR, le test du pouvoir réducteur FRAP, le test du phénantroline et le test CUPRAC. L'étude de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de ces extraits a été également réalisée. Les résultats ont montré que les extraits méthanolique, dichlorométhanique, acétate d'éthyle et butanolique ont une activité antioxydante plus ou moins en piégeant les radicaux libres par comparaison avec les standards BHT, BHA. Ces résultats sont en corrélation avec les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. Donc, notre étude a montré que la plante médicinale *Artemisia campestris* est très riche en composés phénoliques et présente une bonne activité antioxydante. Ces résultats nous permettent de dire que la plante pourrait être utilisée comme une source potentielle de molécules bioactives piègeurs d'espèces réactives à l'oxygène et d'autres radicaux libres, réduisant ainsi les effets du stress oxydatif.

Mots clés : *Artemisia campestris*, activité antioxydante, teneur en polyphénols, teneur en flavonoïdes, stress oxydatif, espèces réactives de l'oxygène, radicaux libres.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie (C.R.Bt.)

Jury d'évaluation :

Président du jury: Dr KITOUNI Rachid (M.C.B - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mr. KASHI I. (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine).

Co-Rapporteur : Mr. RAHMANI A. (Attaché de recherche-C.R.Bt.Constantine).

Examineur : Dr BENSOUICI Chawki (M.R.B – C.R.Bt. Constantine).

Date de soutenance : 25/07/2019