

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : **Lamouri kheireddine**

Benmesbah Lydia

Intitulé

*Evaluation de l'activité antioxydante
d' Artemesia campestris L*

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Guesmia Khawkha

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Président

Mme Bouaziz Samia

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Rapporteur

Dr. Bouhedda Amina

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Année universitaire : 2021 /2022

DEDICACE

Avant tout je me posterne devant le tout puissant Allah de m'avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Ma première source d'amour et de force , à savoir mes parents

A ma mère Dahbia qui oeuvrée pour ma réussite , de par son amour , son soutien , tous les sacrifices et ses précieux conseils, pour toute sa présence dans ma vie

A mon père Tahar , qui peut être très fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices merci pour les valeurs nobles , l'éducation et le soutien permanent provenant de toi

Mes frères Fouad et Walid

A ma tante Saadia

A ma cousine Yamina et ses filles

A mon cousin Meziane

A ma chère amie karima

Ceux qui m'ont toujours aimé, encouragés et soutenus tout le long de ma vie

A mon binôme Lamouri Kheireddine.

A tous mes amies(e) qui ont été toujours près de moi dans les moments de peine et les moments de joie notamment : Herizi Chamese eddine , Nour EL Houda, Samia, Bouchra, Dounia, Safia.

A tous les enseignants et enseignantes du Département de Microbiologie & Biochimie.

Benmesbah Lydia

DEDICACE

Alhamdoulillah, Qui m'a sauvé et aidé dans ma carrière universitaire.

Je dédie donc ce modeste travail

A mes très chers parents.

À mon cher père Ali qui m'a soutenu et m'a donné soin, soutien et force Et m'a soutenu pour prolonger ma carrière universitaire.

À ma chère mère Akila qui m'a donné de l'amour, des soins et de la tendresse

A mes Chers frères Ramzi et Abd el Djalil qui m'ont soutenu et encouragé à réussir mes études

À ma chère sœur Safa

À mon binôme qui m'a soutenue dans ce travail, Lydia

À tous les professeurs du Département de Microbiologie & Biochimie

Lamouri Kheireddine



REMERCIEMENT

Je remercie DIEU tout puissant, maitre des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail

Nous remercions également tous les enseignants et les enseignantes du Département des sciences, Département de Microbiologie & Biochimie et collègues de master biochimie appliquée promotion 2022.

Nos remerciements s'adressent en particulier à Mme : Bouaziz Samia, encadrante de notre mémoire de master, qu'elle est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration , l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nos consacrer et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nos remerciements vont également aux membres du jury qui nous ont donné de leur temps pour lire et évaluer ce modeste mémoire.

Nous remercions vivement le responsable des laboratoires Mr Sghiri Kamel et toute l'équipe des laboratoires de notre département .

Enfin , nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail .

Lydia & Kheireddine

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Listes des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : *Artemisia campestris* L et métabolites secondaires

1. Généralité.....	3
2. Description botanique.....	3
3. Systématique de la plante.....	4
4. Origine et distribution.....	5
5. Composition chimique.....	5
6. Répartition géographique.....	5
7. Utilisations d' <i>Artemisia campestris</i> en médecine traditionnelle.....	6
8. Activités biologiques.....	7
9. Métabolites secondaires.....	8
9.1 Les Polyphénols.....	9
9.2 Classification.....	10
9.2.1 Les acides phénoliques.....	10
9.2.2 Les Flavonoïdes.....	11
9.2.3 Les tanins.....	14

Chapitre II : Le stress oxydatif

1. Le stress oxydatif.....	16
1.1. Définition.....	16

1.2.	Conséquences du stress oxydatif.....	16
2.	Les radicaux libres.....	17
2.1.	Définition.....	17
2.2.	Source des radicaux libres.....	18
2.2.1.	Sources endogènes.....	18
2.2.2.	Sources exogènes.....	18
3.	L'oxydation.....	20
4.	Les anti-oxydants.....	20
4.1	Définition des anti-oxydants.....	20
4.2	Mode d'action	20
4.3.	Classification des antioxydants.....	21
4.3.1.	Les anti-oxydants enzymatiques.....	21
4.3.2.	les anti-oxydants non enzymatiques.....	22
5.	Utilisations des anti-oxydants.....	23

Chapitre III : *Matériels et Méthodes*

1.	Matériel.....	25
1.1	Matériel végétale.....	25
1.2	Réactifs.....	25
1.3	Matériels de laboratoire.....	25

2. Méthode	25
2.1. Extraction	25
2.1.1 Préparation de l'extrait méthanolique.....	25
2.1.2 Préparation de l'extrait aqueux... ..	26
3. Le rendement.....	27
4. Dosage	27
4.1. Dosage des polyphénols	27
4.2. Dosage des flavonoïdes	28
5. Evaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode de piégeage du radical libre du DPPH.....	28

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Le rendement d'extraction.....	29
2 . Dosage des polyphénols et flavonoïdes	30
3 . Évaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode de piégeage du radical libre du DPPH.....	32
Conclusion	36

Références bibliographique

ملخص

Artemisia campestris هو نبات طبي وعطري ينتمي إلى عائلة Asteraceae ، وهذا النوع المعروف باسم "Tgouft" ، منتشر في جنوب الجزائر. يحتل مكانًا مهمًا جدًا في الطب التقليدي مثل سكر الدم ومدر للبول ، فهو غني بالفلافونويد والأحماض الفينولية والتربينويدات ، والتي لها أنشطة بيولوجية مختلفة مثل: نشاط مضادات الأكسدة ، نشاط مبيدات الحشرات ، نشاط مضاد للميكروبات ، نشاط مضاد للالتهابات و نشاط مضاد للسرطان.

في هذه الدراسة تم الحصول على المستخلص المائي والميثانولي عن طريق الغلي والنقع على التوالي.

الحاصل: (6.4%) للاستخلاص المائي و (18.8%) للاستخلاص الميثانولي. أظهرت النتائج أن E.Meth هي الأغنى في البوليفينول والفلافونويد وقد تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-ciocalteu وهو (188.31 ± 28.23 ميكروغرام EAG / ميليغرام E ؛ 61.71 ± 12.85 ميكروغرام EAG / ميليغرام E) في المستخلصين الميثانولي والمائي على التوالي. تم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم (AlCl₃) ، وكان محتواها (0.93 ± 17.73 ميكروغرام EQ / ميليغرام E ؛ 6.225 ± 0.349 ميكروغرام EQ / ميليغرام E) في المستخلص الميثانولي والمائي على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة مسح الجذور الحرة DPPH. كشفت النتائج أن E.Meth لديه قدرة كبيرة على إزالة الجذور الحرة DPPH مع IC₅₀ من (8.231 ± 30.400 ميكروغرام / مل) من ناحية أخرى ، فإن E.Aq لها تأثير ضعيف مع IC₅₀ من (0.717 ± 81.631 ميكروغرام / مل) في حين أن المعيار المضاد للأكسدة BHT هو (1.157 ± 24.123 ميكروغرام / مل).

الكلمات المفتاحية : *Artemisia campestris* ، نشاط مضادات الأكسدة ، البوليفينول والفلافونويد ، DPPH

Abstract

Artemisia campestris is a medicinal and aromatic plant belonging to the Asteraceae family; known under the name "Tgouft". This plant is very widespread in southern Algeria and occupies a very important place in traditional medicine as a hypoglycemic, and diuretic, it is rich in flavonoids, phenolic acids, and terpenoids; these latter which have various biological activities such as: antioxidant activity, insecticidal activity, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity and anticancer activity.

In this study aqueous and methanolic extracts were obtained by decoction and maceration respectively.

The yields of extraction are: (6.4%) for aqueous extract and (18.8%) for methanolic extract. Our results reveal that E.Meth is the richest in polyphenols and flavonoids, The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-ciocalteu reagent, it is (188.31 ± 28.23 ug EAG/mg E; 61.71 ± 12.85 ug EAG/mg E) in both methanolic and aqueous extracts respectively. Flavonoids were evaluated using the aluminum trichloride method (AlCl₃), their content is 17.73 ± 0.93 ug EQ/mg E in the methanolic extract; and 6.225 ± 0.349 ug EQ/mg E in the aqueous extract. The antioxidant activity was evaluated using the DPPH free radical scavenging method. Our results reveal that E.Meth has a significant DPPH free radical scavenging capacity with IC₅₀ of $30,400 \pm 8,231$ µg/ml on the other hand the E.Aq has a weak effect with an IC₅₀ of 81.631 ± 0.717 µg/ml, while that of the standard antioxidant BHT is 24.123 ± 1.157 µg/ml.

Keywords: *Artemisia campestris*, polyphenols, flavonoids, Antioxidant activity, DPPH.

Résumé

Artemisia campestris est une plante médicinale et aromatique appartenant à la famille des astéracées ; connue sous le nom “Tgouff”. Cette plante est très répandue dans le sud algérien et occupe une place très importante dans la médecine traditionnelle en tant qu’hypoglycémiant, et diurétique, elle est riche en flavonoïdes, acides phénoliques, et terpénoïdes qui ont diverses activités biologiques telles que : l'activité anti-oxydante , l'activité insecticide , l'activité antimicrobienne , l'activité anti-inflammatoire et l'activité anticancéreuse.

Dans cette étude les deux extraits aqueux et méthanolique ont été obtenus par décoction et macération respectivement. Les rendements sont : (6.4%) pour l’extraction aqueuse et (18.8%) pour l’extraction méthanolique. Les résultats révèlent que l’E.Meth est le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes, la teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-ciocalteu, elle est de (188.31 ± 28.23 ug EAG/mg E ; 61.71 ± 12.85 ug EAG/mg E) dans les deux extraits méthanolique et aqueux respectivement. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode de trichlorure d’aluminium (AlCl₃), leur teneur est de

17.73 ± 0.93 ug EQ/mg E dans l'extrait méthanolique ; et 6.225± 0.349 ug EQ/mg E dans l'extrait aqueux. L’activité anti-oxydante a été évaluée en utilisant la méthode de piégeage de radical libre DPPH. Les résultats révèlent que l’E.Meth a une capacité de piégeage de radical libre DPPH importante avec des IC₅₀ de 30,400 ± 8,231 µg/ml par contre l’E.Aq présente un effet faible avec une IC₅₀ de 81,631± 0.717 µg/ml, alors que celle du standard anti-oxydant BHT est de 24,123 ± 1,157 µg/ml.

Mots clés : *Artemisia campestris* , polyphénols, flavonoïdes, Activité anti-oxydante , DPPH

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BHT : Butylhydroxytoluène

DPPH : 2,2 – diphenyl – 1 - picrylhydrazyl

E.Aq : Extrait aqueux

E.Meth : Extrait méthanolique

EOR : Espèces oxygénées réactives

ERA : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

I% : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : concentration inhibitrice 50

RNS : Espèces réactives d'azote

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

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

µg EQ/mg E : Microgramme équivalent de Quercétine par milligramme d'extrait

Liste des figures

Figure 1 : Photo d' <i>Artemisia campestris</i>	4
Figure 2 : Répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i> L.....	6
Figure 3 : Classification de quelques métabolites secondaires	9
Figure 4 : Structures chimiques des principaux acides phénoliques.....	11
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes	11
Figure 6 : Structure de base des tanins. a) tanins hydrolysables ; b) tanins condensés	15
Figure 7 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants	16
Figure 8 : Les molécules cibles de l'attaque radicalaire	17
Figure 9 : la formation des radicaux libres	18
Figure 10 : Structure chimique de la vitamine C	22
Figure 11 : A) préparation de l'extrait méthanolique par macération ; B) Evaporation sous vide.....	26
Figure 12 : A) préparation de l'extrait aqueux par décoction ; B) filtration par papier wattman.	27
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	30
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	31
Figure 15 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.....	32
Figure 16 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux	33
Figure 17 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de BHT	33
Figure 18 : L'activité anti-radicalaire d'extrait aqueux, méthanolique, BHT.....	34

Listes des tableaux

Tableau 1: Systématique de la plante <i>Artemisia campestris L</i>	4
Tableau 2: Différentes classes de métabolites secondaires	5
Tableau 3 : Différents types de flavonoïdes	12
Tableau 4 : Espèces réactives d'oxygène d'intérêt biologique	19
Tableau 5: Espèces réactives d'azote d'intérêt biologique.....	19
Tableau 6: Le rendement (%) , teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de la plante <i>Artemesia campestris L</i>	29

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont une source importante et inépuisable de substances aux activités biologiques et pharmacologiques diverses (Reid *et al.*, 2018 ; Emilie *et al.*, 2019). Il est largement démontré que ces propriétés thérapeutiques sont étroitement liées à la présence de centaines de composés biologiquement actifs. Ces composés, appelés métabolites secondaires, constituent une large gamme de biomolécules telles que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, etc., principalement utilisées dans l'industrie alimentaire. Il est actuellement reconnu que la consommation des antioxydants à base de plantes médicinales peut réduire le risque d'apparition de plusieurs maladies humaines liées au stress oxydatif (Tauchen *et al.*, 2015).

Les composés phénoliques constituent un groupe important de produits naturels largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires des voies; phosphate, acide shikimique et pentoses de phénylpropane dans les plantes (Balasundram *et al.*, 2006). Ces composés ont une importance physiologique et morphologique considérable chez les plantes, où ils jouent un rôle important dans la reproduction des plantes, la pigmentation et les mécanismes de défense contre les rayons UV et les agents pathogènes (Hu et Luo, 2016). Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. Ils captent les radicaux libres produits en permanence par notre corps ou formés en réponse aux agressions de notre environnement.

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les défenses antioxydantes de l'organisme, favorisant les premières. Notre mode de vie (tabagisme, abus d'alcool, obésité, activité physique intense), ainsi que nos mauvaises habitudes alimentaires, peuvent augmenter anormalement la production d'ERO dans l'organisme. À long terme, cela peut conduire à l'émergence de diverses maladies associées au vieillissement, telles que le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (Liguori *et al.*, 2018).

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent donner des électrons et/ou des atomes d'hydrogène aux oxydants, stoppant ainsi la réaction en chaîne, réduisant ainsi le stress oxydatif et ses paramètres de dommages cellulaires (Litescu *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2013 ; Siti *et al.*, 2015). Ils sont classés comme antioxydants endogènes potentiellement enzymatiques ; superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx) et glutathion réductase (GPr) et non enzymatique ; (glutathion (GSH), acide urique, bilirubine, mélatonine, coenzyme Q10) et des antioxydants exogènes (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols).

Dans le but de rechercher des nouvelles alternatives phyto-thérapeutiques, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antioxydant d'*Artemesia campestris*.

Pour cela notre travail s'articule sur ces deux parties

-Une partie concernant l'étude bibliographique résumant généralités sur la plante *Artemesia campestris* L et métabolites secondaires ; ainsi que le stress oxydatif.

-Une partie abordant l'étude expérimentale :

- Préparation de l'extrait méthanolique et aqueux (par des techniques d'extraction macération et décoction).

- Dosage de polyphénols et flavonoïdes.

- Evaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Artemisia campestris L

Et métabolites secondaires

Artemisia campestris L

1. Généralités

Le genre *Artemisia* est l'un des genres les plus communs et les plus étudiés de la famille des Astéracées ; il contient un nombre variable d'espèces jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli et Maffei., 2002).

L'*Artemisia* a été signalé comme étant riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, l'acide caféoylquinique, la coumarine, les huiles essentielles, les stérols et l'acétylène (Kundan et Anupam., 2010).

Les espèces du genre *Artemisia* ont des propriétés médicinales, qui sont utilisées non seulement en médecine traditionnelle mais aussi dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Mirjalili *et al.*, 2007).

2. Description botanique

Artemisia campestris est une plante vivace de 30 à 150 cm de haut. Les tiges des boules de naphtaline sont ramifiées et opposées, en forme de massue ; il est généralement brun rougeâtre et brillant, et a une apparence plus pâle sur la partie inférieure et une forme pubescente sur la partie supérieure. Les feuilles sont vertes, souvent brillantes à maturité; Les feuilles inférieures sont réduites à des pétioles voire échancrées tandis que les feuilles supérieures sont unies. Les capitules sont ovales et contenant 8 à 12 fleurs, disposées en un bulbe convexe et entourées de bractées ovales disposées en plusieurs rangées. Les inflorescences sont femelles, pelletées et fertiles, tandis que les fleurs en forme de disque sont stériles et fonctionnellement mâles avec des ovaires réduits. Le fruit est un fruit homomorphe, ovoïde, chauve et lisse (Dib *et al.*, 2017 ; Quezel et Santa, 1962) figure1.



Figure 1 : Photo d'*Artemisia campestris* (Belhattab *et al.*, 2011)

3. Systématique de la plante

D'après Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* est classée comme suit :

Tableau 1: représente la systématique de la plante *Artemisia campestris* L .

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermatophyta

Sous embranchement: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Genre: *Artemisia*

Espèce: *Artemisia campestris* L

4. Origine et distribution

D'après Yun *et al.* (2007), *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie. Les plantes de la famille des Astéracées poussent dans les climats arides et semi-arides; elles se trouvent dans les steppes et les déserts du Moyen-Orient, de l'Afrique du Nord et de l'Espagne et s'étend jusqu'au nord-ouest de l'Himalaya (Khlifi *et al.*, 2013).

5. Composition chimique

Différentes classes de métabolites secondaires ont été identifiées dans la partie aérienne d'*Artemisa campestris*. Ces métabolites secondaires sont répertoriés dans **le tableau 2**

Métabolites secondaires	Molécule identifiée	Référence
Polyphénols	Flavonoïdes (flavones, , flavanone) Polyphénols Tanins	Amelia <i>et al</i> 1989 Ghlissi <i>et al</i> 2016
Huiles essentielles	Monoterpènes, sesquiterpènes	Belhattab <i>et al</i> 2011
Coumari	Hydroxycoumarines, esculetin	Masotti. V <i>et al.</i> 2012
Alcaloïdes	ND	
Saponines		

6. Répartition géographique

Géographiquement, *Artemisia campestris* L prédomine dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord (Noumi *et al.*, 2010) comme :

- le Maroc (Fakchich et Elachouri, 2014).
- l'Algérie (Rebbas et Bounar, 2014).
- la Tunisie (Kawada *et al.*, 2012 ; Saadaoui *et al.*, 2014).
- la Libye (El MOKASABI, 2014).

Il pousse aussi dans les prairies sèches et fertiles d'une grande partie de l'Europe centrale et méridionale (Pirini Chrisoula *et al.*, 2014). Elle est considérée comme une plante rugueuse, dans les terres sèches et perturbées du sud de l'Espagne (Salinas et Guirado, 2002). , tandis qu'au Japon, il pousse à l'état sauvage le long des côtes des îles Ryukyu (Minami *et al.*, 2010) figure 2.

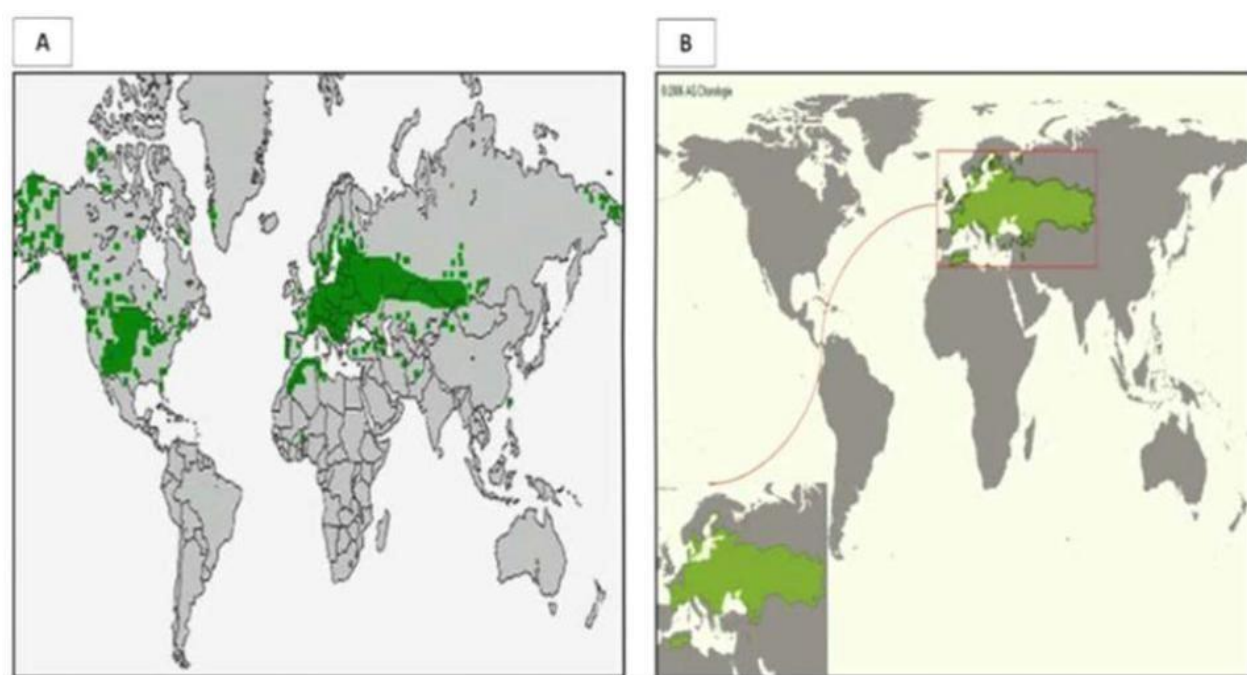


Figure 2 : Répartition géographique d'*Artemisia Campestris* L (Dib *et al.*, 2016).

7. Utilisations de *l'Artemisia campestris* en médecine traditionnelle

L'Artemisia campestris est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en Afrique du Nord comme remède contre divers maux. Une décoction de feuilles de cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés antivenimeuses, anti-inflammatoires, analgésiques et antibactériennes (Sefi *et al.*, 2012). La partie supérieure utilisée pour traiter les troubles gastro-intestinaux, les ulcères et la dysménorrhée (Dob *et al.*, 2005). Comme il est utilisé pour traiter les troubles urinaires, rénaux et hépatiques (Dib *et al.*, 2017).

8. Activités biologiques

En plus de son utilisation en médecine traditionnelle, des études confirment qu'*Artemisia campestris* a des effets antioxydants, anticancéreux, antibactériens, vermifuges, insecticides, anti-inflammatoires, antidiabétiques et antitoxiques (Megdiche Ksouri *et al.* , 2015 ; Dib *et al.*, 2017).

A. Activité antioxydante

Les parties aériennes d'*Artemisia campestris* ont une activité antioxydante importante

En effet, cette plante est riche en composés à activité antioxydante, tels que :

Flavonoïdes, polyphénols et tanins, ces différents composants jouent leur rôle.

Les antioxydants agissent en inhibant la production de groupes hydroxyles anion superoxyde car ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau microsomal (Bruneton, 1999).

B. Activité antibactérienne

Artemisia Campestris L. est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections des voies urinaires. (Naili *et al.*, 2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles ; et ils ont constaté que l'activité de cet extrait était plus efficace contre les bactéries gram-positives (*Staphylococcus aureus*) que contre les bactéries gram-négatives (*Escherichia coli*).

C. Effet insecticide

L'extrait méthanolique d'*Artemisia Campestris* var *glutinosa* a montré une faible activité larvicide contre les larves de moustiques *Culex Linnaeus* (Diptera, Culicidae) (Al-Snafi, 2015).

D. Activité antiparasitaire

Abidi *et al.*, 2018 montrent une activité antiparasitaire potentielle de l'huile essentielle d'*Artemesia campestris* dans des tests *in vitro* sur le ver *Haemonchus contortus* en utilisant le test d'éclosion des œufs et le test de mobilité du ver adulte par rapport à un médicament de référence l'albendazole.

Autre étude réalisée par Aloui et al montre l'activité anti-leishmanienne de l'huile essentiel d'*Artemisia campestris* dose et temps dépendante. Cette activité induit une apoptose cellulaire au niveau des promastigotes de *Leishmania infantum* (Aloui et al.,2016).

L'efficacité anthelminthique d'*Artemisia campestris* a été aussi évaluée contre les nématodes gastro-intestinaux du mouton, les résultats ont montré un effet modéré (Fabio Castagna et al., 2021).

E. Activité antidiabétique

L'extrait aqueux obtenu à partir des racines d'*Artemisia campestris* ainsi que la décoction de ses parties aériennes ont montré une forte inhibition de l' α -glucosidase microbienne, tandis que la teinture de racine a montré une inhibition significative de l' α -glucosidase des mammifères. (Dib et El Alaoui., 2019).

F . Activité antivenimeuse

Les extraits d'acétate d'éthyle, d'éthanol, de méthanol et de dichlorométhane des feuilles d'*Artemisia Campestris* ont été testés pour leur capacité à neutraliser le venin de scorpion et de vipère, les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique inhibait l'activité hémolytique du venin du scorpion *Androctonus australis garzonii* sur les globules rouges. Des résultats similaires ont été obtenus pour l'extrait au dichlorométhane pour neutraliser le venin de la vipère *Macrovipera lebetina*. (Memmi et al., 2007).

9. Métabolites secondaires

Outre les métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides et acides nucléiques), il existe d'autres métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans différents domaines tels que la pharmacologie et les produits agricoles (Macheix et al. , 2005).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes qui sont synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes. Les produits du métabolisme secondaire sont très nombreux, avec plus de 200 000 structures définies (Hartmann, 2007 ; Zhuang et al., 2015) et présentent une structure particulièrement diversifiée. Ces molécules marquent la racine,

l'espèce, la famille ou le genre de plantes et peuvent parfois établir une taxonomie chimique. Ils se répartissent principalement en trois grandes familles : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002 ; Marouf et Reynaud, 2007). Ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques. Ils forment un groupe de composés naturels qui doivent être explorés pour leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Epifano *et al.*, 2007). Ils sont principalement obtenus par extraction à partir de plantes (Matsumura *et al.*, 2013).

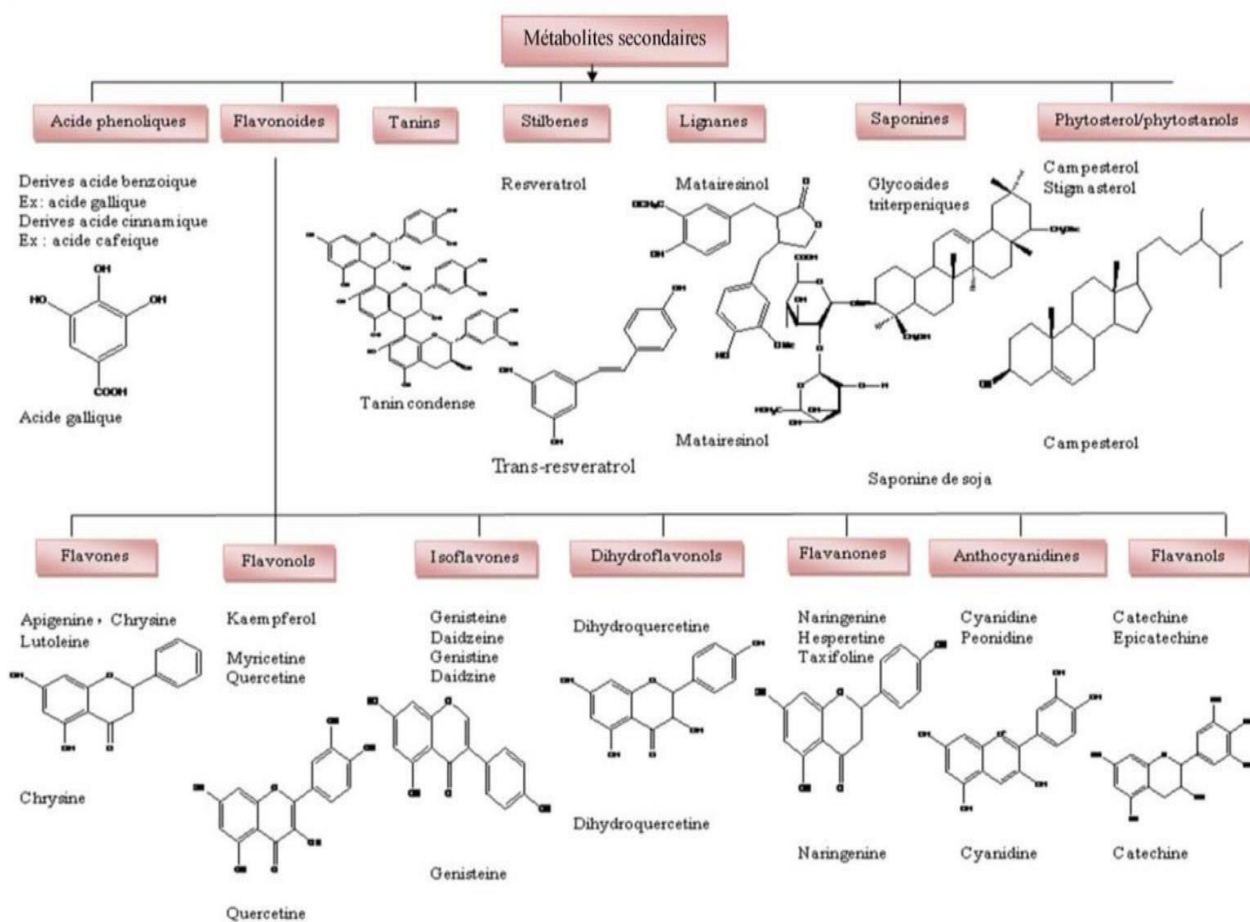


Figure 3 : Classification de quelques métabolites secondaires (Muanda, 2010).

9.1 Les Polyphénols

Les polyphénols avec 8000 structures phénoliques connues ; représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, ils sont synthétisés exclusivement dans le règne végétal, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique directement attaché à au moins un

groupement hydroxyle libre, ou participe à une autre fonction telle qu'un éther, un ester, un hétéroside, etc. (Cuevas -Valenzuela *et al.*, 2016).

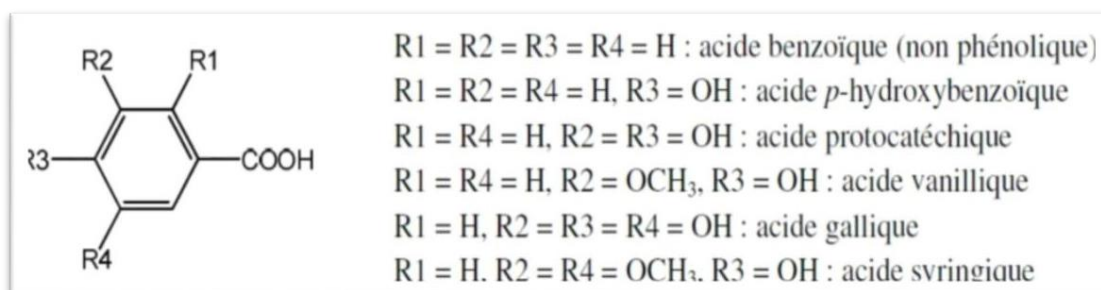
9.2 Classification

Les phénols les plus courants dans l'alimentation humaine sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Lima *et al.*, 2014).

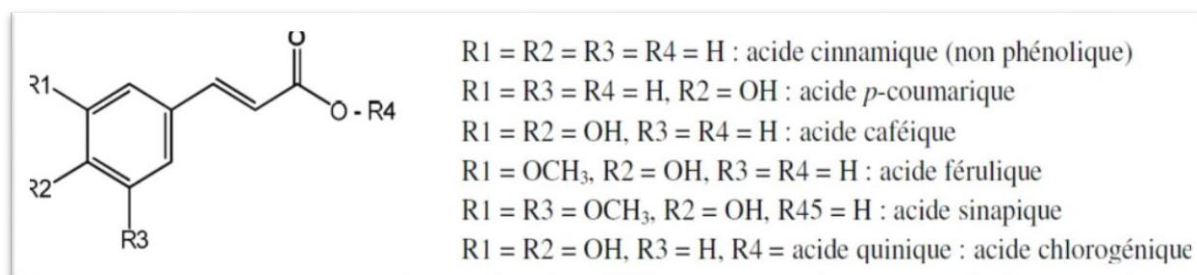
9.2.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires aromatiques largement distribués dans la plante mais particulièrement abondants dans les fruits acides. Ce sont les métabolites les plus abondants dans les aliments après les flavonoïdes. Le terme acide phénolique fait généralement référence aux phénols avec un seul groupe fonctionnel carboxyle acide (Stalikas *et al.*, 2007). Cependant, lorsqu'il s'agit de métabolites végétaux, il s'agit d'un groupe distinct d'acides organiques. Ces acides phénoliques naturels contiennent deux structures carbonées représentatives et uniques : les structures d'acide hydroxy-cinnamique et d'acide hydroxy-benzoïque. Bien que le squelette de base reste le même, le nombre et la position des groupes hydroxyles sur les cycles aromatiques varient et une variété de structures et de composés ont été établis (Kumar *et al.*, 2014).

Les acides phénoliques existent rarement à l'état libre, mais ils sont souvent liés à d'autres molécules organiques (Macheix *et al.*, 2005).



Acides hydroxy-benzoïques



Acides hydroxy-cinnamiques

Figure 4 : Structures chimiques des principaux acides phénoliques (Chanforan, 2010).

9.2.2 Les Flavonoïdes

Le mot flavonoïde est dérivé du mot latin flavus qui signifie jaune; effectivement ; de nombreux flavonoïdes sont de couleur jaune (Bone et Mills, 2012). Ils se produisent parfois dans les plantes sous la forme aglycone, mais la majorité des flavonoïdes existe sous la forme glycosylée. Les flavonoïdes représentent une large classe de métabolites secondaires avec environ de 5000 produits, qui sont identifiés à partir des plantes. Ces composés partagent un squelette à 15 atomes de carbone (C6 – C3 – C6) de 3 cycles aromatiques (A, B, C). Le cycle A est un cycle benzénique fusionné avec un cycle à 6 chaînes (cycle C) portant le cycle B, c'est-à-dire un phényle benzène en position 2 comme un substituant (Patil et Masand, 2018).

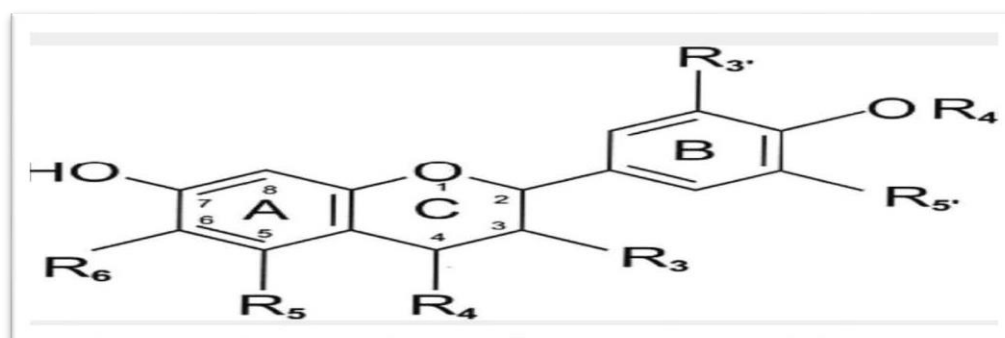
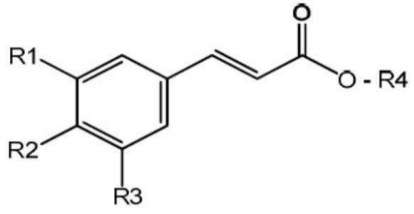


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (Damian *et al.*, 2016).

Tableau3: Différents types de flavonoïdes (Tsao, 2010 ; Elhadi et Carrillo-Lopez, 2019).

Classe et <u>Structure chimique</u>	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Exemples
	OH	OH	OH	H	OH	H	Lutéoline
	H	OH	OH	H	OH	H	Apigénine
	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	Tangerétine
Flavone	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	Nobiletine
OH	H		Quercétine				
H	H		Kaempférol				
OH	OH		Myrecétine				
Flavonol	H		Isorhamentine				
OCH ₃	H		Naringénine				

OCH ₃			Hesperitine
Flavanone			
OH			Eriodictyol
OH	H	H	(+) Catéchine
			(-)
H	OH	H	Epicatéchine
			(+) Gallocate- chine
OH	H	OH	
Flavan-3-ol			(+)Catechineg allate
OG	H	H	
			(+)Gallocate- chinegallate
OG	H	OH	
H	H		Pélargonidine
			Cyanidine
OH	H		
			Delphénidine
OH	OH		
			Péonidine
OCH ₃	H		
Anthocyanidine			Petunidine
OCH ₃	OH		

		Malvidine
OCH ₃	OCH ₃	
H	H	Daidzeine
OH	H	Genisteine
Isoflavone		
H	OCH ₃	Glyciteine

9.2.3 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques qui rétrécissent les tissus en se liant aux protéines et en les précipitant, ils sont donc utilisés pour "tanner" la peau. Ils confèrent un goût amer à l'écorce et aux feuilles, les rendant impropres aux insectes. Les tanins varient en couleur du jaune-blanc au brun et foncent à la lumière, ils ont une légère odeur caractéristique et une astringence, ils se dissolvent dans l'eau, l'acétone, et l'alcool. Ils sont présents dans presque toutes les plantes, mais particulièrement abondants chez les conifères, les Fabacées et les Rosacées (Elkolli, 2016).

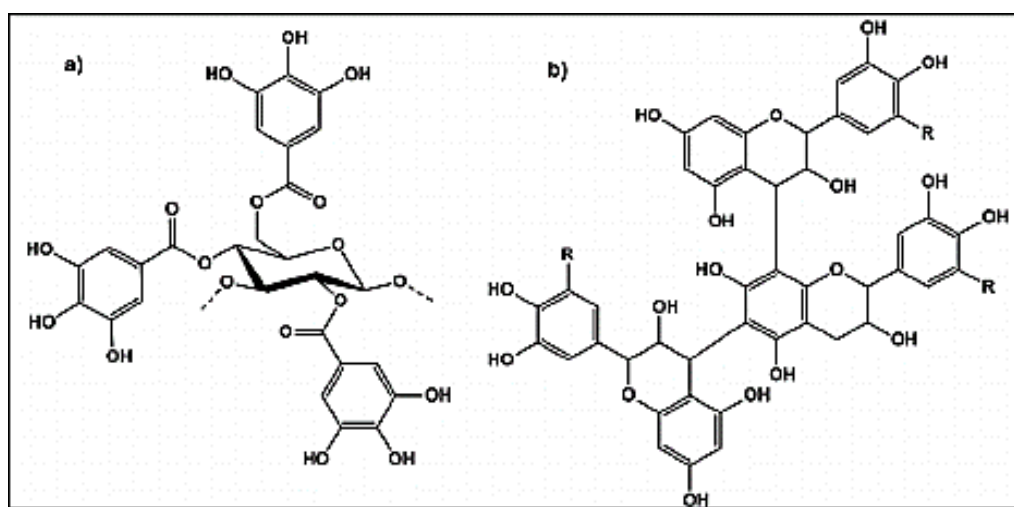


Figure 6: Structure de base des tanins. a) tanins hydrolysables ; b) tanins condensés (Lochab, Shukla, & Varma, 2014).

A/ Tanins hydrolysables

Constitué d'un noyau central - glucose - contenant 1 à n monomères d'acide phénolique et des chaînes latérales (situées aux positions 1, 2, 3, 4 ou 6 du glucose). Liaisons carbone-carbone entre noyaux atomiques (liaisons biphenyles formées par couplage oxydatif) (Boussaid, 2013).

B/ Les tanins condensés (tanins catéchiqes ou proanthocyanidols)

Tanins vrais ou tannoïdes, sans sucres et structurellement similaires aux flavonoïdes. Ce sont des polymères flavaniques constitués d'unités flavan-3-ols (catéchine) ou flavan-3-4- diols (leucoanthocyanidines) liées entre elles par des liaisons C-C. Ils sont donc difficilement hydrolysables (Bruneton, 2009 ; Legrand, 2015).

Chapitre II

Le Stress oxydatif

1. Le stress oxydatif

1.1. Définition

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS et ERA) et la capacité de l'organisme à neutraliser ses effets grâce au système de protection antioxydant (Persson *et al.*, 2014).

Ce déséquilibre peut endommager les macromolécules, les tissus, les cellules, les organes et les organismes entiers. Une fois que ces macromolécules sont endommagées, leurs fonctions essentielles dans le métabolisme cellulaire sont altérées, entraînant les manifestations de nombreuses maladies (Kumar *et al.*, 2017).

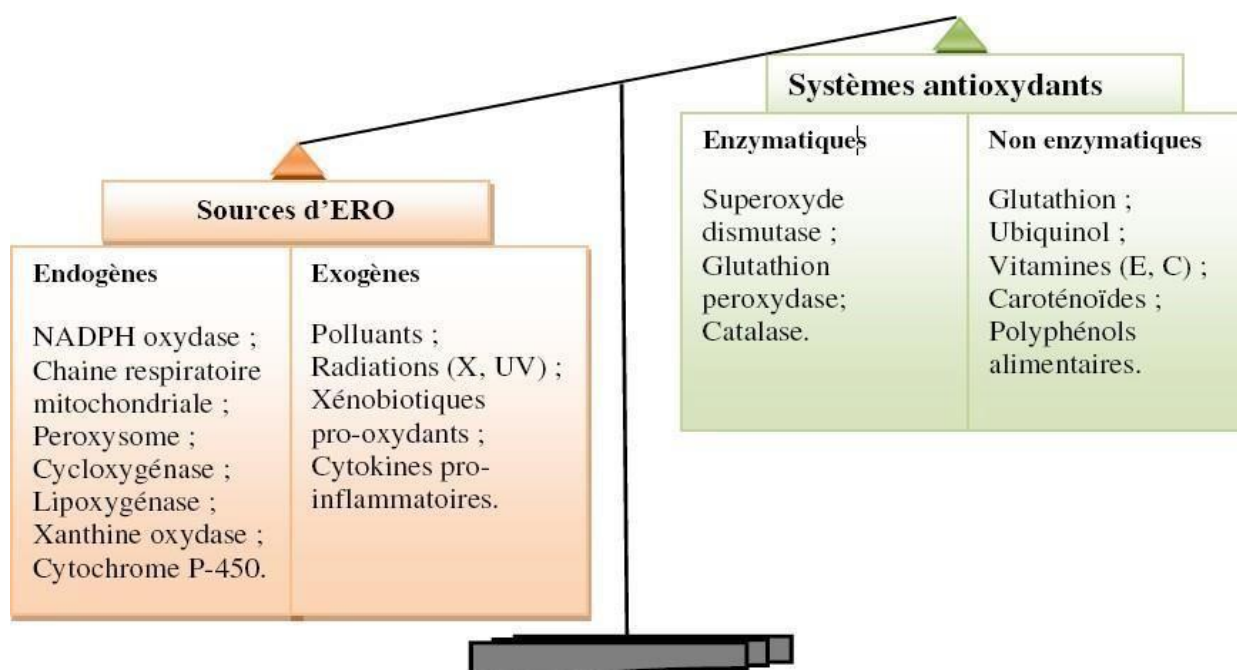


Figure 7 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Rahman *et al.*, 2012).

1.2 . Conséquences du stress oxydatif

En raison de leur structure électronique instable les espèces réactives de l'oxygène peuvent attaquer les composants cellulaires (figure 08).

Les molécules biologiques : les protéines, les lipides, glucides et l'ADN sont attaqués par les radicaux libres, entraînant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules qui est à l'origine du développement de diverses pathologies (Mohammedi, 2013).

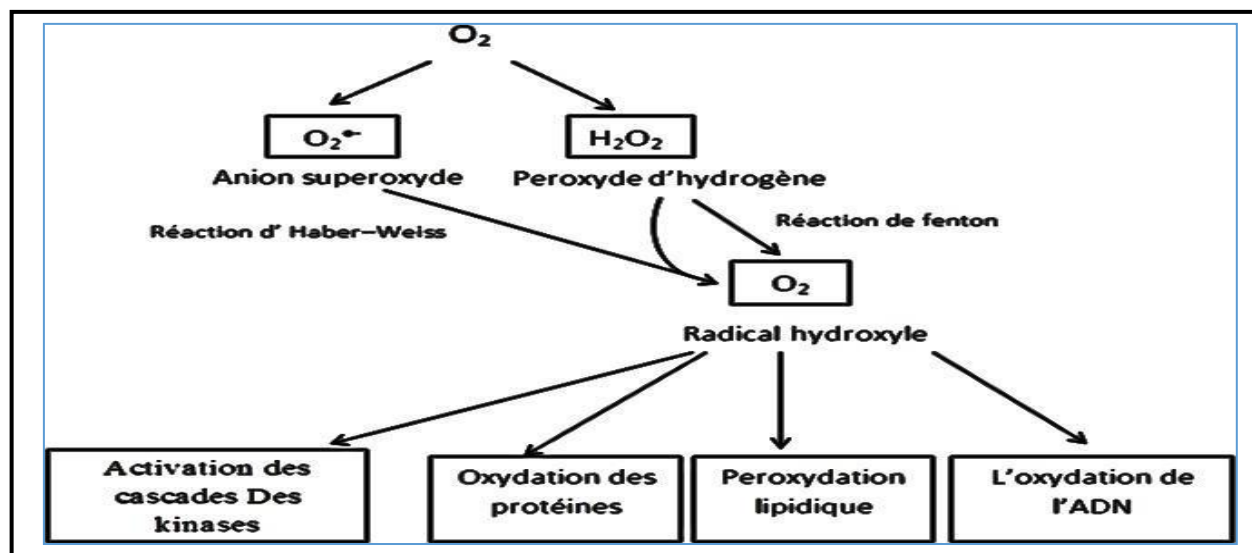


Figure 8. Les molécules cibles de l'attaque radicalaire (Mohammedi, 2013)

2. Les radicaux libres

2.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique "libre", qui contient un ou plusieurs électrons non appariés (célibataire) dans les orbitales atomiques de sa couche d'électrons la plus externe. Les électrons sont des particules chargées qui, par leur mouvement de rotation, induisent un champ magnétique appelé "SPIN", un état qui leur donne de l'énergie et une instabilité cinétique voire la figure 09 (Pillou, 2014).

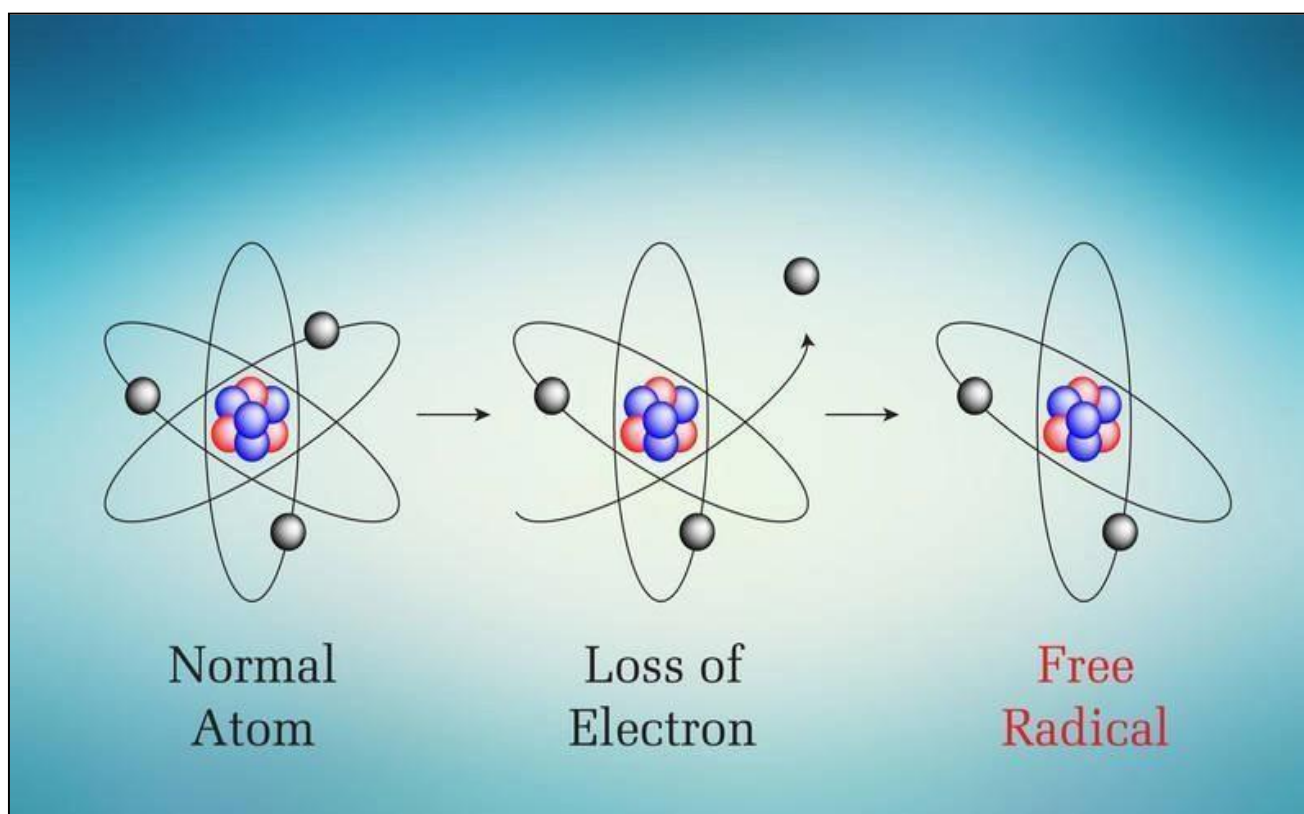


Figure 9: La formation des radicaux libres (Pillou, 2014).

2.2. Source des radicaux libres

2.2.1 . Sources endogènes

Parmi les réactions enzymatiques, certaines sont considérées comme des sources majeures d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dont : la NADPH oxydase, la lipoxygénase, la xanthine oxydase (une enzyme du foie).

La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, c'est au niveau de cet organe que s'effectue la respiration cellulaire. Diverses réactions de consommation d'oxygène et de transfert d'électrons (d'énergie) produisent des espèces réactives de l'oxygène en performance. Les ions métalliques présents dans l'organisme ex: Fe-Cu , peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour générer des radicaux hydroxyles (Poprac *et al.*, 2017).

2.2.2. Sources exogènes

Les ERO sont également produits sous l'influence de facteurs de stress environnementaux tels que la pollution, la consommation d'alcool ou de certaines drogues, l'exposition prolongée au soleil, l'exercice et le tabagisme. (Kalam *et al.*, 2015).

Dans les phénomènes de stress oxydatif qui se produisent dans les milieux biologiques, les radicaux libres interférents partagent la caractéristique commune d'avoir un seul électron sur l'atome d'oxygène ou d'azote. Cela leur donne le nom d'espèces réactives de l'oxygène (EOR ou ROS) ou d'espèces azotées (EAR ou RNS) (tableaux 3 et 4) (Weidinger et Kozlov, 2015).

Tableau 4 : Espèces réactives d'oxygène d'intérêt biologique (Weidinger et Kozlov, 2015).

Espèces réactives	Symbole	Réactivité
Radical superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Généré dans les mitochondries et dans le système cardiovasculaire.
Radical hydroxyle	HO^{\bullet}	Très réactif, généré lors d'une surcharge de fer
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Formé dans notre corps par un grand nombre de réactions et produit des espèces puissantes comme HO^{\bullet}
Radical peroxy	ROO^{\bullet}	Réactif et formé à partir de lipides, de protéines, d'ADN, de sucres etc. pendant les dommages oxydatifs
Hydro-peroxyde Organique	$ROOH$	Réagit avec des ions métalliques transitoires pour produire des espèces réactives
L'oxygène singulet	1O_2	Très réactif, formé lors de la photosensibilisation et certaines réactions chimiques
Ozone	O_3	Peut réagir avec diverses molécules pour former l'oxygène singulet 1O_2

Tableau 5 : Espèces réactives d'azote d'intérêt biologique

Espèces réactives	Symbole	Réactivité
Oxide nitrique	NO^{\bullet}	Neurotransmetteur et régulateur de pression sanguine, peut produire des oxydants puissants pendant les états Pathologiques
Peroxynitrite	$ONOO^-$	Formé de NO^{\bullet} et superoxyde, hautement réactif
Acide peroxynitrique	$ONOOH$	Forme protonée de $ONOO^-$

Dioxyde d'azote	NO ₂	Formé lors de la pollution par le dioxyde Atmosphérique
------------------------	-----------------	--

IL existe deux principaux groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydatif : les espèces radicalaires et les espèces non radicalaires (Valko *et al.*, 2016 ; Lushchak , 2014).

La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à l'autre et dépend de l'environnement dans lequel il se trouve (Kehrer *et al.* , 2015).

3. L'oxydation

L'oxydation est un processus essentiel dans le métabolisme des cellules aérobies du corps. Elle met en jeu la molécule d'oxygène dont la production incontrôlée de voies métaboliques conduit à la formation d'ERO comme le radical libre superoxyde O₂⁻ ; hydroxyle HO ; alcoxyle RO et peroxyde RO₂ (Sarr *et al.*, 2015).

4. Les antioxydants

4.1 Définition des antioxydants

Toute substance qui a la capacité de ralentir ou d'inhiber l'oxydation cellulaire est considérée comme un antioxydant. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, y compris les enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et les petites molécules solubles dans l'eau ou les graisses. Cette grande diversité physicochimique permet la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Carocho et Ferreira, 2013 ; Godic *et al.*, 2014).

4.2 . Mode d'action

Les antioxydants peuvent agir en (Pisoschi et Pop, 2015) :

- ❖ Réduisant ou en dismutant les ERO.
- ❖ Piégeant les ERO pour former un composé stable.
- ❖ Séquestrant les métaux de transition libres.
- ❖ Générant du glutathion (GSH).

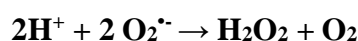
4.3. Classification des antioxydants

4.3.1. Les antioxydants enzymatiques

Superoxyde dismutase (SOD)

Superoxyde dismutase (SOD) est une protéine minérale qui a une activité enzymatique qui lui permet d'améliorer la dégradation de l'anion Superoxyde $O_2^{\bullet-}$ (Desmier, 2016) .

Il existe de nombreuses SOD, et elles diffèrent par le ou les minéraux (métaux) présents dans leur structure (Frédéric, 2011).

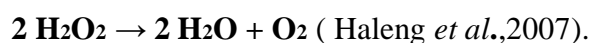


La Catalase CAT

La catalase est une enzyme présente dans les cellules des plantes, des animaux et des bactéries aérobies (Nimse *et al.*, 2015).

La catalase se trouve principalement dans un organite cellulaire nommé les peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales (Desmier , 2016).

Elle convertit le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et en oxygène, qui ont une affinité inférieure à GPX. Des concentrations importantes de CAT ont de nouveau été trouvées dans les fibres musculaires oxydées (Frédéric , 2011).



La glutathion peroxydase (GPX)

Ces enzymes dépendent du sélénium. La glutathion peroxydase (GPX) se trouve dans le cytoplasme car elle joue un rôle important dans la régulation de l'état d'oxydation et de la réduction physiologique au sein des cellules vasculaires. Stimule la réduction des hydro

peroxydes (H_2O_2) et des peroxydes lipidiques en utilisant du glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène (Bouguerne *et al.*,2012) .

4.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

La vitamine C

Cette molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes et connue par son action protectrice de l'oxydation membranaire (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée (AcH) qui peut réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AcH•), stabilisée par résonance (Figure10) (Valko *et al.*, 2016).

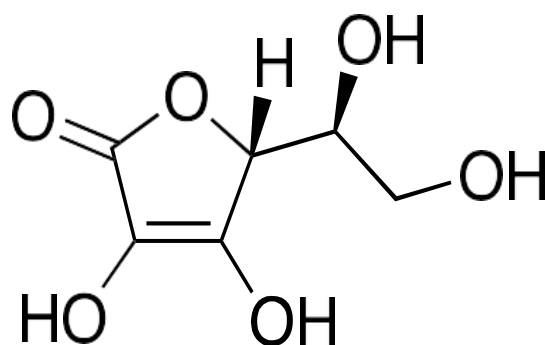


Figure 10: Structure chimique de la vitamine C (Diallo, 2005).

Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments importants des plantes qui contiennent des doubles liaisons conjuguées. Leur activité antioxydante est due à la capacité de ces doubles liaisons à délocaliser les électrons non appariés, à éliminer l'oxygène singulet et à réagir avec les radicaux libres (Rahman ,2007).

Les polyphénols

Concernant les polyphénols sont les antioxydants les plus répandus dans notre alimentation et en particulier, les flavonoïdes. De nombreux travaux leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives issues de l'oxygène et impliqués dans l'oxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques (ADN, ARN). Cette action, largement étudiée, est citée comme une clé pour la prévention des maladies chroniques directement liées avec le stress oxydatif tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives et le vieillissement (Nibir *et al.*, 2017).

Vitamine E ou tocophérol

La vitamine E est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (e.g., l'huile de palme, d'olive et de tournesol), elle va agir comme antioxydant contre les ERO (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaîne carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une activité intracellulaire directe (Fabre *et al.*, 2015).

5. Utilisations des antioxydants

On peut utiliser les antioxydants dans plusieurs domaines comme suivants :

- Dans le domaine médical : pour minimiser les dommages oxydatifs dues à certaines maladies et réduire les effets secondaires dans le traitement du cancer notamment par la chimiothérapie ; en effet les antioxydants sont connus pour être efficaces dans le nettoyage des radicaux libres du sang et d'autres cellules (Uzma *et al.*, 2017).
- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou descolorants de cuve lourd lors de la teinture (Ibrahim, 2013).

PARTIE
EXPERIMENTALE
Chapitre III
MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1 Matériel végétale

La plante a été achetée chez un herboriste. Elle a été identifiée par le Dr Sarri Djamel, Enseignant au Département des Sciences Agronomiques, Faculté des Sciences, Université Mohamed Boudiaf M'sila.

Les feuilles ont été d'abord rincées à l'eau du robinet et séchées à l'obscurité à température ambiante pendant plusieurs jours jusqu'à ce qu'elles soient complètement sèches. Après séchage, les feuilles sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur mécanique. La poudre obtenue a été conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité pour une utilisation ultérieure.

1.2 Réactifs

Méthanol par (CH₃OH), l'eau distillée, quercétine, chlorure d'aluminium (AlCl₃), carbonate de sodium (NaCO₃), réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, le 2, 2 diphényl-1-picryle hydrazyl DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆), le butylhydroxytoluene (BHT).

1.3 Matériels de laboratoire

Bécher , éprouvette , erlenmeyer , mortier , balance , plaque chauffante, rotavapeur , étuve , boîtes pétrie en verre , cristalliseur , Entonnoir , papier wattman , papier aluminium , eppendorf , tube à essai , balance de précision , spectrophotomètre , micropipette , vortex , verre de montre , spatule.

2. Méthode

2.1. Extraction

2.1.1 Préparation de l'extrait méthanologique

Un extrait méthanologique de la plante a été obtenu par macération: 500 ml de méthanol (99,7 %) ont été ajoutés à 50 g des parties aériennes de la plante, maintenu sous agitation pendant 24 heures à température ambiante (figure 11 A).

Après filtration sur papier Wattman, le filtrat a été concentré sous vide à 40 ° C à l'aide d'un évaporateur rotatif (figure 11 B), puis séché dans une étuve à 40 ° C dans l'obscurité jusqu'à son utilisation (Atere *et al.*, 2018).

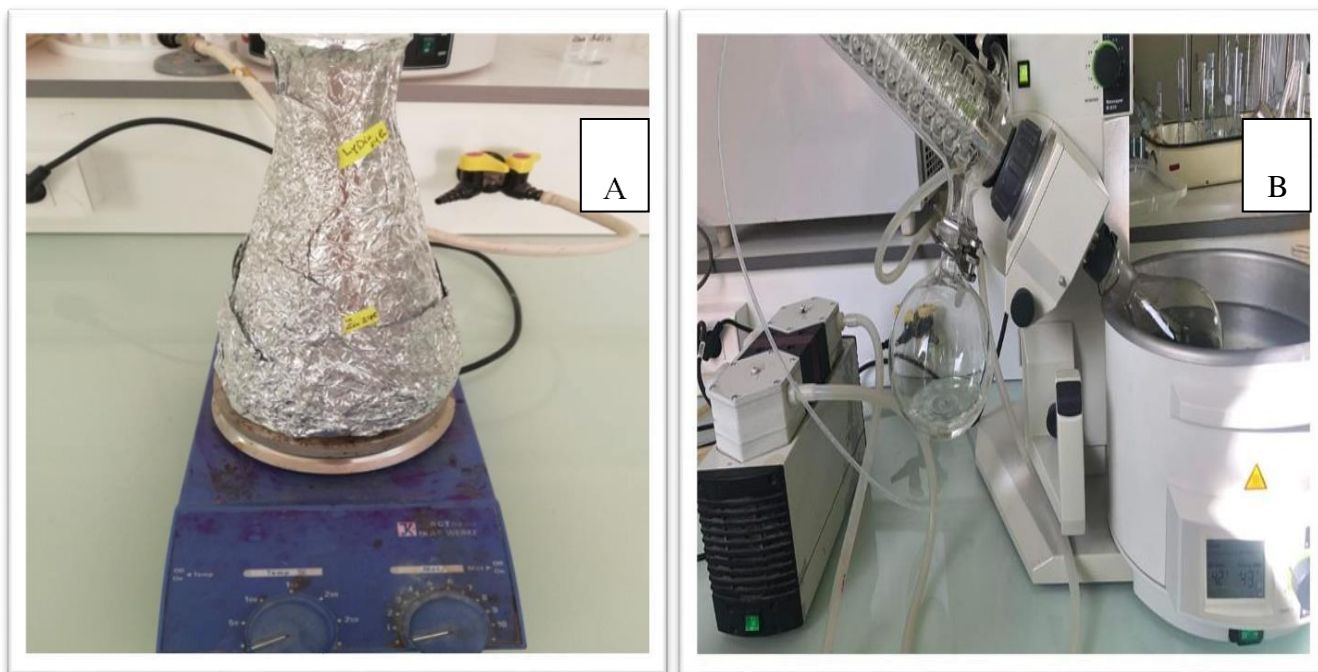


Figure 11: A) préparation de l'extrait méthanolique par macération ; B) Evaporation sous vide

2.1.2 Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de la plante a été obtenu par décoction: 50 g de la plante en poudre ont été ajoutés à 500 ml d'eau distillée, puis agités, et le mélange a été porté à ébullition pendant 30 minutes sous agitation continue (figure 12A) , le macéré obtenu a été filtrée à l'aide de papier Wattman (figure 12B), le filtrat obtenu a été concentré et séché dans une étuve à 40°C, et l'extrait sec a été récupéré et stocké à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Akassa *et al.*, 2019).

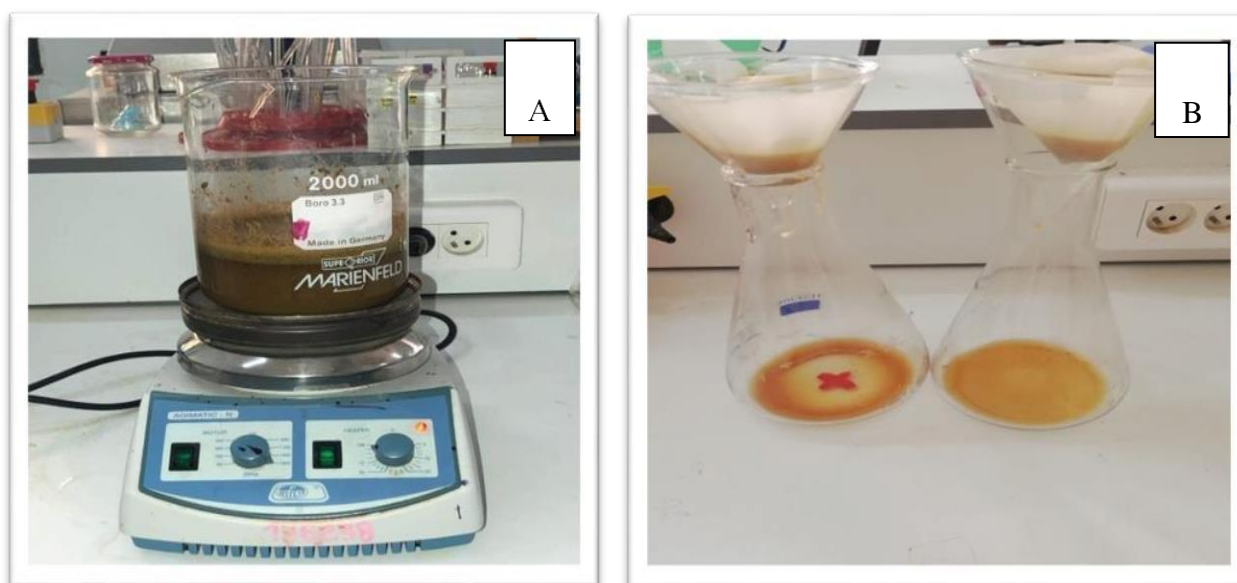


Figure 12: A) Préparation de l'extrait aqueux par décoction ; B) Filtration par papier wattman

3. Le rendement

Le pourcentage pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante

$$R(\%) = M / Ma \times 100$$

R(%) = Rendement exprimé en %.

M = Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

Ma = Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

4. Dosage

4.1 Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols totaux des plantes a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon le protocole décrit par (Delgado *et al.*, 2019).

Ajouter 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée) à 200 μ l d'échantillon ou de standard (préparés dans du méthanol). Après dilution appropriée, 800 μ l de solution de carbonate de sodium ont été ajoutés au milieu réactionnel après 4 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm après 2 heures d'incubation à température ambiante, et la concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir d'une équation de régression sur une gamme calibrée établie pour l'acide gallique (0-200 μ g/ml) et exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (μ g EAG/mg d'extrait).

4.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été réalisée à l'aide de la méthode Bahorun (Bahorun *et al.*, 1996).

Ajouter 1 ml de chaque échantillon et standards (préparé dans le méthanol) à 1 ml de solution $AlCl_3$ (2 % dans méthanol).

L'absorbance a été mesurée à 430 nm après 10 min d'incubation. La concentration en flavonoïdes a été déduite uniquement par l'utilisation de la courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations de la quercétine (2,5 -40 $\mu\text{g/ml}$).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgrammes d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

5. Evaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode de piégeage duradical libre du DPPH

Cette méthode est basée sur la capacité des extraits à piéger le radical 2,2,diphényle 1-picrylhydrazyle (DPPH). Elle a été réalisée selon la méthode d'Ita et Eduok, 2017.

-Un volume de 1ml de chaque extrait à différentes concentration est ajouté à 1 ml de la solution de DPPH (0.004 %) (4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol).

Une solution mère de l'extrait a été préparée de (1mg/ml) afin d'obtenir après dilutions les concentrations suivantes (3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$).

Un contrôle négatif a été aussi préparé dans les mêmes conditions qui contiennent seulement la solution de DPPH et le méthanol.

Après une incubation de 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du mélange réactionnelle est mesuré à 517 nm. Le BHT est utilisé comme un standard antioxydant.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés suivant la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs Contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs Contrôle}) \times 100.$$

-L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC_{50} , toutes les opérations sont effectuées trois fois (Boudjouref *et al.*, 2018).

Chapitre IV
RESULTATS ET
DISCUSSION

1. Le rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche réduite en poudre.

Les résultats obtenus à partir de ce tableau indiquent que l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* (18,8%) avait le rendement le plus élevé suivi de l'extrait aqueux (6,4%) (Tableau 6).

Tableau 6: Le rendement (%) , teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de la plante *Artemisia campestris L.*

L'extrait de plante <i>Artemisia campestris L</i>	Rendement (%)	Teneur en polyphénols totaux (µg EAG/mg E)	Teneur en flavonoïdes (µg EQ/mg E)
Extrait Méthanolique	18.8%	188.31±28.23	17.73±0.93
Extrait Aqueux	6.4%	61.17±12.85	6.225±0.349.

L'extraction est la première étape critique dans la recherche des antioxydants naturels des plantes. La technologie d'extraction est celle qui permet d'obtenir des extraits avec des rendements élevés (Altemimi *et al.*, 2017 ; Xu *et al.*, 2017).

Outre la sélection du solvant d'extraction optimal, deux paramètres importants affectent le rendement en composés phénoliques dans les extraits de plantes médicinales, à savoir le temps et la température d'extraction (Khoddami *et al.*, 2013 ; Sulaiman *et al.*, 2017).

Les composés polaires ainsi que les composés faiblement à moyennement polaires, principalement les composés phénoliques, peuvent être bien récupérés à l'aide de solvants hydroalcooliques (Xia *et al.*, 2010).

La valeur du rendement peut être corrélée aux conditions expérimentales; et elle dépend de plusieurs facteurs tels que : la structure du sol, le pH, la salinité des terres récoltées, la température, l'air, l'attitude...etc. (Bouras et Deneche, 2020).

2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Les quantités des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont rapportés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait **µg EAG/ mg E** pour les polyphénols, et en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait **µg EQ/ mg E** pour les flavonoïdes, et ceci sur la base des valeurs d'absorbance des solutions des extraits méthanolique et aqueux réalisée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) respectivement.

Les courbes d'absorbance de l'acide gallique et de la quercétine sont représentées dans les figures 13 et 14.

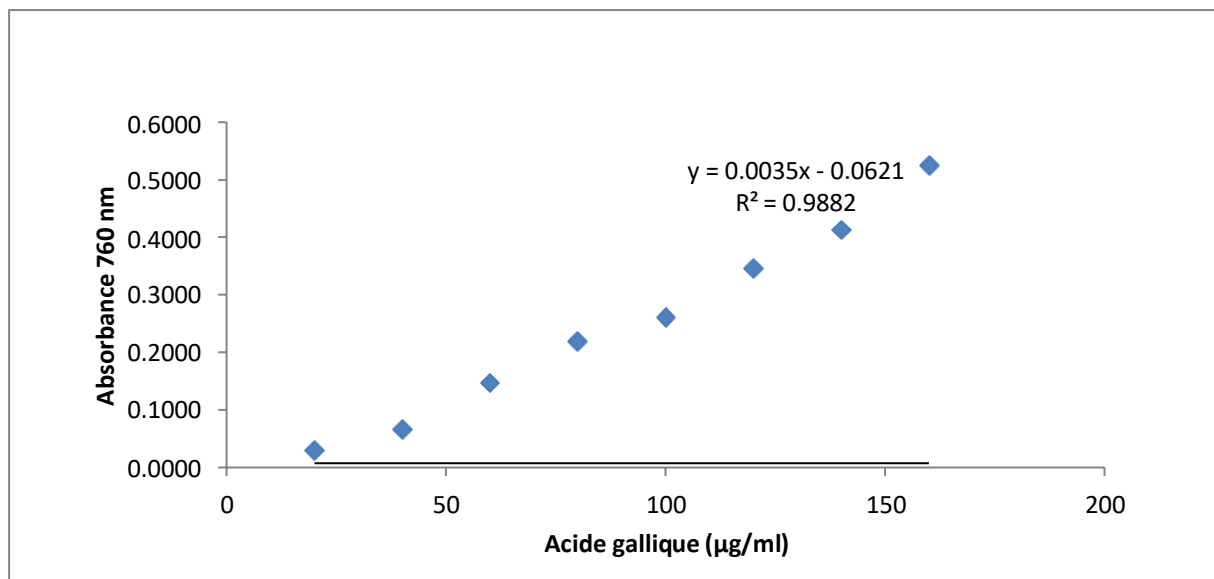


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

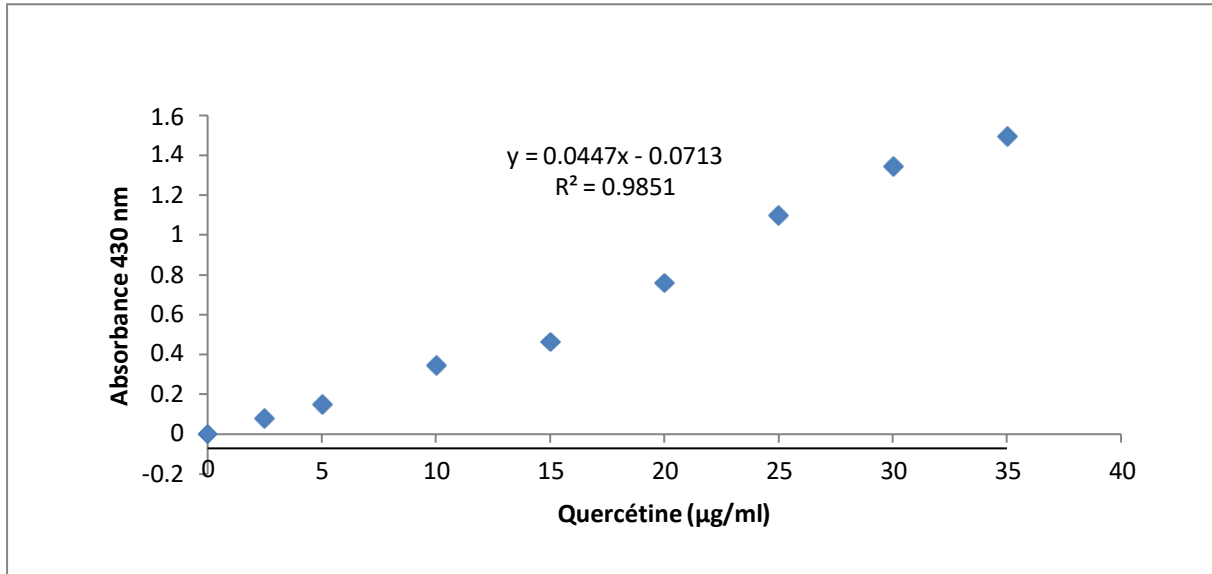


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique a une forte teneur en polyphénols totaux ($188,31 \pm 28,23 \mu\text{g EAG/mg E}$) par rapport à l'extrait aqueux ($61,17 \pm 12,85 \mu\text{g EAG/mgE}$) (tableau 6).

La teneur en flavonoïdes; déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extraits; relèvent que les deux extraits présentent différents teneurs (tableau 6).

On remarque que les flavonoïdes représentent une forte teneur dans l'extrait méthanolique ($17,73 \pm 0,93 \mu\text{g EQ/mg E}$) par rapport à celle de l'extrait aqueux ($6,225 \pm 0,349 \mu\text{g EQ/mg E}$) (tableau 6).

La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes varie au cours de la croissance des plantes en fonction de certains paramètres, tels que : la salinité, la sécheresse et l'exposition au soleil, qui affectent la biosynthèse des métabolites secondaires (Ghedadba *et al.*, 2014).

La concentration de flavonoïdes dans les extraits de plantes dépend aussi de la polarité du solvant utilisé dans la préparation de l'extrait (Ghedadba *et al.*, 2014).

La teneur en composés phénoliques totaux dans l'extrait d'*Artemisia Campestris* est supérieure à celle trouvée par d'autres travaux (Djeridane *et al.*, 2006).

De nombreuses études chimiques ont montré que les parties aériennes d'*Artemisia Campestris L* sont riches en métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles (Akrouit *et al.*, 2003, Boudjouref *et al.*, 2018).

En effet, Boudjouref *et al.*, 2018 ont constaté que l'extrait méthanolique avait des quantités plus élevée en flavonoïdes et en flavonols , ce qui pourrait s'expliquer par la faible solubilité de ces composés dans l'eau (Khettaf *et al.*, 2016).

Une autre étude a trouvé que l'extrait éthanolique et l'infusion d'*Artemisia campestris* ont montré une activité anti-oxydante plus élevée; avec des teneurs en polyphénols de 463,2 mg EAG/g E et 311,5 mg EAG/g E, des teneurs en flavonoïdes de 56,3 mg ER g E et 24 mg ER/g E (Akrouit *et al.*, 2011).

3. Évaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode de piégeage du radical libre du DPPH

L'activité anti-oxydante des extraits méthanolique et aqueux de l'*Artemisia campestris* ainsi que l'anti-oxydante standard (BHT) vis-à-vis du radical DPPH ont été évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm .

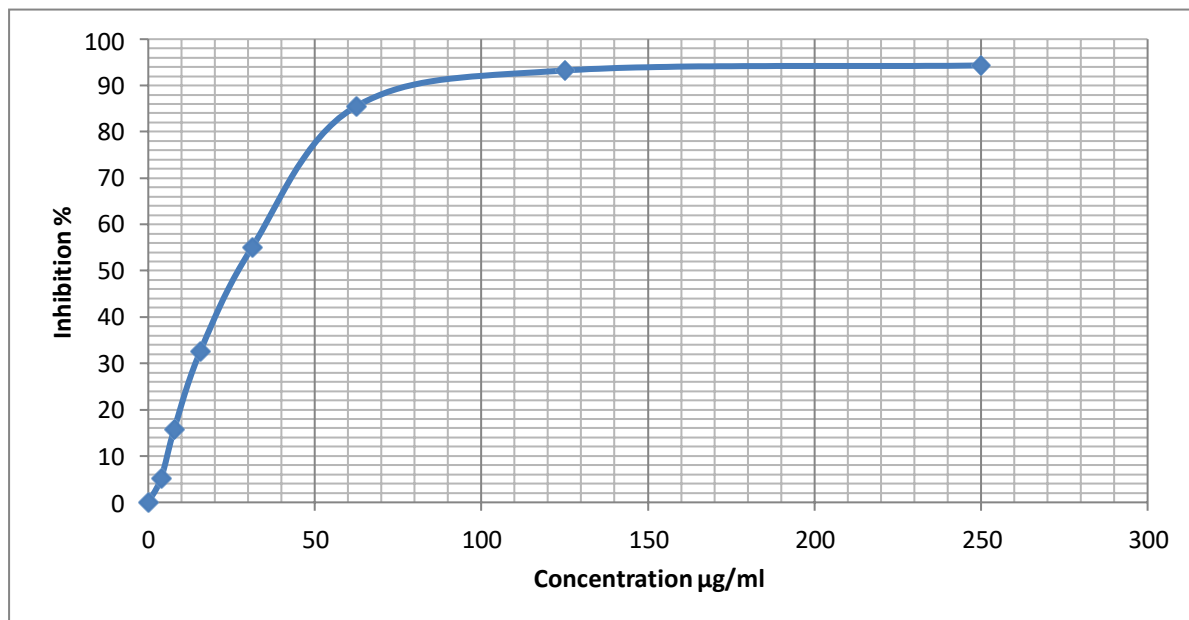


Figure 15 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique

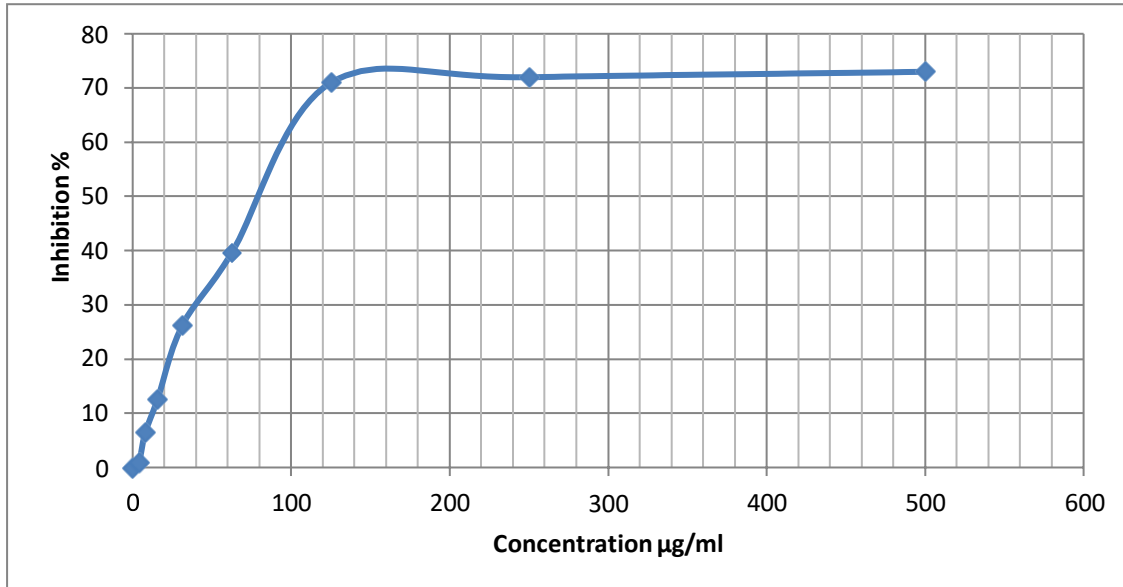


Figure 16: Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux

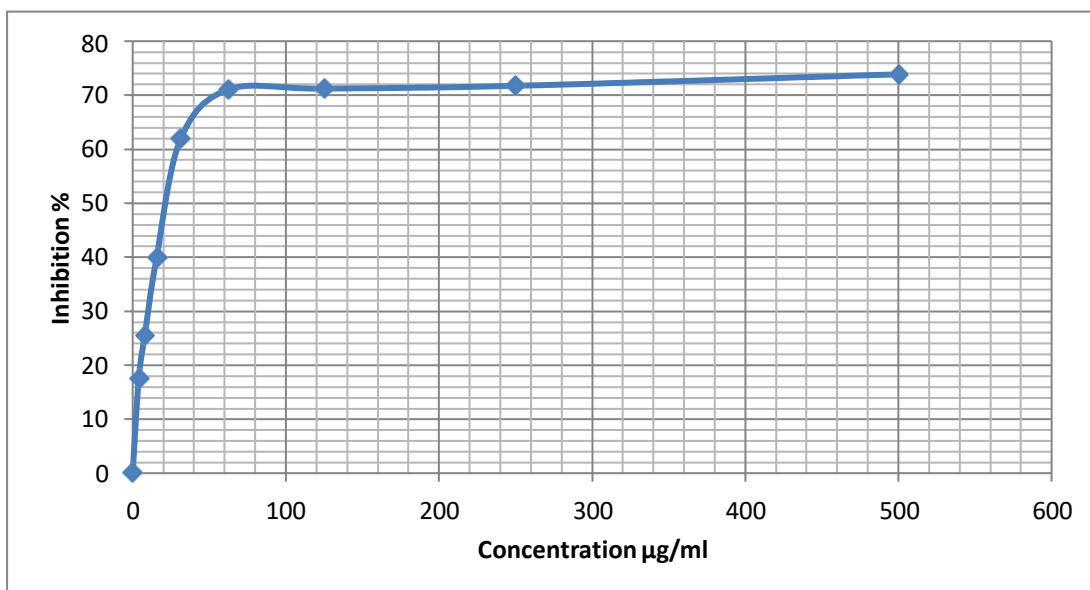


Figure 17: Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de BHT

Pour mieux comprendre la capacité antioxydante de nos extraits, nous avons déterminé la valeur d'IC₅₀ µg/ml, qui est définie comme la concentration d'extrait antioxydant nécessaire

pour inhiber et réduire 50 % des radicaux libres DPPH. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante de piégeage des radicaux libres est élevée.

Pour chaque extrait, nous avons déterminé la valeur IC50, qui a été calculée graphiquement en traçant une régression linéaire et les résultats sont présentés sous forme d'histogramme (figure 17).

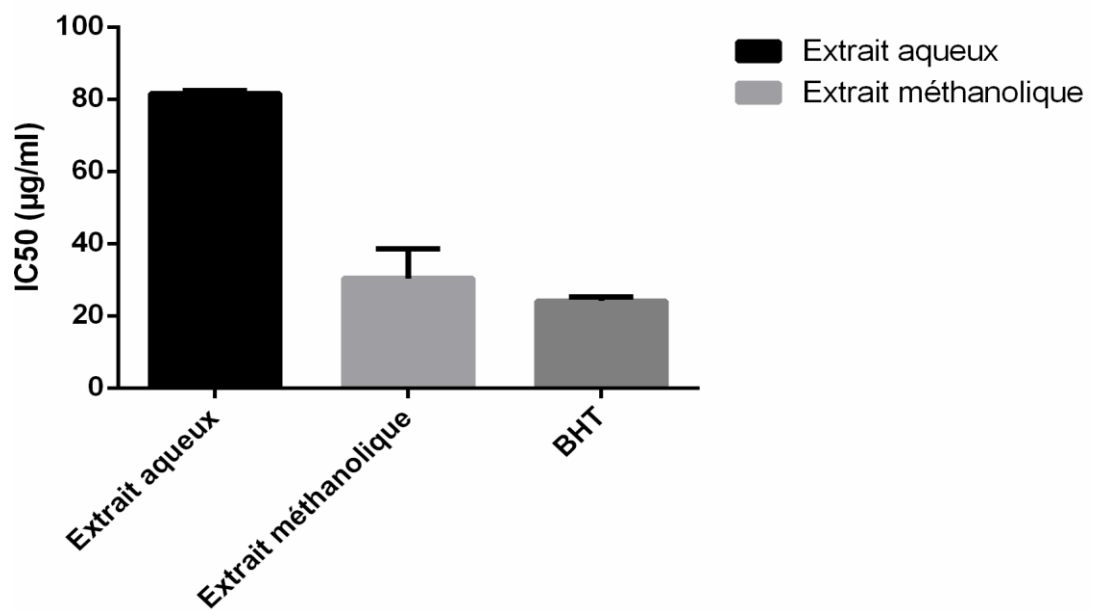


Figure 18 : L'activité anti-radicalaire d'extrait aqueux, méthanolique et BHT.

Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique présente une IC₅₀ de 30,400 µg/ml qui correspond à une capacité de piégeage plus efficace par rapport à celle de l'extrait aqueux (IC₅₀ = 81,631 µg/ml). Néanmoins, le standard antioxydant BHT présente l'activité anti-oxydante la plus élevée (IC₅₀ = 24,123 µg/ml).

Il a été démontré que la capacité antioxydante de l'extrait d'*Artemisia Campestris* provient de la forte réactivité de ses composés en tant que donneurs d'électrons et de la capacité des polyphénols à stabiliser les propriétés d'électrons et d'oxydoréduction non appariés. La capacité de piégeage des radicaux libres peut être associée à des niveaux élevés d'hydrocarbures monoterpéniques, en particulier γ-Terpinène, qui est rapporté comme une substance puissante de piégeage des radicaux libres (Moalla *et al.*, 2021).

Naili *et al.*, 2009, ont attribué l'activité antioxydante d'*Artemisia Campestris* à sa richesse en flavonoïdes.

Autre étude a démontré que la capacité antioxydante de l'*Artemisia campestris* présente en Algérie est due à sa forte teneur en phénols (Djeridane *et al.*, 2006).

En outre, la fraction aqueuse issue de la partie aérienne exprimait une activité anti-oxydante correspondant à l'IC₅₀ : 27,5 µg/ml ; cette valeur était deux fois supérieure à celle du BHT standard (IC₅₀ = 11,5 µg/ml) (Megdiche - Ksouri *et al.*, 2015).

Récemment, Hendel montre que l'extrait méthanolique avait des teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes plus élevées (400,64 µg EAG /mg E et 43.13±0.14 µg EQ/mg E respectivement) que l'huile essentiel (27,47±0,44 µg EAG/mg E et 14.04±0.82 µg EQ/mg E respectivement) (Hendel *et al.*, 2021).

L'effet antioxydant de l'huile essentiel de la partie aérienne présente une IC₅₀ = 94500 µg/ml qui est largement plus faible par rapport aux standards : acide ascorbique (IC₅₀ = 240 µg/ml), quercétine (IC₅₀ = 280 µg/ml) et BHT (IC₅₀ = 840 µg/ml) (Akrouit *et al.*, 2011).

D'autre étude a trouvé que l'extrait hydroalcoolique a montré une activité anti-oxydante prometteuse de 120,5±10,4 µmol trolox capacité anti-oxydante équivalente /g de poids sec, dont il existe une forte corrélation entre cette activité et le contenu phénolique total qui est de 102,09±1,65 mg équivalent d'acide gallique /g (Bakchiche *et al.*, 2019).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

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

Notre étude a été consacrée aux dosages de quelques antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) d'une plante médicinale *Artemisia campestris L*, suivi par l'évaluation de son activité antioxydante (DPPH).

Nos résultats montrent que les extraits d'*Artemisia campestris L* riche en polyphénols et en flavonoïdes avec une teneur plus élevée ($188.31 \pm 28.23 \mu\text{g EAG/mg E}$; $17.73 \pm 0.93 \mu\text{g EQ/mg E}$) pour l'E.Méth, et une faible teneur pour l'E.Aq ($61.71 \pm 12.85 \mu\text{g EAG/mg E}$; $6.225 \pm 0.349 \mu\text{g EQ/mg E}$).

L'activité anti-oxydante des différents extraits d'*Artemisia campestris L* a été évaluée par le test de réduction du radical libre DPPH avec les résultats montrant que les deux extraits méthanolique et aqueux ont la capacité de piégeage du DPPH ($\text{IC}_{50} = 30,400 \mu\text{g/ml}$; $81,631 \mu\text{g/ml}$ respectivement) et du BHT standard ($\text{IC}_{50} = 24,123 \mu\text{g/ml}$).

La plante d'*Artemisia campestris L* possède une activité anti-oxydante très élevée, cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits en composés phénoliques, particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Nos perspectives se résumant à :

- L'étude approfondie sur la plante *Artemisia campestris L* pour isoler les molécules bioactives responsable de différentes activités biologiques.
- Tester les activités biologiques des autres parties de plantes.
- Recherche d'autres activités biologiques (antimicrobienne, anticancéreux, anti-inflammatoire....).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Akassa, H., Ondele R., Peneme, B.M.L., Etou Ossibi, A.W., Morabandza, C.J., Tamboura, Abena, H.H., (2019). Activité aphrodisiaque et étude du mécanisme d'action de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Pausinystalia yohimbe* Kschum (Rubiaceae) chez le rat wistar .Journal of Animal & Plant Sciences, 39 (1) : 6372-6383.

Atere, T.G., Akinloye, O.A., Ugbaja, R.N., Ojo, D.A., Dealtry, G., (2018). In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. Food Science and Human Wellness, 10 : 1016.

Akrouit A., Chemli R., Simmonds M., Kite G., Hammami M., Chreif I. (2003). Seasonal Variation of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L, Journal of Essential Oil Research. P :333-336.

Akrouit A, Gonzalez LA, El Jani H, Madrid PC. Antioxidant and antitumor activities of -
Artemisia campestris and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. Food Chem
Toxicol 2011;49:342-347.

Al-Snafi, I, A. (2016). Antiparasitic effects of medicinal plants (part 1): a review. IOSR journal of pharmacy. 6. 51-66

Al-Snafi A-E. (2015). The phamacological Importance of. *Artemisia campestris* Areview. P90-91.

Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., & Lightfoot, D. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from.

Belhattab R., Boudjouref M., Barroso J.G., Pedro L.P., Figueirido A.C(2011). Essential Oil composition from *Artemisia campestris* Grown in Algeria.Adv. Environ.Biology.5(2), 429-432.

BAKCHICHE Boulanouar, GHERIB Abdelaziz, Maria Rosário BRONZE, Mosad A. GHAREEB.dentification, Quantification, and Antioxidant Activity of Hydroalcoholic Extract of *Artemisia campestris* from Algeria.Turk J Pharm Sci 2019;16(2):234-239.

Boudjouref Mourad, BelhattabRachid, Bouteghrine Sihem.(2018). Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria, World Journal of Environmental Biosciences.P:62-63

Bouras Hind et Deneche lina nourhan .2020.Effet antidiabétiques d'une plante médicinale du genre Rubus ulmifolius shoot chez l'ovin Diplome de Magister.En Biochimie Appliqué. . Université Mentouri Constantine.Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.Département de Biochimie Appliqué.p49.

Ben Othmen, M., Salah-Fatnassi, K.B.H., Ncibi, S., Elaissi, A., & Zourgui. L., (2017). Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Tercium polium* L subsp.gabesianum (LH) from Tunisia. *Physiologie and molecular biology of plants*, 23 (3) : 723-729.

Boussaid .M ,(2013) . Etude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) de l'extrait de tannins de *pituranthos chloranthus* (ghezze). *Alimentation et Nutrition .université de tlemcen-abou-bekr belkaïd* 2013 .p 08 11 , 12.

Bone, K., & Mills, S. (2012). *Principles and practice of phytotherapy modern herbal medicine*, 2nd Ed. Elsevier Health Sciences, p: 17-82...

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*: Lavoisier

Bahorun, T., B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, J. Vasseur, M. Cazin, J. C. Cazin, and M. Pinkas. 1996. "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations." *Arzneimittelforschung* 46 (11):1086-9.

Caratini R. (1971). *Bordasen cyclopedie*.Ed Bodas.Belgique.23: 137-195

Chanforan, C. (2010). *Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate (Thèse de doctorat)*. Université d'Avignon.

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

Cuevas-Valenzuela, J., Vergara- Salinas, J.R., Pérez-Correa, J.R., (2016). *Advances in Technologies for Producing Food-Relevant Polyphenols*. CRC Press, Boca Raton, p. 335.

- Delgado, A. M., Issaoui, M., Chammem, N (2019). Analysis of Main and Healthy - Phenolic Compounds in Foods. *Journal of AOAC international*, 102(5), 1356-1364.
- Dib, I., Angenot, L., Mihamou, A., Ziyat, A., and Tits, M. (2017). *Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. *J. Herb. Med.* 7, 1-10.
- Dib I., El-Alaoui F. E (2019)., *Artemisia campestris*. L: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds., *Biomedicine and pharmacotherapy*. vol 109, p-p1884-1906.
- Damian-reyna A, Gonzalez-hernandez J.C et Chavez-parga M.C. (2016). Current procedures for extraction and purification of citrus flavonoids current extraction of citrus. *Revue of Colombia. Biotechnology*. 18(1): 135-147.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., & Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660. doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.028.
- Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T., and Chelghoum, C. (2005). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia campestris*. L. from Algeria. *Pharm. Biol.*, 43(6), 512-514.
- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M., (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68, 7, 939-953.
- Elhadi, Y., & Carrillo-Lopez, A. (2019). *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*, Woodhead Publishing, p: 253-271.
- Elkolli .M 2016 : structure et activités des substances naturelles : principes et applications . Rapport de synthèse , pp 10 ,14.
- El-Mokasabi F.M., (2014). Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi .Alkuf, Al-jabal Al-Akhder, Libya.*Am Eurasian J Agric. Environ.Sci.*, 14, 685-697.
- Emery S.M.,Rudgers J.A.,(2010).Ecological assessment of dune restoration in the Great Lakes region.*Restor.Ecol.*, 18, 184-194.
- Fabre, G, et al. (2015). « Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes », *Chem Commun*, vol. 51, n° 36, p. 7713-6.

Fakchich J. et Elachouri M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.*, 154, 76-87.

Godic A., Poljšak B., Adamic M., Dahmane R. (2014). The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014.

Ghissi Z., Sayari N., Kallel R., Bougateg A., Sahnoun Z. .2016. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat, *Biomed. Pharmacother.* 84 (2016) 115–122

Hartmann, T., (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 22, 2831-2846.

Ibrahim (2013). « Antioxydant activity and phenolic content of *Stebulusper*», *Antioxydant (Basel)*, vol.2, n° 3, p. 2156_66.

Ita, BN, and SI Eduok. 2017. "Radical Scavenging Activity of Edible Fungal Sporocarp Extracts from the Niger Delta Region of Nigeria." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9 (4):493-497.

Kehrer J.P., Klotz L.O., Roberts S.M. (2015). An overview of free radicals as causes and consequences of toxicity. In *Studies on Experimental Toxicology and Pharmacology*. Humana Press, Cham. pp. 21-27.

Khettaf A, Belloula N, Dridi S (2016). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 15(13), 524-530

Kumar R. S., Narasingappa R. B., Joshi C. G., Girish T.K. 2017. Prasada Rao U.J. ,Danagoudar A. Evaluation of *Cassia tora* Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage/*J Pharm BioalliedSci* 9(1):33-43. .

Kumar H., Choudhary N., Varsha. Kumar N, Suma N. et Seth R. (2014). Phenolic compounds and their health benefits: A review. *Journal of Food Research and Technology*. 2: 46-59.

Kundan S., and Anupam S. (2010). The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp:1-9.

Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., and Bouajila, J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herbaalba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food Chem.Toxicol.*, 55, 202-208.

Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, 2: 2328-2375.

Kawada.K.,Suzuki K.,Suganuma H.,Smaoui A.,Isoda H.,(2012).Plant biodiversity in the semi-arid zone of Tunisia .*J.Arid Land Stud.*,22,83-86.

L. Frédéric, Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traîneau en course de sprint. Thèse doctorat, vetagro sup campus de lyon, 2011.

Legrand, G. (2015). Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée: approches biochimique et moléculaire. Lille 1.,

Lushchak V.I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*. 224, 164-175.

Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G., (2002). *Botanique: Technique et documentation*. Lavoisier, Paris, 3, p. 211.

Litescu, S. C., Eremia, S., & Radu, G. L. 2010 : Methods for the determination of antioxidant capacity in food and raw materials. In *Bio-Farms for Nutraceuticals* (pp. 241-249). Springer, Boston, MA.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. 2018 : Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.

Lima, G. P. P., Vianello, F., Corrêa, C. R., Campos, R. A. D. S., & Borguini, M. G. (2014). Polyphenols in fruits and vegetables and its effect on human health. *Food and Nutrition sciences*, 1065-1082.

Lochab, B., Shukla, S., & Varma, I. K. (2014). Naturally occurring phenolic sources: monomers and polymers. *Rsc Advances*, 4(42), 21712-21752.

María Janeth, Rodríguez-Roque, Begoña de Ancos , Concepción Sánchez-Moreno, M. Pilar Cano, Pedro Elez-Martínez , Olga Martín-Belloso . Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages . *Journal of Functional Foods* , 2015.vol 14 , pp ,33-43.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses.
.polytechniques, Lausanne, p. 192.

Marouf, A., et Reynaud, J., (2007). *La botanique de A à Z*. Dunod, Paris, p.177.

Matsumura, E., Matsuda, M., Sato, F., Minami, H., Ramawat, K.G., Mérillon, J.M., (2013). Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes. Springer- Verlag, Berlin.

MASOTTI, Véronique, DE JONG, Laetitia, MOREAU, Xavier, et al. Larvicidal activity of extracts from *Artemisia* species against *Culex pipiens* L. mosquito: Comparing endemic versus ubiquitous species for effectiveness. *Comptes rendus biologies*, 2012, vol. 335, no 1, p. 19-25.

Memmi A., Sanag G., Rejeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z., Fekhih. A (2007), use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. *Arch.Inst.Pasteur.Tunis.vol 84*, p-p49-55.

Minami M., Suzuki M., Hosokawa K., Kondo S., Oka K., Shibata T., (2010). Preliminary survey of taxonomical problems, pharmacognostic characteristics, chloroplast DNA polymorphisms of the folk medicinal herb *Artemisia campestris* from the Ryukyu Islands, Japan. *J.Nat.Med.*, 64, 23 239-244.

Mucciarelli M and Maffei M. (2002). *Artemisia: Introduction to the Genus* Vol. 18 Ed

Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.

Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli. A. (2007).

Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.*

19 : 326–329.

Moalla S., Ammar I., Fauconnier M-L., Danthine S., Blecker C., Besbes S., Attia H.(2021). Development and characterization of chitosan films carrying *Artemisia campestris* antioxidants for potential use as active food packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules* 18364; No of Pages 13.

MUANDA F., 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz : 55p.

Megdiche-Ksouri W, Trabelsi N, Mkadmini K, Bourgou S, Noumi A, Snoussi M, et al.-

Artemisia campestris phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity.

Ind Crops Prod 2015;63:104-113.

N . Ghedadba , H . Bousselsela , L . Hambaba , S . Benbia & Y. Mouloud.(2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L.2014 .

Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.

Nibir Y.M, Sumit A.F, Akhand A.A, Ahsan N et Hossain M.S, (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7: 352-357.

Noumi Z., Ouled Dhaou S., Derbel S., Chaieb M., (2010).the status of Asteraceae in the arid and saharian flora of North African region: case of Tunisia.*Pak. J. Bot*,42, 1417-1422.

Noui Hendel , Djamel Sarri , Madani Sarri , Mounir Selloum , Faiza Boussakra , Ouahiba Driche. Screening for in vitro antioxidant activity and antifungal effect of *Artemesia campestris* L. *Int J Agric Environ Food Sci* 5 (3):251-259 (2021).

Patil, V.M., & Masand, N. (2018). Anticancer potential of flavonoids: chemistry, biological activities, and future perspectives. *Studies in Natural Products Chemistry*, 59, 401430. Doi: [org/10.1016/B978-0-444-64179-3.00012-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64179-3.00012-8).

Pillou (2014). « Radicaux libres – Définition », *Journal des Femmes*.-

Pirini Chrisoula B., Tsiripidis I., Bergmeier E., (2014). Steppe-like grass land vegetation in the hills around the lakes of Vegoritida and Petron, North-Central Greece. *Hacquetia*, 13(1), 121- 169.

Pisoschi A.M., Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*. 97, 55-74.

Quezel et Santa. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Centre National de la Recherche Scientifique. 988-989.

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*. 2(2): 219-236.

Rahman T., Hosen I., Towhidul islam M. et Uddin shekhar H. (2012). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3 : 997-1019.

Rebbas K. et Bounar R., (2014). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'sila (Algérie). *Phytothérapie* 12, 284-291.

S.B. Nimse, D. Pal, Free radicals, naturel antioxydants, and their reactions mechanisms. *RSC advances journal*, 2015, 5, 27986-28006.

Salinas M.J., Guirado J., (2002). Riparian plant restoration in summer-dry riverbeds of Southeastern Spain. *Restor. Ecol.*, 10, 695-702.

Saadaoui I., Ilahi H., Robin B.C., Rejeb H., (2014). Contribution to the study of the flora in the central-west of Tunisia: landscape dynamics and evaluation of plant biodiversity of mountain Bouchebka. *Int.J. Innov. Appl. Stud.*, 6, 257-268.

Saoudi M., Ncir M., Ben Ali M., Grati M., Jamoussi K., Allouche N a El Feki A. (2017). Chemical components, antioxidant potential and hepatoprotective effects of *Artemisia campestris* essential oil against deltamethrin-induced genotoxicity and oxidative damage in rats, *Gen. Physiol. Biophys.* (2017), 36, 331–342.

Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., ... & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.

Sefi, M., Fetoui, H., Soudani, N., Chtourou, Y., Makni, M., and Zeghal, N. (2012). *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products. *Pathol. Res. Prac.*, 208(3), 157-162.

Sulaiman, I.S.C., Basri, M., Masoumi, H.R.F., Chee, W.J., Ashari, S.E., & Ismail, M. (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11, 1: 54.

Stalikas D. (2007). Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. 30: 3268-3295.

Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. J. V. P. 2015 : The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology*, 71, 40-56.

T.Desmier, Les Antioxydants De Nos Jours, Définition et Applications. Thèse de doctorat, Université de Limoges, 2016.

Tauchen, J., Doskocil, I., Caffi, C., Lulekal, E., Marsik, P., Havlik, J., ... & Kokoska, L. 2015 : In vitro antioxidant and anti-proliferative activity of Ethiopian medicinal plant extracts. *Industrial Crops and Products*, 74, 671-679.

T. Persson., B. O. Popescu, A. Cedazo-Minguez, Oxidative Stress in Alzheimer's- Disease: Why Did Antioxidant Therapy Fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–11.

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2(12), 1231- 1246. Doi: 10.3390/nu2121231.

Uzma, F, Fatema, A et Magda, M (2017).«Protective role of tocopherol an ascorbicacid in taxol-treated huma erythrocytes in vitro», *Toxicology Research and Application*, p. 17.

Valko M., Jomova K., Rhodes C.J., Kuča K., Musílek K. (2016). Redox-and nonredox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of toxicology*. 90(1), 1-37.

Wang, Y., Chun, O. K., & Song, W. O. 2013 : Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: a review of human studies. *Nutrients*, 5(8), 2969-3004.

Weidinger A., Kozlov A.V. (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*. 5(2), 472-484.

Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *Int Jf Mol Sci*. 11:622-646.

Xu, D.P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.J., & Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1: 96.

Yun, K. W., Maun, A., and Kim, J. H. (2007). Effects of the aqueous extract from *Artemisia campestris* ssp. caudata on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses. *J. Plant Biol.*, 50(3), 358-361.

Z.Mohammedi, Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Abou bekr belkaid ,2013

Zhuang, T., Li, F., Huang, L.R., Liang, J.Y., Qu, W., (2015). Secondary metabolites from the plants of the family Saururaceae and their biological properties. *Chemistry And Biodiversity*, 12, 2, 194-220.

