



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement et de la recherche
scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR-KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire présentées

en vue de l'obtention *du diplôme de Master académique LMD*

Filière : Sciences biologiques

Option: Biochimie appliquée

Thème

**Investigation phytochimique et étude *in vitro*
de l'activité anti-inflammatoire des composés
phénoliques issus de la plante médicinale
Artemisia campestris L**

par

LAKHZOUM Nawel et BAHLOUL Amina

Soutenu le : 28/06/2017

Devant les membres de jury

Président : Dr. ZERAIB Azzedine	MCB	Université Abbes Laghrou - Khenchela
Encadreur : Dr. DOUAOUYA Lilia	MCB	Université Abbes Laghrou - Khenchela
Examineur : Mr TABET Rachid	MAA	Université Abbes Laghrou - Khenchela

Promotion : 2017

Le travail à été réalisé au laboratoire de Biochimie à l'Université Abbes Laghrou
- Khenchela -

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail. Car sans lui rien n'est possible.

*Un grand merci à **Dr. ZERAIK Azzedine** qui nous avons honorés en acceptant d'être président de ce jury. Hommages respectueux.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Mr. TABET Rachid** de nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce travail. Tout l'honneur lui en revient.*

*Nous tenons à remercier vivement **Dr. DOUAOUYA Lilia**, pour avoir encadré et dirigé ce travail. Sa compréhension, son aide et sa très gentillesse durant tout le long de notre mémoire, sa compétence et la qualité de ses conseils.. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

Nous adressons nos profonds remerciements aussi à toute l'équipe du laboratoire pédagogique de l'institut de Biologie à l'université de Khenchela.

Enfin, nous remercions tous les enseignants, nous leurs adressons nos sincères remerciements pour leurs patience et pour tout ce qu'il nous avons offert comme enseignements et conseils durant ce long cycle de formation et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

DEDICACE

****A nos très chers parents*

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle ne saurait exprimer toute nos reconnaissances et tout l'amour qu'on vous porte...

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements.

Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour notre éducation.

Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur !

****A nos très chères sœurs et nos chers frères*

Pour leur soutien et leur encouragement tout au long de la réalisation de ce travail.

****A toutes nos amies,*

Lesquelles ont partagée des bons moments de bonheur et moment les plus difficiles pendant toute la période passée aux études surtout :

*Azhar, MANEL, KHAOULA, ASSIA,
Nawel, Mina, Loubna et Zineb.*

Liste des tableaux

1	Le rendement des trois extraits d' <i>Artemisia campestris</i>	29
2	Screening phytochimique des composés constituant l'extrait méthanolique d' <i>Artemisia Campestris</i>	30
3	CCM de l'extrait éther de pétrole Système solvant : chloroforme /méthanol (96:4) Adsorbant : Gel de silice.....	33
4	CCM de l'extrait acétate d'éthyle Système solvant : Toluène/acétate d'éthyle/Méthanol (50:30:10) Adsorbant : Gel de silice.....	34
5	CCM de l'extrait n-butanolique Système solvant : Chloroforme/Méthanol (60:40) Adsorbant : Gel de silice.....	35

Liste des figures

1	Mécanisme d'action des AINS.....	6
2	Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie : Certains Principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires.....	10
3	Squelette de base des flavonoïdes.....	12
4	Carte géographique représente la localisation d'obtention de la plante <i>Artemisia campestris</i> (Oulad Rechache, Wilaya de Khenchela.....	21
5	Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut.....	22
6	Photos montrant l'extraction liquide-liquide.....	23
7	Protocole expérimental résumant les différentes étapes d'extraction des flavonoïdes.....	24
8	Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois mesures).....	31
9	Histogramme représente la teneur en flavonoïdes de la plante <i>Artemisia campestris</i> pour les trois fractions	32
10	Photos de chromatogramme résultant de l'analyse des trois extraits par chromatographie sur gel silice (révélation à UV), 365 nm par les systèmes solvants : (A) : CM : Chloroforme Méthanol, (6: 4), (B) : TAM : Toluène, acétate d'éthyle, Méthanol (5 :3 :1) et (C) : CM : chloroforme, méthanol (96 :4).....	35
11	Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction éther de pétrole de la plante <i>Artemisia campestris</i>	36
12	Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction acétate d'éthyle de la plante <i>Artemisia campestris</i>	37
13	Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction n-butanolique de la plante <i>Artemisia campestris</i>	37
14	Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de la <i>Diclofenac</i>	38

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens
AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium
BSA : Sérum bovine albumine
CCM : Chromatographie sur couche mince
COX : Cyclo-oxygénases
DO : Densité optique
EEP : Extrait éther de pétrole
EAC : Extrait acétate d'éthyle
E n-Bu : Extrait n -butanol
Fe CL₃ : Chlorure de fer 3
GABA : Acide α aminobutyrique
IL-1 : Interleukine 1
IMID: Immune mediated inflammatory diseases
LOX: Lipoxygénase
MC : Maladie de crohn
Na₂CO₃ : Carbonate de sodium
NF-KB: Nuclear factor-kappa B
NH₄OH : Ammoniaque
PRI : Protéines de la réaction inflammatoire
RF: Rapport frontal
SEP : Sclérose en plaques
TNF: Tumor necrosis factors
UV: Ultraviolet

Table des matières

Résumés	
Liste des tableaux	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : L'inflammation et les anti-inflammatoires

I.Généralités.....	03
I.1.Définition.....	03
II.Ethiologie.....	03
III. Réactions inflammatoires.....	03
III.1 Les diverses phases de la réaction inflammatoire.....	04
IV. Notion d'inflammation aiguë et inflammation chronique.....	04
IV.1.Inflammation aiguë.....	04
IV.2.Inflammation chronique	04
V. Les anti-inflammatoires intervenants lors des mécanismes inflammatoires....	05
V.1.Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	05
V.2.Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	05
V.3.Les anti-leucotriènes.....	06
V.4.Les inhibiteurs des cytokines pro-inflammatoires.....	07
VI. Les maladies inflammatoires.....	07
VI.1. Maladie de crohn.....	07
VI.2. Maladie de lyme.....	08
VI.3. La sclérose en plaques.....	08
VI.4. Le cancer.....	08

Chapitre II : La phytothérapie

I. La phytothérapie.....	09
II. Les plantes médicinales.....	09
III. Les substances naturelles des plantes et leurs activités biologiques.....	09
III.1.Les métabolites primaires	10
III.2.Les métabolites secondaires.....	11
III.2.1.Les polyphénols.....	11
III.2.2.Les flavonoïdes.....	11
III.2.2.1.Structure et classification	12
III.2.2.2.Intérêt et effet biologiques des flavonoïdes.....	12
III.2.3.Les tanins.....	13
III.2.4.Les terpènes et stéroïdes.....	14
III.2.5.Les alcaloïdes.....	14
III.2.6.Les coumarines.....	15
III.2.7.Les saponosides.....	15

Chapitre III : La plante médicinale sélectionnée

<i>I. Artemisia Campestris</i>	16
I.1. Généralités	16
I.2. Description botanique.....	16
I.3. Systématique de la plante.....	17
I.4. Origine de distribution.....	17
I.5. Composition chimique.....	17
I.6. Utilisation traditionnelle.....	18
I.7. Activités biologiques.....	18
I.7.1. Activité antioxydante.....	19
I.7.2. Activité antibactérienne.....	19
I.7.3. Effet insecticide.....	20
I.7.4. Propriétés allélopathiques.....	20
I.7.5. Activité hypoglycémiante.....	20
I.7.6. Effet antipoison.....	20

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	21
I.1. Matériel végétal.....	21
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	21
II. Méthodes.....	22
II.1. Préparation de l'extrait méthanolique.....	22
II.1.1. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut.....	23
II.1.2. Détermination du rendement d'extraction	23
II.2. Screening phytochimique de la plante.....	25
II.2.1. Recherche des tanins.....	25
II.2.2. Recherche des saponosides.....	25
II.2.3. Recherche des flavonoïdes.....	25
II.2.4. Recherche des coumarines.....	25
II.2.5. Recherche des composés réducteurs.....	26
II.2.6. Recherche des alcaloïdes.....	26
II.3. Etude quantitative.....	26
II.3.1. Dosage des flavonoïdes	26
II.3.1.1. Principe.....	26
II.3.1.2. Expression des résultats.....	26
II.4. Etude qualitative.....	27
II.4.1. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM).....	27
III. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	27
IV. Etude statistique.....	28

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Détermination du rendement d'extraction.....	29
II. Résultats de l'étude phytochimique.....	30
II.1. Screening chimique.....	30

II.2. Analyse quantitative.....	31
II.2.1. Dosage des flavonoïdes.....	31
II.3. Etude qualitative de la chromatographie sur couche mince des fractions issues de l'extrait méthanolique brut.....	33
II.3.1. Composés identifiés dans la fraction éther de pétrole.....	33
II.3.2. Composés identifiés dans la fraction acétate d'éthyle	34
II.3.3. Composés identifiés dans la fraction n-butanolique	35
III. Etude <i>in vitro</i> de l'Activité anti-inflammatoire d' <i>Artemisia campestris</i>	36
Conclusion et perspectives.....	40
Références bibliographiques.....	42

Résumé

L'objectif de cette étude est l'investigation phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des fractions organiques de l'extrait méthanolique brut d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle récoltée de la région de Khenchela (*Artemisia campestris*).

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires dont nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes, des composés réducteurs et les coumarines.

Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits organiques a révélée une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.

L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révélant une teneur de $74,91 \pm 16,32 \mu\text{g}$, $11,31 \pm 2,65 \mu\text{g}$ et $3,69 \pm 1,01 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour les fractions n-butanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole respectivement.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire obtenus via l'évaluation *in vitro* de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire remarquable dose-dépendante. Cependant, cette activité ne dépend pas à la teneur en flavonoïdes mais plutôt à la nature et la classe de ces phytomolécules.

En conclusion; L'*Artemisia campestris* est douée d'une activité anti-inflammatoire remarquable. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications de l'inflammation chez le patient.

Mots clés : Activité anti-inflammatoire, *Artemisia campestris*, CCM, flavonoïdes.

Abstract

The objective of this study is phytochemical investigation and *in vitro* evaluation of the anti-inflammatory activity of the organic fractions of the raw methanolic extract of a medicinal plant of the traditional pharmacopoeia harvested from the region of Khenchela (*Artemisia campestris*).

The phytochemical screening carried out revealed the richness of our plant in secondary metabolites of which we have found the presence of flavonoids, saponins, tannins, alkaloids of reducing compound and coumarins.

Thus, the qualitative study by TLC of the organic extracts revealed a remarkable diversity of the flavonoid compounds capable of expressing the desired activity.

The quantitative analysis of flavonoids by the aluminum trichloride method revealed a content of $74,91 \pm 16,32 \mu\text{g}$, $11,31 \pm 2,65 \mu\text{g}$ and $3,69 \pm 1,01 \mu\text{g}$ EQ/mg of extract for the n-butanol, ethyl ether and petroleum ether respectively.

The results of the anti-inflammatory activity obtained via the *in vitro* evaluation of percent inhibition of protein denaturation show that the extracts have remarkable dose-dependent anti-inflammatory activity. However, this activity does not depend on the flavonoid content but rather on the nature and class of these metabolites.

In conclusion; *Artemisia campestris* has a remarkable anti-inflammatory activity. As a result, it can be a natural resource to alleviate the complications of inflammation in the patient.

Key words: Anti-inflammatory activity, *Artemisia campestris*, TLC, flavonoids.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط الحيوي المضاد للالتهابات للمستخلصات العضوية المستخرجة من المستخلص المثلي الخام للنبتة الطبية (الشيخ) في الطب البديل كأدوية تقليدية والتي اقتطفت من منطقة خنشلة واطهر الفحص الكيميائي النباتي ثراها بالمركبات الثانوية كالفلافونويد و لصابونين والعفص و القلويدات و المركبات المرجعة و الكومارين.

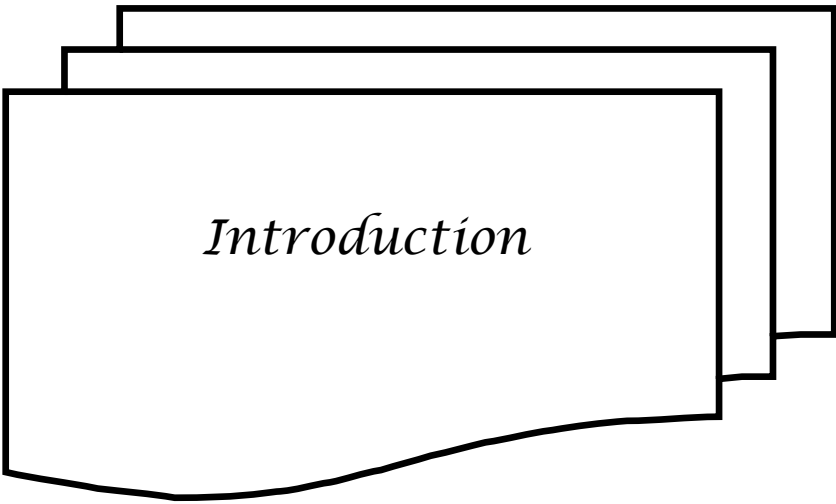
وكذلك من خلال الدراسة النوعية عن طريق CCM لهذه المستخلصات اظهرت تنوع ملحوظ في المكونات الفلافونية القادرة علي التعبير عن النشاط المطلوب.

وكشف التحليل الكمي للمركبات الفلافونية بطريقة الاليمينوم ثلاثي الكلوريد على نسبة $16,32 \pm 74,91$ ميكروغرام/ملغ و 2.65 ± 11.31 ميكروغرام/ملغ و 1.01 ± 3.69 ميكروغرام/ملغ من مستخلص ن_بيوتانول و خلاص الإيثيل و إيثر البترول على التوالي.

نتائج النشاط الحيوي المضاد للالتهابات التي تم الحصول عليها عن طريق التقييم في المختبر لنسبة تثبيط تخريب البروتينات تبين أن هذه المستخلصات لها نشاط حيوي مضاد للالتهاب ملحوظ تعتمد على الجرعة. ومع ذلك، فإن هذا النشاط لا يعتمد على محتوى الفلافونويد ولكن بدلا من ذلك على طبيعة وفئة هذا الأيض.

وفي الختام الشيخ لدية نشاط حيوي مضاد للالتهابات ملحوظ لذلك قد يشكل موردا طبيعيا للتخفيف من مضاعفات الالتهاب عند المريض.

الكلمات الدالة: نشاط مضاد للالتهاب، أرتيميسيا كامبستريس، CCM ، فلافونويد.



Introduction

Introduction

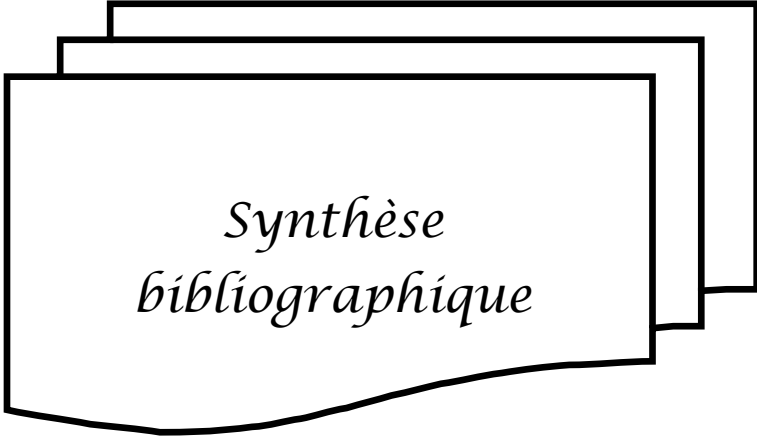
Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner. On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle, De plus, sur les 300 000 espèces végétales recensées, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques. La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie **(1)**.

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent. Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Les humains apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes à travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Les plantes produisent un grand nombre de composés, dont, jusqu'à il n'y a pas très longtemps, on ne connaissait pas le rôle pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires **(2)**.

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'un autre côté, la surproduction des espèces réactives d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires **(3)**.

C'est dans ce contexte, que s'inscrit la présente étude dont ce manuscrit s'articule autour de deux parties: Outre l'introduction et la conclusion générale, la première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont abordés trois chapitres : L'inflammation et les anti-inflammatoires, la phytothérapie et la plante médicinale sélectionnée pour notre étude.

La deuxième partie est expérimentale divisée en deux chapitres; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction des flavonoïdes, leur identification par CCM, étude de leurs teneurs en flavonoïdes et l'évaluation *in vitro* du pouvoir anti-inflammatoire des extraits organiques de *l'Artemisia campestris* et le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de la discussion.



*Synthèse
bibliographique*

*Chapitre I : l'inflammation et les
anti-inflammatoires*

I. Généralités

I. 1. Définition

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation.

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend ; des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général, et des phénomènes locaux ; l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire, mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation (4).

II. Etiologies

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples et représentent les agents pathogènes. Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- **Infection** : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons).
 - **Agents physiques** : traumatisme, chaleur, froid, radiations.
 - **Agents chimiques** : caustiques, toxines, venins.
 - **Corps étrangers** : exogènes ou endogènes.
 - **Défaut de vascularisation** : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie.
 - **Aggression dysimmunitaire** : (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité).
- (5).

III. Réactions inflammatoires

La réaction inflammatoire est une réaction de défense et d'adaptation de l'organisme face à une agression tissulaire. Le syndrome inflammatoire est très fréquemment rencontré en

pratique courante : 25 à 30% des patients consultants ou hospitalisés. Dans tout processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause, on peut observer une réaction localisée et une réaction systémique.

Réaction localisée: caractérisée par les quatre signes de CELSUS : Rougeur, Tuméfaction, Chaleur et Douleur. Ne pas confondre avec CELSIUS de la thermométrie.

Réaction systémique: se caractérisant par l'augmentation de la synthèse des protéines de la réaction inflammatoire (PRI) et une baisse des protéines dites marqueurs de la dénutrition à l'instar de l'albumine et la transferrine (6).

III.1. Les diverses phases de la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire se déroule en 3 phases successives :

•**Phase initiale vasculaire :** caractérisée par une vasodilatation artériolaire qui conduit à un érythème, une chaleur locale, une hyperesthésie, et un œdème.

•**Phase cellulaire ou phase d'amplification :** caractérisée par la migration extra vasculaire (Diapédèse) et la libération des cytokines qui sont à l'origine de l'activation cellulaire. Il se forme alors des tissus de granulation (granulome).

•**Phase de reconstruction ou phase de régénérescence :** correspond à la sclérose du tissu par élimination des débris cellulaires et tissulaires par un mécanisme de phagocytose et de pinocytose (7).

IV. Notions d'inflammation aiguë et d'inflammation chronique

IV.1. Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculaires exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante.

IV.2. Inflammation chronique

Inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

•les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.

•Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes, ou d'affections où les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (exemple : hépatite chronique active secondaire à une infection par virus de l'hépatite B ou C) (8).

V. Les anti-inflammatoires intervenants lors des mécanismes inflammatoires

V.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou (gluco) corticoïdes sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles, cortisol et cortisone dont ils se distinguent par un pouvoir anti-inflammatoire plus marqué et, à l'inverse, un moindre effet minéralocorticoïde. L'activité anti-inflammatoire des corticoïdes s'exerce sur les différentes phases de la réaction inflammatoire et se manifeste dès les faibles doses (de l'ordre de 0,1 mg/kg par jour d'équivalent prednisone). L'importance de cette propriété varie selon le dérivé, parallèlement à la durée de l'effet freinateur de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ou demi-vie biologique. En l'absence d'un processus inflammatoire, les corticoïdes (contrairement aux AINS) n'ont pas d'effet antalgique (9).

V.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines. Ce mécanisme d'action commun confère aux AINS leurs propriétés et leurs effets indésirables. La diminution de la synthèse des prostaglandines par les AINS est consécutive à l'inhibition plus ou moins sélective des iso-enzymes de la Cox. On peut classer les AINS selon leur famille chimique, leur demi vie ou selon leur spécificité anti-Cox. Sur ce dernier critère, on distingue quatre catégories d'AINS :

– **Les anti-Cox-1 préférentiels:** représentés par l'aspirine à faible dose (300 mg par jour ou moins), employée comme antiagrégant à visée anti thrombotique.

– **Les anti-Cox-2 préférentiels:** nimésulide (Nexen®), méloxicam (Mobic®)

– **Les anti-Cox-2 sélectifs**: célécoxib (Celebrex®), parécoxib (Dynastat®), étoricoxib (Arcoxia®), qui se démarquent des précédents par leur moindre risque ulcérogène et l'absence d'effet antiagrégant plaquettaire .

– **Les AINS classiques**, qui tous inhibent Cox-2 et peu ou prou Cox-1 aux doses thérapeutiques.

Ils partagent quatre propriétés : activité antipyrétique, antalgique, anti-inflammatoire et inhibition des fonctions plaquettaires. Ils exposent en outre à des complications communes digestives, rénales, gynéco-obstétricales et à des réactions d'intolérance cutanéomuqueuses (10).

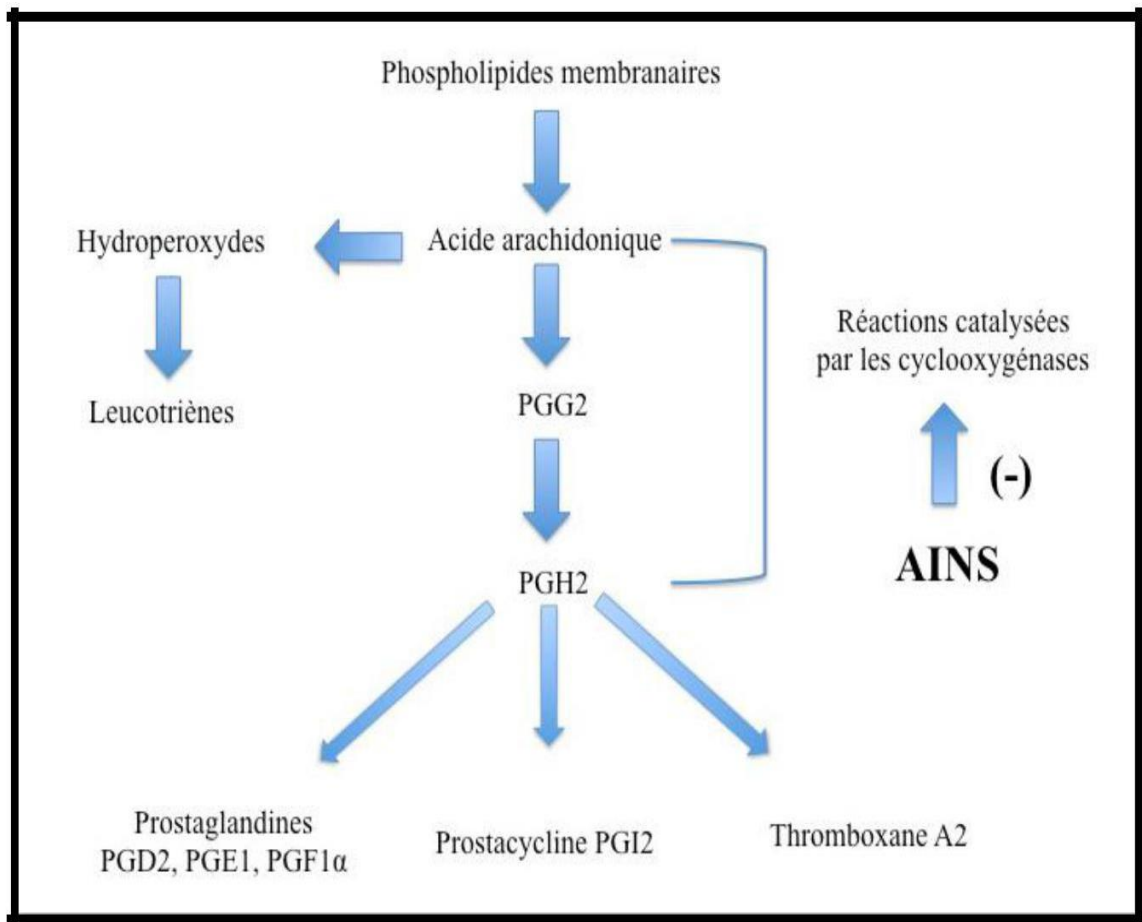


Figure 1 : Mécanisme d'action des AINS (11).

V.3. Les anti-leucotriènes.

Se sont des médicaments utilisés dans le traitement de l'asthme. Les leucotriènes sont naturellement présents au sein des bronches des personnes souffrant d'asthme. Ils entraînent une constriction plus importante des bronches en augmentant leur inflammation. Les anti-leucotriènes sont donc destinés à limiter l'inflammation bronchique et à réduire les difficultés

respiratoires, notamment dans le cadre d'un asthme d'effort. Les anti-leucotriènes sont des traitements de fond (12).

V.4. Les inhibiteurs des cytokines pro-inflammatoires

Ils sont directement issus des progrès des connaissances quant au rôle de différentes cytokines dites pro-inflammatoires, en particulier du TNF α et de l'IL-1. Les molécules utiles au blocage de ces cytokines sont essentiellement représentées par des anticorps monoclonaux ou des protéines recombinantes (13).

VI. Les maladies inflammatoires

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires. Ces affections récemment regroupées sous le terme d'IMID (immune mediated inflammatory diseases) .Ces maladies inflammatoires étaient définies jusqu'à présent par des critères cliniques et biologiques validés par l'usage et l'avis d'experts. Cependant, leur polymorphisme suggère qu'une même entité puisse être liée à des mécanismes moléculaires différents. À titre d'exemple, la polyarthrite rhumatoïde(PR) est une maladie articulaire parfois extrêmement agressive ou inversement une forme bénigne non destructrice. Jusqu'à présent, il était difficile d'envisager « d'affiner » la classification de ces maladies, mais de nouveaux outils immunitaires et/ou moléculaires permettent maintenant une nouvelle approche nosologique. Au-delà du progrès conceptuel, cette nouvelle classification permettra d'adapter les stratégies thérapeutiques en utilisant des molécules ciblées pour chaque forme de maladie, l'objectif le plus ambitieux étant de pouvoir disposer du« bon traitement pour le bon patient » (14).

VI.1. Maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique du système digestif. Les causes de l'inflammation ne sont pas encore connues et sont vraisemblablement multiples, impliquant des facteurs génétiques, auto-immuns et environnementaux .Cette maladie gastro-intestinale se caractérise par des épisodes aigus de diarrhées et de douleurs abdominales. Ce phénomène aigu est compensé par des périodes de rémission de durées variables lors des quelles l'état clinique du patient est amélioré .Cette maladie est souvent diagnostiquée vers l'âge de 20 ans. Cependant la population pédiatrique et les personnes plus âgées sont également atteintes par cette maladie. Cette maladie est présente principalement dans les pays industrialisés (15).

VI.2. La maladie de Lyme

La maladie de Lyme est une maladie inflammatoire chronique se caractérise par l'apparition, au site de piqûre de la tique, d'une plaque rouge sur la peau, en forme de cible, dont la surface augmente progressivement durant les semaines suivant le contact. Le diamètre de cette plaque dépasse généralement 5 cm. D'autres symptômes peuvent survenir, tels que des douleurs musculaires ou articulaires, des maux de tête, de la fièvre ou de la fatigue. Dans les semaines ou les mois suivants, des complications au niveau du cœur, du système nerveux ou des articulations peuvent apparaître (16).

VI.3. La sclérose en plaques

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie dégénérative du système nerveux central. Les lésions de la SEP sont la conséquence de réactions auto-immune contre la gaine de myéline. Ainsi l'étude des lésions a démontré que les plaques naissantes et donc encore actives étaient constituées d'axones démyélinisés, de débris de la couche de myéline ainsi que d'un nombre anormalement élevé de cellules immunitaires. Les symptômes de la sclérose en plaques dépendent de la localisation des plaques de démyélinisation et de l'inflammation se déclenchant n'importe où sur le trajet des fibres nerveuses du système nerveux central (17).

VI.4. Le cancer

Inflammation orchestre le microenvironnement autour des tumeurs, contribué à la prolifération, la survie et la migration (18). Les cellules cancéreuses utilisent sélectionnées, des chimio kinés et de leurs récepteurs pour l'invasion, la migration et les métastases (19). D'autre part, de nombreuses cellules du système immunitaire contribuent à l'immunologie du cancer, en supprimant le cancer intersection moléculaire entre les récepteurs d'hormones stéroïdes, qui ont des effets importants sur le développement cellulaire, et les facteurs de transcription qui jouent des rôles clés dans l'inflammation, tels que NF-KB, peut médire certains des effets les plus critiques de stimuli inflammatoires sur les cellules cancéreuses (20). Cette capacité d'un médiateur de l'inflammation pour influencer les effets des hormones Stéroïdes dans les cellules, est très susceptible d'affecter la carcinogenèse d'un côté. D'autre part, en raison de la nature modulaire de plusieurs récepteurs d'hormones stéroïdes, cette interaction peut offrir des moyens pour interférer avec la progression du cancer, en ciblant un domaine de protéine spécifique dans un type cellulaire spécifique (21).

Chapitre II : La phytothérapie

I. La phytothérapie

Le terme phytothérapie vient du grec : (*phytos*) : la plante et (*therapiae*) : la thérapie, elle signifie le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. La Phytothérapie utilise des plantes médicinales dans leur totalité ou certaines parties de la plante dans des buts thérapeutiques, elle compte parmi les premières et les plus anciennes méthodes curatives depuis l'aube de l'humanité.

Historiquement, la médecine classique n'existerait pas sans la phytothérapie. C'est avec le développement ultra-rapide des sciences naturelles au XIXe siècle, et particulièrement avec les avancées de la chimie, que l'on a pu isoler des composants purifiés des plantes et produire leurs dérivés partiellement synthétiques, puis fabriquer de nouvelles molécules synthétisées chimiquement, pour finalement les introduire comme elles le sont actuellement dans l'arsenal de la médecine classique. Un grand nombre proviennent de la nature du moins en ce qui concerne leur structure de base (22).

II. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes possédant des molécules à l'intérieur de leur organe (feuilles, fleurs...etc.) et pouvant selon des techniques chimiques (extraction, distillation...) permettre à l'isolation des principes éléments actifs (huiles, alcool...) pour des buts thérapeutiques.

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- Comme un mélange complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures)
- Pure, chimiquement définie comme des principes actifs

Les composés purs sont généralement utilisés quand les principes actifs des plantes produisent une forte et spécifique activité ou bien avaient un faible indice thérapeutique (23).

III. Les substances naturelles des plantes et leurs activités biologiques

Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Figure2).

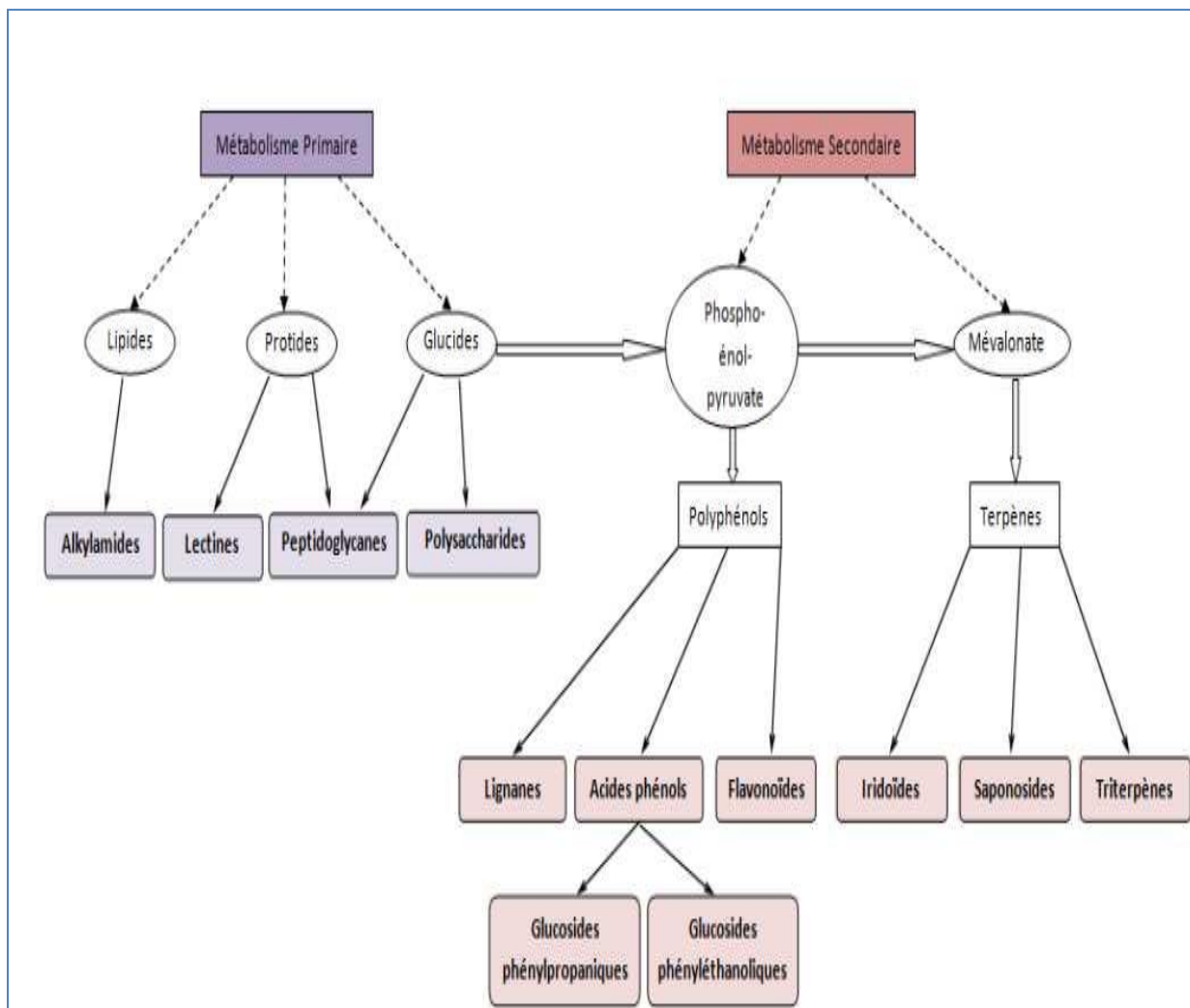


Figure 2 : Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie : Certains Principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires (24).

III.1. Les métabolites primaires

Les plantes utilisent l'énergie du rayonnement solaire, le dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère, l'eau et les éléments inorganiques du sol qu'elles absorbent par les racines (eau, éléments inorganiques) et par les feuilles (dioxyde de carbone).

Le processus de base est la photosynthèse qui fixe le carbone contenu dans le dioxyde de carbone atmosphérique, en le combinant aux atomes d'hydrogène contenus dans les molécules d'eau. Les premiers produits formés par la photosynthèse sont des hydrates de carbones, de

faible masse moléculaire (oses). C'est à partir de ces oses (ou sucres) que sont ensuite formés tous les métabolites primaires nécessaires à la survie de la plante : glucides complexes (polymères comme la cellulose, l'amidon ou les pectines), acides aminés (constitutifs des protéines), acides gras (constitutifs des lipides)...etc (25).

III.2. Les métabolites secondaires

Les plantes produisent un grand nombre de substances appelées métabolites secondaires. Ces métabolites secondaires végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes. Ils participent de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV, etc.) (26). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (27).

III.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles et ayant outre les propriétés habituelles des phénols (28). ils sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant : Défense contre les moisissures et les bactéries phytopathogènes, la résistance à l'attaque des insectes et l'attraction des pollinisateurs (29).

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes: Les flavonoïdes, Les acides phénoliques de types benzoïques ou cinnamiques les tanins, les hydrolysables, Les stilbènes, les lignines et les subérines, Ces classes montrent une extrême variété d'activités biologiques (30). Tel que; des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux (31), anti-allergènes, vasodilatateurs (32), et antioxydants (33).

III.2.2. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes au sens large sont des pigments quasiment universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (34).

III.2.2.1. Structure et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés Benz-y-pyranne (35). Leur structure de base est celle d'un diphényle propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (36).

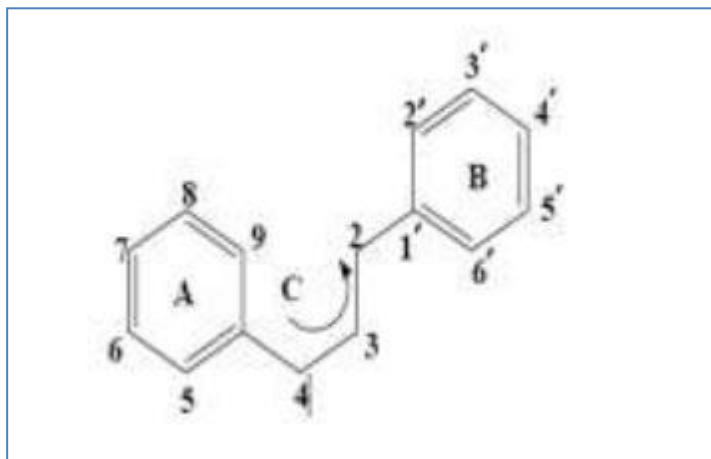


Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes (37).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones (38), soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (39). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (40).

III.2.2.2. Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... (41). Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles.

Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect

esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) (42).

Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (43). Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes (44).

Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce (45).

Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides, s'accumulent dans les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs. On prête à certains flavonoïdes (phytoalexines), un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes (46).

III.2.3. Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires poly-phénoliques très répandus dans le règne végétal (47) hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000D. A la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en 2 groupes: Tanins condensés (pro-anthocyanidines) qui sont des polymères ou oligomères flavoniques avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (48). et les tanins hydrolysables qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénolique. Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines) .Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et légumineuses et les fruits comme .Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes. Les tanins montrent plusieurs activités biologiques ils ont un effet anti-diarrhéique, vasoconstricteurs, antiseptique, antioxydantes antiparasitaires, antimicrobienne.

Les tanins ont aussi des propriétés proches de celles des flavonoïdes : augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire et stabilisation du collagène. (49).

III.2.4. Les terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 des molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation de nombre n , dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes. Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol).

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols ; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol (50).

III.2.5. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites décrivent des matières protéiques. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (51).

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, norépinephrine, acide α aminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine, d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépérissant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (52).

III.2.6. Les Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H) -1 pyrannone-2 (53). Les coumarines se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides (54). Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxy des et pyroxyles (55). Les coumarines sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy-Zcinnamique, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide ortho coumarinique (56).

III.2.7. Les Saponosides

Mot latin « sapon », l'herbe à savon. Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins. Ces molécules sont connues pour leur propriété tensio-active ou encore leur capacité à lyser les globules rouges (hémolyse) (57).

L'hydrolyse d'une saponine, par l'action d'un acide ou d'enzyme, produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques, certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines ; celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques (58).

*Chapitre III : La plante médicinale
sélectionnée*

Artemisia campestris

I. *Artemisia campestris*

I.1. Généralités

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (59).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (60).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (61).

I.2. Description botanique

Artemisia campestris est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (62).



Photo : Vue générale de la plante d'*Artemisia campestris* prise à partir du site d'étude (Lakhzoum, 2017)

I.3. Systématique de la plante (63).

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermatophyta

Sous embranchement: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Sous famille: Asteroideae

Tribu: Anthemideae

Sous Tribu: Artemisiinae

Genre: *Artemisia*

Espèce: *Artemisia campestris* L.

I.4. Origine et distribution

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent 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, elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud, d'après (64), *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie.

I -5- Composition chimique

L'utilisation des solvants à polarité différente, suivie par des étapes de fractionnements et l'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de plantes. De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles (65).

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré (66), elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température,

altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante (67).

Plusieurs études (68). Ont rapporté que la composition des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*, analysée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), A identifié dans une espèce de Camargue (Marseille, France) 51 composés, caractérisés les plus abondants sont : γ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugenol, p-cymène et β -pinène.

Les constituants les plus abondants d'une espèce de Tunisie sont : β -pinène (24,2-27,9 %), p-cymène (17.4–22.3%) et α -pinène (4.1–11.0%), ces constituants représentent plus de 45 % de l'huile totale (69).

Le contenu phénolique total, les flavonoïdes, les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydrox benzoïques de l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques.

Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont: flavone (apéginie), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (70). Les feuilles d'*Artemisia campestris* contiennent aussi des alcaloïdes, des saponines (71).

I.6. Utilisation traditionnelle

Artemisia campestris est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies:

- En usage local *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (72). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (73).
- La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (74).
- La consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*A. campestris* permet de réduire les symptômes digestifs (75).

I.7. Activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Artemisia campestris* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi les quelles on cite les plus importantes :

I.7.1. Activité antioxydante

La partie aérienne d'*Artemisia campestris* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydants en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes. Dans une étude faite par Aniya et al (2000) l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* a été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphényle-1-1-picryl hydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée (76).

De leurs coté Akrouit ses collaborateurs (2011) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique à+ 50%) en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison à celle de l'huile essentielle (77).

I.7.2. Activité antibactérienne

Artemisia campestris est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaire. Naili et al (2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris*, ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*) (78).

Ben Sassi et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'activité antibactérienne de quatre extraits organiques (méthanol, acétate éthyle, acétone, chloroforme) de 23 plantes médicinales dont *Artemisia campestris* contre 14 bactéries Gram positif et Gram négatif. Les résultats ont montré que l'extrait d'acétone est le seul qui montre une action inhibitrice contre trois types de bactéries: *S. epidermidis*, et *S. saprophyticus*, *S. aureus* (79).

En outre *Artemisia campestris* possède des propriétés antifongiques, Kyeong et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'effet antifongique de l'extrait aqueux des racines d'*Artemisia campestris* sur des champignons de mycorhize, les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux possède un potentiel antifongique.

Les plantes du genre *Artemisia* contiennent un sesquiterpène lactone appelé: Artémisinine, ce composant constitue le métabolite secondaire le plus important chez toutes les espèces *Artemisia*, il est considéré comme une drogue antimalariale très efficace contre le parasite qui cause la malaria: le *Plasmodium falciparum* (80). L'artémisinine possède également plusieurs activités, il est efficace contre les maladies infectieuses telle que l'hépatite B (81).

I.7.3.Effet insecticide

Une étude récente a été réalisée par Pavela (2009), où l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* a été testé pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique *Culex quinquefasciatus*, cet extrait a montré un degré de répulsion très intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs maladies comme la malaria. (82).

I.7.4.Propriétés allélopathiques

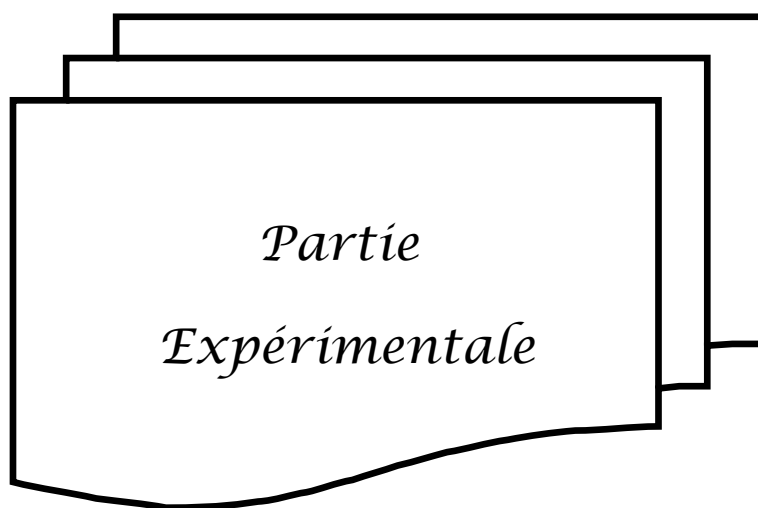
Les plantes du genre *Artemisia* possèdent des propriétés allélopathiques par inhibition de la croissance et la germination de certaines plantes de l'entourage, Ces propriétés sont dues probablement à la présence d'acide phénolique, et d'autres composants polaires(83).

I.7.5. Activité hypoglycémiant

Sefi et ses collaborateurs (2010) ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia campestris*, diminue le taux de glucose dans le plasma des rats chez les quels le diabète est induit par l'alloxane monohydrate, ils ont trouvé également que la diminution de la concentration de glucose s'accompagne d'une part d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faibles densité (LDL), et d'autre part d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète (84).

I.7.6.Effet antipoison

Les extraits d'acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et de dichlorométhane, des feuilles d'*Artemisia campestris* ont été testés pour ses capacités de neutralisation de venin de scorpion et de vipère, les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique, inhibe l'activité de dégradation des globules rouges contre le venin du scorpion ,des résultats similaire ont été obtenus pour l'extrait de dichlorométhane pour la neutralisation de venin de la vipère (85).



Partie
Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

Notre travail ayant pour objet l'investigation phytochimique et l'étude *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits organiques d'une plante médicinale *Artemisia campestris*. L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Il est constitué de la partie aérienne de la plante *Artemisia campestris*, récoltée au cours du mois de mars 2017 de la région d'Oulad Rechache (Zoui), Wilaya de Khenchela.

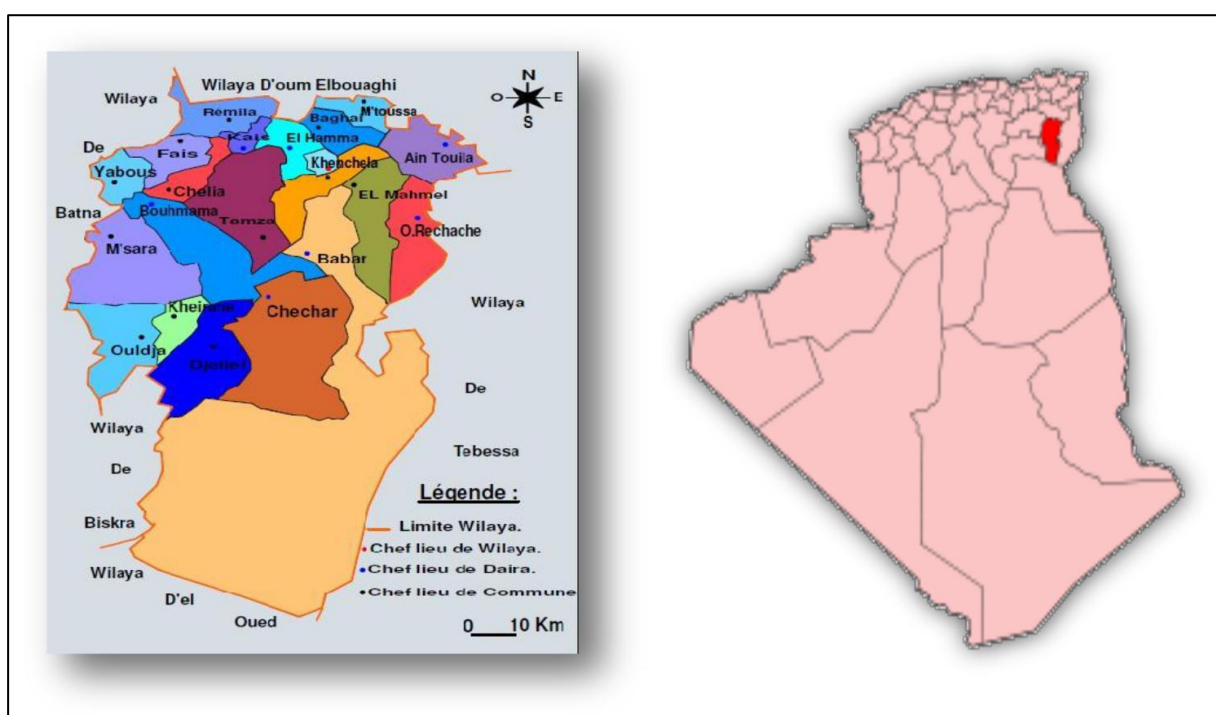


Figure 4: Carte géographique représente la localisation d'obtention de la plante *Artemisia campestris* (Oulad Rechache, Wilaya de Khenchela) (86).

I.2. Réactifs chimiques et instrumentation

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits : Folin-ciocalteu, FeCl_3 , acide sulfurique (H_2SO_4), HCl , acide acétique,

NaOH, NH₄OH, KI, I₂, Na₂CO₃, méthanol, KH₂PO₄, Acide gallique, NaCl, AlCl₃, n-butanol, chloroforme, acétone, plaques CCM, SAB. Parmi l'appareillage utilisé : Rotavapeur (HAHANVAPOR), Spectrophotomètre (UV/Vis 6305 JENWAY) UV-Vis à double faisceau, Chambre d'observation UV (CN-6), Etuve, Autoclave, agitateur magnétique (SCIOLOGEX MS7-H550-Pro), pH mètre (pH211 microprocessor) et balance de précision (SOLOCEXMS 7-H 550-Pro).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait méthanolique

La partie aérienne de la plante fraîchement récoltée sont séchée à l'ombre pendant un mois dans un endroit sec et aéré, ensuite elles ont été broyées dans un broyeur électrique pour l'obtention d'une poudre fine, cette dernière est conservée dans un flacon en verre bien hermétique. 300 g de la poudre de la partie aérienne de la plante médicinale *Artemisia compestris* mis à macérer dans un mélange méthanol /eau (7:3) d'un volume de 1150 ml pendant 24 heures à température ambiante 22-24°C. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait hydroalcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange dont le méthanol est éliminé par évaporation sous pression réduite via un rotavapeur à la température 45°C (**Figure 5**) permettant ainsi d'obtenir l'extrait méthanolique brut qui est conservé à -4°C (**87**).

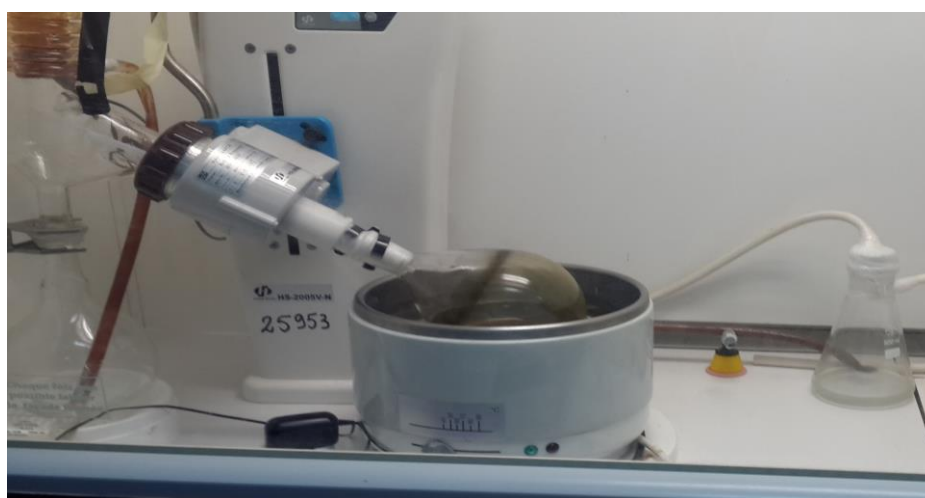


Figure 5 : Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut.

II.1.1. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut

La méthode de Markham (1982) était suivie pour l'extraction des flavonoïdes en utilisant des solvants organiques à polarité décroissante dont l'extrait brut méthanolique a été initialement mélangé avec l'eau distillée bouillante pendant une nuit. Après filtration la phase aqueuse a été soumise à trois extractions successives liquide-liquide par l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle et le n-butanol (**figure 6**). Les différentes étapes de cette extraction sont résumées dans la (**figure 7**) (87).

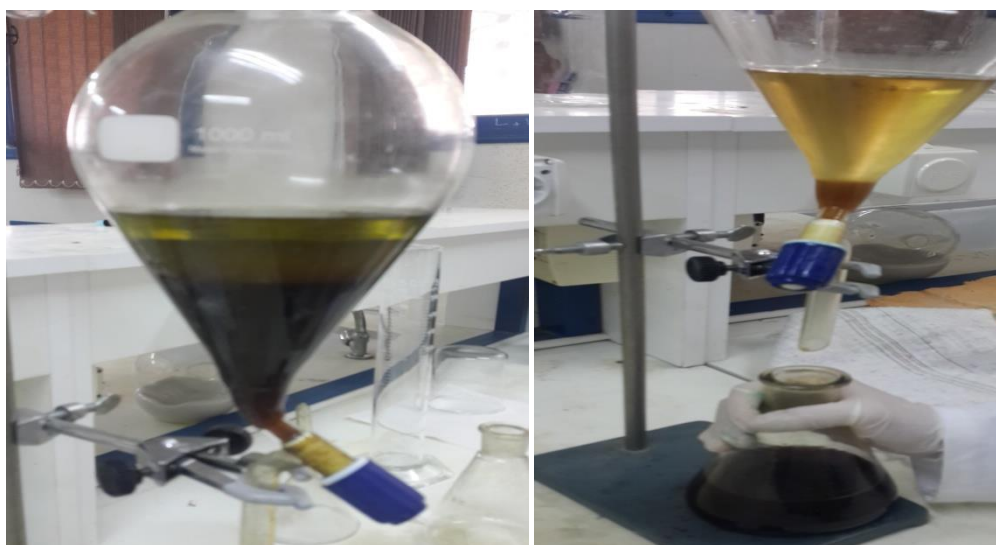


Figure 6 : Photos montrant l'extraction liquide-liquide.

II. 1.2. Détermination du rendement d'extraction

Le résidu ou la poudre obtenus des extraits d'éther du pétrole, d'acétate d'éthyle et de n-butanol sont pesés pour la détermination du rendement selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_s / P_p \times 100$$

Où : P_s : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

P_p : Poids de la poudre en gramme (g).

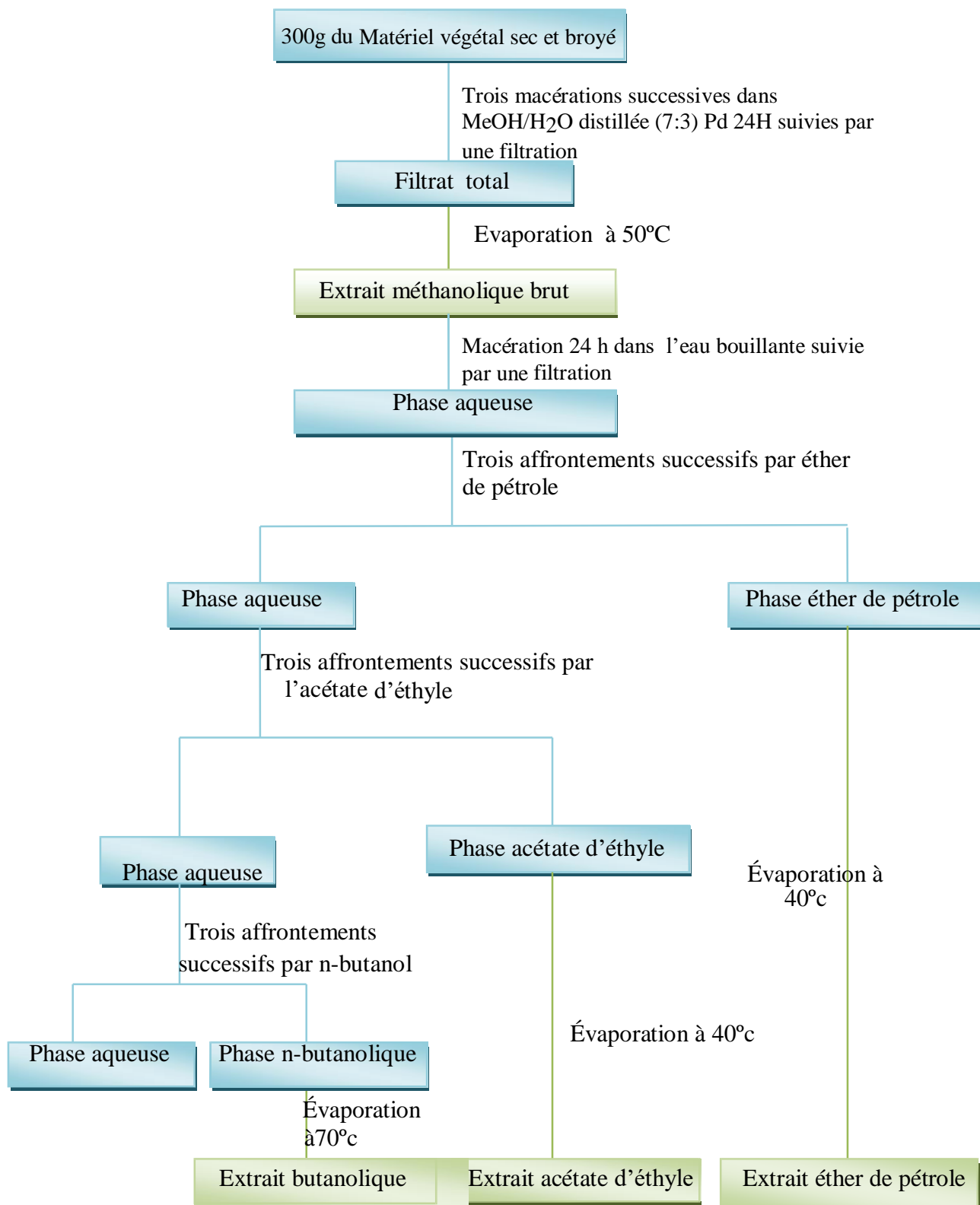


Figure 7 : Protocole expérimental résumant les différentes étapes d'extraction des flavonoïde (87).

I.2. Screening phytochimique de la plante

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques. Les tests phytochimiques qualitatifs sont réalisés sur l'extrait méthanolique brut d'*Artemisia campestris* et les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+ : Positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé.

II.2.1. Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 2%, sont ajoutées à 2 ml de chaque extrait. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le test est considéré positif s'il ya l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (88).

II.2.2. Recherche des saponosides

- Test 1 : 5 ml de chaque extraits sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (89).
- Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (90).

II.2.3. Recherche des flavonoïdes

5 ml de chaque extrait sont traités avec quelques gouttes d'AlCl₃ (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (91).

II.2.4. Recherche des coumarines

Les résidus secs sont dissous dans l'eau distillée par chauffage. Après refroidissement, la solution obtenue été répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05 ml de NH₄OH 10% dans le 2eme tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (92).

II.2.5. Recherche des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl₃ sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (93).

II.2. 6. Recherche des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffé dans un bain marie. Après la filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels(94).

II.3. Etude quantitative

II.3.1. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par Djeridane (95) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

II.3.1.1. Principe

1ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol).Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

II.3.1.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon .Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µgEQ/mg).

II.4. Etude qualitative

II.4.1. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvant, adapté au type de séparation recherchée, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal -Rf- et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures.

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium 20/20 cm dont chaque extrait a été déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. Les plaques sont ensuite placées dans les cuves de développement, à environ 0,5 cm de hauteur dans les quelles se trouve la phase mobile dont trois systèmes de migration différents ont été utilisés selon les extraits :

Extrait Ether de pétrole : BAW : Butanol/Acide acétique/H₂O (4 : 1 : 5).

Extrait Acétate d'éthyle : Chloroforme/ Méthanol/H₂O (85 : 10 : 5).

Extrait n-Butanolique : Acétone/H₂O (1 :1).

Après développement, les plaques sont séchées, puis visualisées séparément par une révélation physique sous lampe UV à 365 nm.

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant sur la distance parcourue par le solvant et les rapports frontaux des spots sont comparés à ceux des témoins permettant ainsi l'identification des constituants de différents extraits (96).

III. Etude de l'activité Anti-inflammatoire

L'exploration de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits (d'éther du pétrole, d'acétate d'éthyle et de n-butanol) a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines dont l'activité a été déterminée en utilisant trois concentrations pour chaque extrait (0.5mg/ml, 1mg/ml et 2 mg/ml). La méthode consiste à préparer quatre solutions (97).

La solution d'essai (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (SAB) à 0,5 % et 0,05 ml d'extrait.

La solution control test (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de SAB 0,5 % et 0,05 ml d'eau distillé.

La solution contrôle produit (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extrait.

La solution standard test (0,5 ml) compose de 0,45 ml de la solution aqueuse de **SAB** à 0,5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 250 µg/ml.

Les échantillons ont été incubées à 37 °C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté pour garder les échantillons à 57°C pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate tampon saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessous.

L'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit **(98)** :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = 100 - \left[\frac{(\text{DO de la solution essai} - \text{DO de la solution contrôle produit})}{\text{DO de La solution essai}} * 100 \right]$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le Diclofenac de sodium (250 µg/ml).

IV. Etude statistique

Chaque expérience a été répétée deux ou trois fois et les valeurs sont représentées par la moyenne ± écart type.

Chapitre II : Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Détermination du rendement d'extraction

Les extraits organiques ont été préparés à partir de la poudre de la partie aérienne d'*Artemisia Campestris* en utilisant la méthode de macération, Les résultats sont représentés dans le **tableau 1**.

Tableau1. Le rendement des extraits organiques d'*Artemisia campestris*

La plante	Poids du matériel végétal en (g)	Extrait	Couleur	Aspect	Poids de l'extrait en (g)	Rendement en (%)
<i>Artemisia campestris</i>	300	Ether de pétrole	Vert	Liquide	25	8.33
		Acétate d'éthyle	Vert	Visqueux	10	3.33
		n-Butanol	Marron	Consistant	6	2

L'opération de l'extraction des flavonoïdes a partir du matériel végétal d'*Artemisia campestris* à l'aide des solvants organiques a permis d'obtenir des résidus secs des extraits d'éther de pétrole (25g), d'acétate d'éthyle (10g) et de n-butanolique avec 6g qui correspond respectivement aux rendements 8.33%, 3.33% et 2 %.

Les deux extraits (éther du pétrole et acétate d'éthyle) issus de la plante *Artemisia campestris*, présentent une couleur verte très foncée et des aspects différents (liquide et visqueux), mais le troisième extrait (n-butanol) présente une couleur marron. Dans notre étude, l'extraction est réalisée d'abord à froid par simple macération (99). Qui est une méthode discontinue dont le solvant devrait être remplacé jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée (100). donc il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif ; il varie en fonction de la localisation géographique de l'espèce végétale, le degré de maturité, la génétique, le climat, la période de récolte l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions

de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (101).

II. Résultats de l'étude phytochimique

II.1. Screening chimique

Le screening phytochimique nous a permis de déterminer les différentes familles de composés qui se trouvent dans la partie aérienne de l'extrait méthanolique brut de la plante *Artemisia campestris* dont les résultats sont montrés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Screening phytochimique préliminaire d'extrait méthanolique brut d'*Artemisia Campestris*

Extrait méthanolique d' <i>Artemisia campestris</i>		
Les composés	Test	Remarques
Les saponosides	(+)	Formation d'une mousse persistante après 15 min
Les flavonoïdes	(+)	Apparition d'une coloration jaune
Les tanins	(+)	Apparition d'une coloration bleue noire et un précipité après 3 min
Les composés réducteurs	(+)	Apparition de deux phases séparées (colorée rouge et l'autre en bleu vert)
Les alcaloïdes	(+)	Apparition d'une turbidité et d'un précipité avec le réactif de Wagner
Les coumarines	(+)	Présence d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV

Les résultats sont exprimés selon :

- Réaction franchement positive (+)
- Réaction négative (-)

Dans l'extrait méthanolique brut d'*Artemisia Campestris*, les composés les plus caractéristiques ont été les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes sels, les coumarines et en fin les composés réducteurs ce qui confirme les travaux de (Akrouit 2011), qui a été révélé la présence des flavonoïdes dans *Artemisia Campestris*. La richesse de cet extrait en composés chimiques peut expliquer son utilisation traditionnelle pour traiter les troubles digestives, la diarrhée, le rhumatisme,...etc (102).

II.2. Analyse quantitative

II.2.1. Dosage des flavonoïdes

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) réalisé par une solution étalon (la quercétine) à différentes concentrations (Figure 8).

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

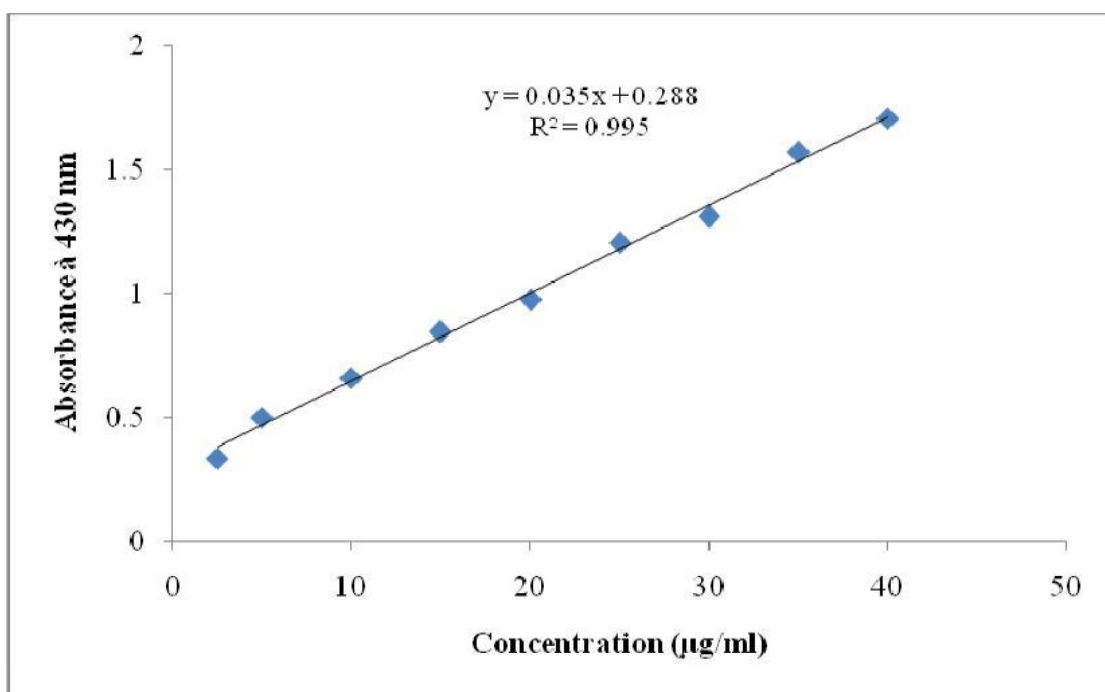


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois mesures).

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (103).

les flavonoïdes que pourraient contenir les différentes fractions issues de l'extrait méthanolique brut seraient comme suit : l'extrait éther de pétrole qui est en générale constitué des flavonoïdes aglycones hautement méthyles, l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycones ou flavonoïdes mono O-glycosides et partiellement di-O-glycosides, tandis que le n-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes les plus polaires (di, tri, et tétra-glycosylés) (104).

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure révèle une richesse de l'extrait n-butanolique avec un taux de $74,91 \pm 16,32 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec environ $11,312 \pm 2,648 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait et enfin l'extrait éther de pétrole caractérisé avec la teneur la plus faible en flavonoïdes à raison de $3,698 \pm 1,01 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait (Figure 9).

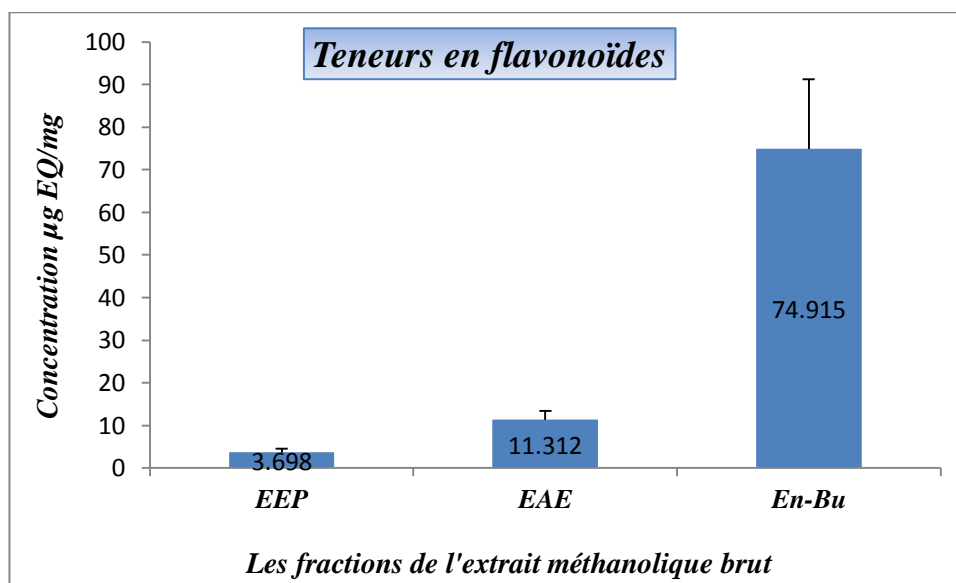


Figure 9: Histogramme représente la teneur en flavonoïdes totaux des fractions organiques de l'*Artemisia campestris*.

II.3. Etude qualitative de la chromatographie sur couche mince des fractions issues de l'extrait méthanolique brut.

Le développement de la méthode pour la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais aussi le choix de la phase stationnaire, la technique de développement choisie, dimension de la chambre de développement et de l'espace vapeur ont un effet prononcé sur la séparation (105).

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavoniques des extraits des parties aériennes de la plante *Artemisia campestris*

L'identification des composés était basée sur la comparaison des R_f et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur la plaque en utilisant plusieurs systèmes d'élution de polarité différente.

Suivant la révélation des plaques, les spots ont été visualisés sous une lampe UV à la longueur d'onde 365 nm, dont elle révèle les taches fluorescentes et visible et les tableaux 4-5-6 résumant les résultats du CCM.

II.3.1. Composés identifiés dans la fraction éther de pétrole

Tableau 3 : CCM de l'extrait éther de pétrole

Système solvant : chloroforme /méthanol (96:4)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Rouge	0.067	Anthocyanidine 3-glycosides
Bleu	0.581	Acide phénol
Bleu	0.797	Acide phénol
Rouge	0.878	Anthocyanidine 3-glycosides

Quatre spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait **éther de pétrole** par le système des solvants utilisés chloroforme/méthanol (96 :4) appartenant aux différentes classes flavoniques (Figure10 : A).

II.3.2. Composés identifiés dans la fraction acétate d'éthyle

Tableau 4 : CCM de l'extrait acétate d'éthyle

Système solvant : Toluène/acétate d'éthyle/Méthanol
(50:30:10)
Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365(nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Rouge	0.074	Anthocyanidine 3-glycosides
Bleu Fluorescent	0.246	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol
Pourpre	0.456	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, chalcones
Bleu	0.617	Flavonols, Acide phénol
Pourpre Sombre	0.679	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, chalcones
Bleu	0.790	Flavonols, Acide phénol
Rouge	0.839	Anthocyanidine 3-glycosides
Mauve	0.876	Anthocyanidine 3-glycosides
Rouge	0.913	Anthocyanidine 3-glycosides
Mauve	0.962	Anthocyanidine 3-glycosides

Dix spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait d'acétate d'éthyle par le système de solvant utilisé (TAM:Toluène /Acétate d'éthyle/Méthanol (50:30:10)) appartenant aux différentes classes flavoniques (**Figure10 : B**).

II.3.3. Composés identifiés dans la fraction n-butanolique

Tableau 5 : CCM de l'extrait n-butanolique
Système solvant : Chloroforme/Méthanol (60:40)
Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365(nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Bleu fluorescent	0.642	Flavonols, flavonones, isoflavone flavanones, acide phénol
Rouge	0.929	Anthocyanidine 3-glycosides

Deux spots de dépôt de l'extrait de n-butanol ont été révélés par le système de solvant utilisé Chloroforme/Méthanol (60 :40) qui font partie des flavonols, flavonones, isoflavone flavanones, acide phénol ou des anthocyanidine 3-glycosides (**Figure10 : C**).

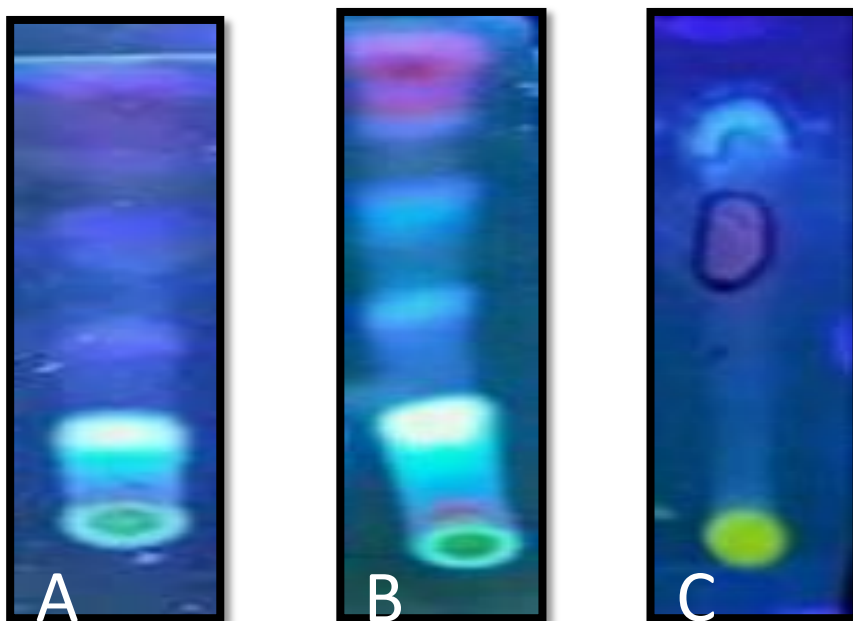


Figure10 : Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse des fractions organiques par chromatographie sur gel silice (révélation à UV(365 nm) par les systèmes solvants : (A) : CM : Chloroforme/Méthanol(60:40), (B) : TAM : Toluène/Acétate d'éthyle/Méthanol (50:30:10) et (C) : CM : Chloroforme/Méthanol (96:4)

III. Etude *in vitro* de l'Activité anti-inflammatoire d'*Artemisia campestris*

Le test de l'activité anti-inflammatoire par la méthode d'inhibition de la dénaturation de la protéine bovine surum albumine (BSA) à différentes concentrations a été réalisé dont les absorbance sont mesurés à 416 nm.

D'après les résultats, illustrés dans **la figure 11**, obtenus pour l'extrait d'éther de pétrole de la plante *Artemisia campestris*, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation sont de 94.59%, 88% et 83.5% correspondant respectivement aux concentrations 2, 1 et 0,5 mg/ml.

La figure 12 montre les résultats obtenus pour la fraction acétate d'éthyle de la plante *Artemisia campestris*, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des concentrations 2, 1 et 0,5 mg/ml sont respectivement 93.18%, 90.83% et 81.9%.

Les résultats enregistrés dans **la figure 13** révèle que l'extrait n-butanolique exprime les pourcentages d'inhibition de la dénaturation sont à raison de 69.3%, 67.1%et 62.1% respectivement des concentrations 2, 1 et 0,5 mg/ml.

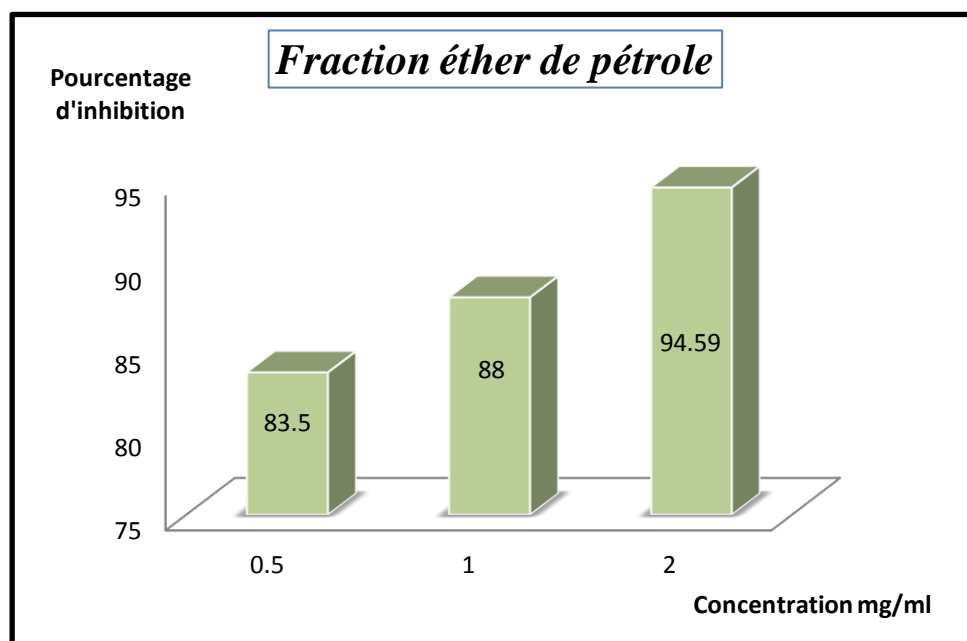


Figure 11 : Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction éther de pétrole de la plante *Artemisia campestris*.

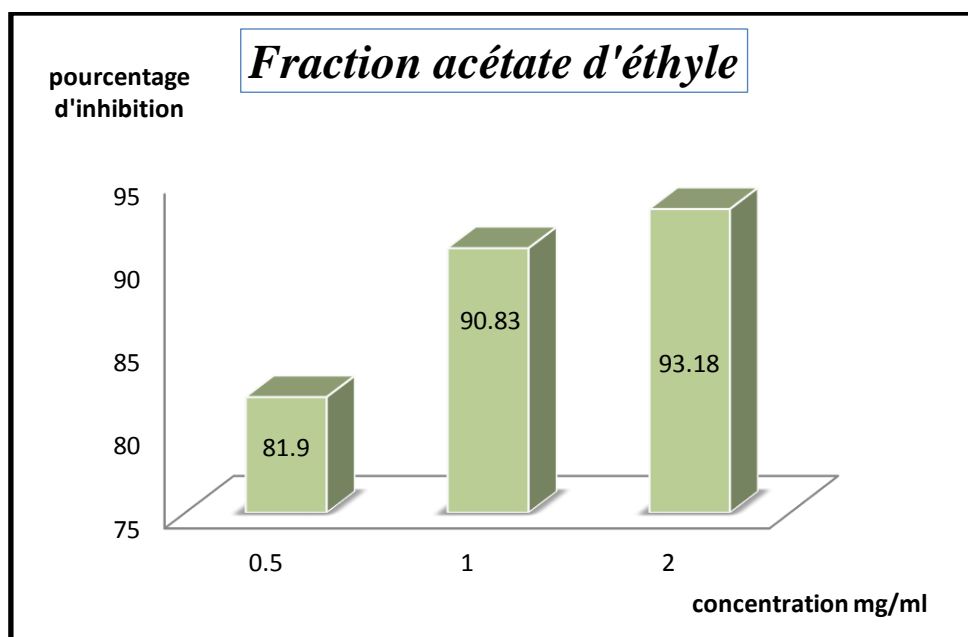


Figure 12 : Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction acétate d'éthyle de la plante *Artemisia Campestris*

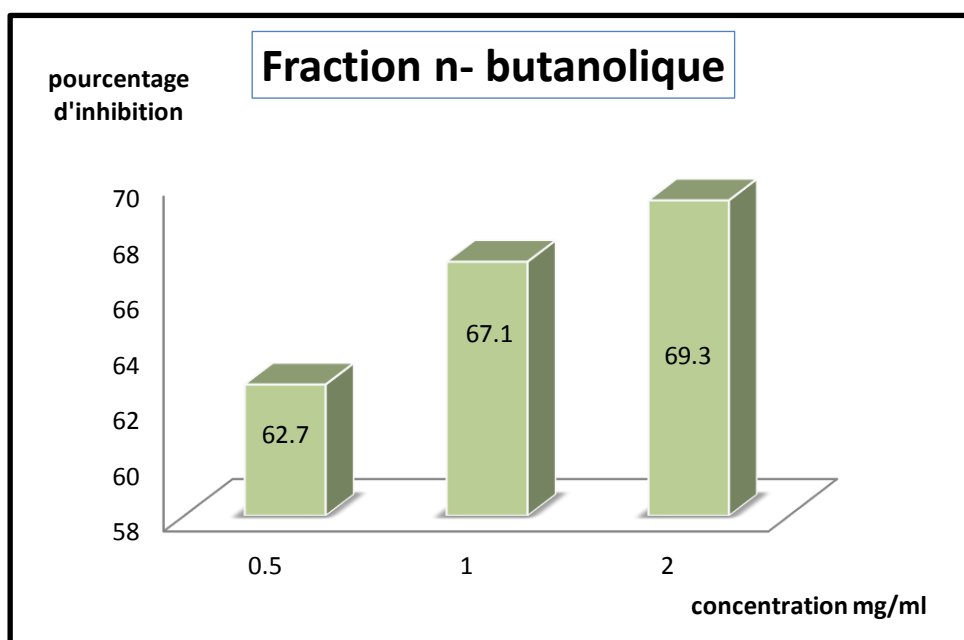


Figure 13 : Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la fraction n-butanolique de la plante *Artemisia Campestris*

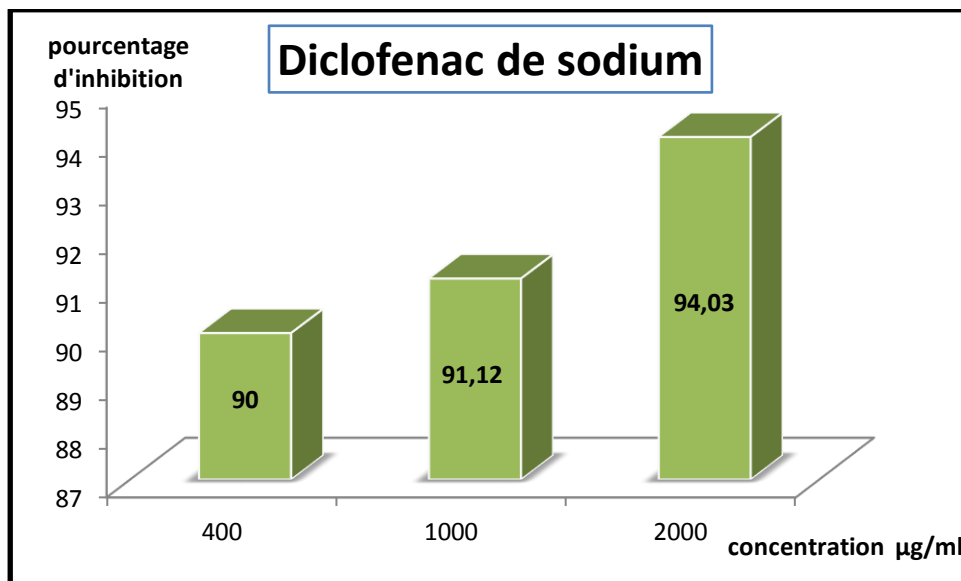


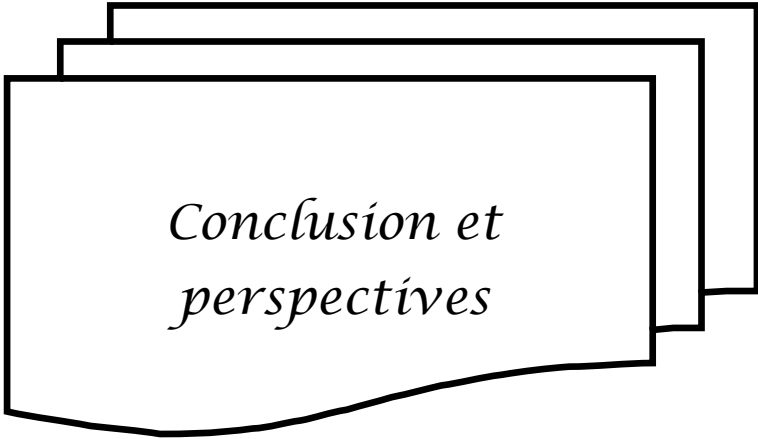
Figure 14 : Histogramme représente les pourcentages d'inhibition de la Diclofenac de sodium

On constate que la fraction éther de pétrole et celle d'acétate d'éthyle de l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* étaient les plus efficaces par rapport à la fraction n-butanolique et que l'effet inhibiteur de la dénaturation thermique de la BSA est dose-dépendant. Les résultats obtenus pour ces extraits sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac de sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exercé des pourcentages d'inhibition de 94.03, 91.12 et 90% respectivement avec les concentrations 2000, 1000 et 400 µg /ml (**figure14**).

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation. La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (**106**).

En effet, la présence des flavonoïdes dans les plantes *Artemisia campestris* est en partie responsable de cet effet anti-inflammatoire (**107**). La différence d'activité entre les fractions organiques malgré l'ordre des teneurs en flavonoïdes pourrait s'expliquer par la nature et la qualité des molécules contenues dans chacune d'elles.

En effet, il existe des différences de capacité de solubilisation et d'extraction des solvants, à l'égard des phytomolécules en fonction de leur polarité. On pourrait en déduire que les substances anti-inflammatoires contenues dans *Artemisia campestris* sont plus solubles dans l'éther de pétrole et l'acétate d'éthyle que dans le n-butanol ce qui est prouvé par le criblage diversifié des classes flavonoïques obtenu par la CCM pour ces deux fractions.



*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, ce qui nous amènons à la conservation de la biodiversité végétale locale.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'investigation phytochimique et l'exploration *in vitro* d'éventuel effet anti-inflammatoire des flavonoïdes issus à partir du fractionnement de l'extrait méthanolique brut de la partie aérienne de l'*Artemisia campestris* récoltée de la région de Khenchela.

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires dont nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes des composés réducteurs et les coumarines. Ainsi, le criblage par la CCM des extraits organiques a révélée la présence des différentes classes flavonoïques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.

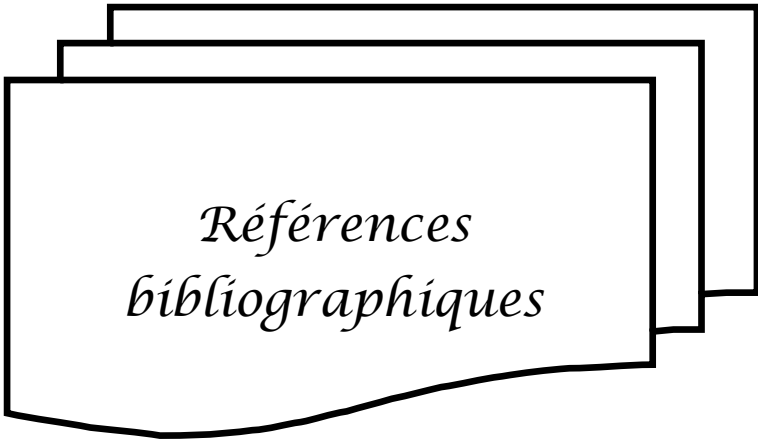
L'analyse quantitative des flavonoïdes révélant une concentration de $74,91 \pm 16,32 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour la fraction n-butanolique suivie par l'extrait acétate d'éthyle avec environ $11,312 \pm 2,648 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait et enfin l'extrait éther de pétrole caractérisé avec la teneur la plus faible en flavonoïdes à raison de $3,698 \pm 1,01 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

L'effet anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris* a été évalué *in vitro* via le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA, Les résultats obtenus montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire remarquable dose-dépendante. Cependant, cette activité ne dépend pas à la teneur en flavonoïdes mais plutôt à la nature et la classe de ces métabolites.

Ce pouvoir anti-inflammatoire confère une motivation pour les chercheurs d'avancer plus loin dans leurs recherches sur même intérêt et améliorer alors les impressions positives dans le traitement des inflammations avec moins d'effets secondaires.

Nos résultats préliminaires montrent que l'*Artemisia campestris* témoigne d'une activité anti-inflammatoire *in vitro*. En perspectives, il serait intéressant de développer cette recherche de point de vue opérationnel par approfondissement de la connaissance sur :

- L'étude *in vivo* du pouvoir anti-inflammatoire chez des modèles expérimentaux.
- L'isolement, la purification et l'identification des principes actifs présents dans ces extraits étudiés en utilisant des méthodes plus précises telles que l'HPLC et la RMN et tester leurs activités biologiques.
- L'évaluation d'autres effets biologiques *in vitro* comme *in vivo* des fractions brutes et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1] Iserin, P., Masson, M. (2001). Larousse des plantes médicinales.
- [2] BOUGANDOURA, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* (nabta) et *Ajugaiva* L.(chendgoura) de l'ouest d'Algérie.
- [3] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*.97(4) :654-660.
- [4] Derbal, N. (2015). L'activité antioxydante, anti-inflammatoire et analgésique de plante médicinale Algérienne *Inula viscosa*. Thèse de magister. *Constantine*.
- [5] Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., and Chatelet, F. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie pathologie (AFECAP)* :1-15.
- [6] Cherif, M. (2011). Contribution à l'étude de l'hyperhomocystéinémie, dyslipidémie et inflammation dans l'athéromatose Des hémodialysés .Thèse de doctorat, science médicale. Alger.
- [7] Naveau, B. (2005). Le blocage simultané des cyclo-oxygénases et de la 5-lipoxygénase: une nouvelle voie pour traiter l'inflammation?. *Revue du rhumatisme*.72(5) :379-382.
- [8] Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., and Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie pathologie (AFECAP)*.1-15.
- [9] Hacini, S. (2009). Synthèse, Etude physico-chimique et Hydrolyse des Bases de Schiff styréniques de benzothiazole et ses dérivés. Composés à visée thérapeutique. Thèse de magister, Sciences de la Nature et de la Vie. Oran.
- [10] COFER. (2010-2011). Prescriptions et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens .Université Médicale Virtuelle Francophone.
- [11] Nicolas, J. F. (2001). Immunologie clinique et allergologie: Aspirine et AINS: intolérance et allergie. 55-58.
- [12] Pierrick, h. (2015). Mode d'action des anti-leucotriènes.
- [13] Rather, L. J. (1971). Disturbance of function (functio laesa): the legendary fifth cardinal sign of inflammation, added by Galen to the four cardinal signs of Celsus. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*.47(3): 303.

- [14] **Jean, S. (2007).** Comment définir et classer les maladies inflammatoires. Centre national de référence des maladies auto-immunes systémiques rare.
- [15] **Morel, A. (2014).** La maladie de Crohn, épidémiologie, traitements actuels et en développement dont l'anticorps anti-intégrine alpha4beta7. thèse de doctorat, Pharmacie. Grenoble.
- [16] **Lelong, F. (2015).** Le point sur la maladie de Lyme en 2014-2015. Thèse de doctorat, Sciences pharmaceutiques et biologique. Lille2.
- [17] **Bedrane, Z. (2013).** Prévalence, formes cliniques, évolution, et Traitement de la sclérose en plaques dans la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Médecine. Tlemcen.
- [18] **Gutteridge, J. M., and Halliwell, B. (1993).** Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*.19(3):141-158.
- [19] **Coussens, L. M., and Werb, Z. (2002).** Inflammation and cancer. *Nature*.420(6917):860-867.
- [20] **Gunn, L., Ding, C., Liu, M., Ma, Y., Qi, C., Cai, Y., and Yan, J. (2012).** Opposing roles for complement component C5a in tumor progression and the tumor microenvironment. *The Journal of Immunology*.189(6): 2985-2994.
- [21] **Copland, J. A., Sheffield-Moore, M., Koldzic-Zivanovic, N., Gentry, S., Lamprou, G., Tzortzatou-Stathopoulou, F., ... and Vlahopoulos, S. A. (2009).** Sex steroid receptors in skeletal differentiation and epithelial neoplasia: is tissue-specific intervention possible?. *Bioessays*.31(6) :629-641.
- [22] **Kasmi, N. (2014).** étude phytochimique et évaluation de l'activité anti oxydante et anti inflammatoire d'extrait méthanolique de deux plantes médicinales *Rutamontana(Clus.L)*.et *Thymus algériensisBoiss*. Thèse de master, Sciences de la Nature et de la Vie. Khenchela.
- [23] **Benkiki, N. (2006).** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforliatum* .Thèse de doctorat, Sciences de la Nature et de la Vie. Batna.
- [24] **Nadia Z. (2009).** Etude du contenu poly-phénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Thèse de magister, Ecole doctorale. Constantine.
- [25] **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*.37 :2496-2507.

- [26] **Said, T. (2010).** *Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (Phoenix dactylifera L.) du Sud-Est Algérien.* Thèse de doctorat. oran.
- [27] **Piché, R.(2002).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*.
- [28] **Mourad, B., Mihoub, Z. M., and Sétif, U. (2007)** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.paris.
- [29] **Berri, Y. (2011).** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*.mémoire de Magister, Sciences de la Nature et de la Vie. Béjaia.
- [30] **Bahorun, T. (1998).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle.In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists*.83-94.
- [31] **Queiroz-Monici, K.(2005).** Bifidogenic effect of dietary fiber and resistant starch from leguminous on the intestinal microbiota of rats. *Nutrition*. 21(5):602-608.
- [32] **Ali, M.(2007).** Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*.12 (3):607-621.
- [33] **Falleh,H.(2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331(5):372-379.
- [34] **Gómez-Caravaca, A.(2006).** Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.41 (4): 1220-1234.
- [35] **Rice-Evans, C. (1996).** Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. .22 : 375-383.
- [36] **Škerget, M.(2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. 89(2) :191-198.
- [37] **Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Ed. Yves Dacosta.317.
- [38] **Farid,C.(2009).** *Caractérisation analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante MARRUBIUM deserti de la région de ghardaïa.*thèse de doctorat.ouargla.

- [39] Leonard, E. (2006). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*.8(2):172-181.
- [40] Grotewold, E. (2006). The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu. Rev. Plant Biol.*57 :761-780.
- [41] Pereira, G. (1996). Electronic structure of hydroxylated derivatives of the flavylum cation. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 363(1):87-96.
- [42] Longo, L. (2006). Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*.94(2) :226-231.
- [43] Yanez, J. A., Andrews, P. K., and Davies, N. M. (2007). Methods of analysis and separation of chiral flavonoids. *Journal of Chromatography B*. 848(2):159-181.
- [44] Stobiecki, M., Skirycz, A., Kerhoas, L., Kachlicki, P., Muth, D., Einhorn, J., and Mueller-Roeber, B. (2006). Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS. *Metabolomics*.2 (4):197-219.
- [45] Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001). Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris : 273.
- [46] Markham,K.(1982). *Techniques of flavonoid identification* (Vol. 31). London: Academic press:1-113
- [47] Peronny, S. (2005). *La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta)*.Thèse de Doctorat. Museum national d'histoire naturelle. PARIS.
- [48] Ayoub, F.(2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*.mémoire de magister ,Sciences de la Nature et de la Vie.Sétif.
- [49] Touafek ,O.(2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algerien. Thèse de doctorat.Constantine.
- [50] Scheidecker, D. (1959). Les alcaloïdes: dosage de la quinine dans les écorces de quinquina: travaux pratiques de chimie végétale.
- [51] Wichtl, M.(2003). Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.*Paris*.
- [52] Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., and Stevens, P. (2002). *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*. De Boeck Supérieur : 369-384
- [53] Hopkins, W. (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A : 514
-

- [54] **Hamimed ,S.(2009)**. Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum L.* mémoire de magister. Constantine.
- [55] **Serhan, C. N., Ward, P. A., and Gilroy, D. W. (2010)**. *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press: 2-3
- [56] **Vasconcelos, J. M., Silva, A. M., and Cavaleiro, J. A.(1998)**. Chromones and flavanones from *Artemisia campestris* subsp. *maritima*. *Phytochemistry*.49(5) :1421-1424.
- [57] **Belfadel,A.(2013)**.Etude phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale (*Ruta montana*).Mémoire de master, Sciences de la Nature et de la Vie .Khenchela.
- [58] **Saihi, R. (2011)**.Étude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. mémoire de magister, Sciences de la Nature et de la Vie .Oran.
- [59] **Mucciarelli,M., and Maffei,M. (2002)**. *Artemisia: Introduction to the Genus Artemisia:* 1-50.
- [60] **Kundan,S., and Anupam,S.(2010)**. . Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.*
- [61] **Mourad, B., Mihoub, Z.(2007)**. Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia*from Iran. *J. Essent. Oil Res.*19 : 326–329.
- [62] **David, A., Hervé ,M. (1994)**. Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse :428.
- [63] **Ozenda , P. (1983)**. Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche Scientifique:441
- [64] **Quézel, P., Santa, S., and Schotter, O. (1962)**. Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales-v :1-2.
- [65] **Caratini, R. (1971)**. Bordasencyclopedia.Ed Bodas.Belgique.23: 137-195
- [66] **Vernin ,G. (1995)**.GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria.Dev. Food Sci. 37:147
- [67] **Joa,O. (1998)**.Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry*. 49 (5): 1421-1424
- [68] **Juteau, F., Masotti ,V. (2002)**. Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Bioch. Syst. Ecol.* (30): 1065-1070.
- [69] **Jerkovic ,J. (2003)**. Chemical variability of *Artemisia vulgaris L.* essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia *Flavour. Fragr. J.* 18: 436–440
- [70] **Akrouf ,A.(2001)**. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris L.* *J. Flavour Fragr.*16: 337-39.
-

- [71] **Juteau ,F. (2002).** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Bioch. Syst. Ecol.* (30): 1065-1070.
- [72] **Akrout, A. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* 16: 337–339.
- [73] **Valant-Vetschera, K. (2003).** Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* (31): 487-498.
- [74] **Naili,M. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.
- [75] **Djeridane ,A.(2007).**Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity .*Eur. Food Res. Technol.*224: 801-809.
- [76] **Rauter,A.(1989).**Flavonoids from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry.* 28 (8): 2173-2175.
- [77] **Hurabielle,M. (1982).** Flavonoids of *Artemisia campestris* ssp. *glutinosa*.*Planta Med.* 46 (2):124–125.
- [78] **Ferchichi, L.(2006).** Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. *Biochem Syst. and Ecol.*34: 829-832.
- [79] **Valant-Vetschera, K.(2003).** Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematicinterpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* 31: 487-498.
- [80] **Hurabielle,M.,Eberle,J.(1982).** Flavonoids of *Artemisia campestris* ssp. *glutinosa*.*Planta Med.* 46 (2):124–125.
- [81] **Dob,T., Dahmane,D.,Berramdane,T., and Chelghoum,C. (2005).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514.
- [82] **Sefi ,M., Fetoui,H., Makni,M., and Najiba Zeghal,N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.* 48: 1986–1993.
- [83] **Ben Sassi ,A., Harzallah-Skhiri,F., and Aouni1,M .(2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
- [84] **Saoudi,M., Allagui,M.S., Abdelmouleh,A., Jamoussi,K., and El Feki,A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephaluslagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.* 62:

601–605.

[85] **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie -Plantes médicinales-Techniques et documentations. 3: 227-494.

[86] **Aniya ,Y., Shimabukuro ,M., Shimoji ,M., Kohatsu M., Gyamfi ,M., and Miyagi,C. (2000).** Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands. *J. Biol. Pharm. Bull.* 23 (3):309–312.

[87] **Markham ,k.(1982).** Techniques of flavonoids identification. Academic press: 1-113.

[88] **Akrout, A. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia.*J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.

[89] **Naili,M.(2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus*(Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.

[90] **Ben Sassi,A.(2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.

[91] **Kyeong ,W.(2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361.

[92] **Donrop, A. (2007).** The treatment of severe malaria.*Trans. R. Soc. Trop. Med.Hyg .*101: 633-634.

[93] **Romero, M.(2005).** Effect of artemisininartesanate as inhibitors of hepatitis B virus production in an “invitro” system.*Antivir Res.* 68: 75-83.

[94] **Pavela, R. (2009).** Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culexquinquefasciatus*Say larvae (Diptera: Culicidae). *J. Parasitol Res.*105: 887–892

[95] **Kyeong, W. (2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361.

[96] **Sefi, M. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food.Chem.Toxicol.*48: 1986–1993.

[97] **Memmi,A.(2007).** Use of medicinal plants against scorpionic and ophidianvenoms.*Arch. Inst. Pasteur.Tunis.* 84 (4): 49-55.

[98] **Yrjonen, T. (2004)** .Extraction and Planar Chromatographic Separation Technique in the Analysis of Natural Product, Conference Room 513 at Viikki Infocentre (Viikinkaari 11), Faculty of Pharmacy of the University of Helsinki. :64.

- [99] **Su, Y.** (2006). Analysis of leaf essential oils from the indigenous five conifers of Taiwan, *Flavour Fragr. J.* 21(3) 447-452.
- [100] **Mohammedi, Z.** (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Thèse de Doctorat. Tlemcen.
- [101] **Bagad, Y.** (2011). Investigation of anti inflammatory and analgesic activity of *brideliaairyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res.* 4 (5) :1326-1332.
- [102] **Akrouit, A.** (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.
- [103] **Gomez, C.** (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41:1220-34.
- [104] **Ozenda, P.** (2004). Flore et végétation des saharas. 3^{ème} Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402.
- [105] **Mizushima, Y.** (1968). Interaction of anti inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 20 (1):169-173.
- [106] **Djeridane, A.** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97:654-660.
- [107] **Sangeetha, M.** (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS Volume.2* (1): 822-827.

Noms et prénoms : Lakhzoum nawel Bahloul Amina	Date de soutenance : 28/006/2017
Master Académique en : Biochimie Appliquée	
<p style="text-align: center;">Titre</p> <p style="text-align: center;"><i>Investigation phytochimique et étude in vitro de l'activité anti-inflammatoire des flavonoïdes issus de la plante médicinale Artemisia campestris</i></p>	
<p style="text-align: center;">Résumé</p> <p>L'objectif de cette étude est l'investigation phytochimique et l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire des fractions organiques de l'extrait méthanolique brut d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle récoltée de la région de Khenchela (<i>Artemisia campestris</i>).</p> <p>Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires dont nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes, des composés réducteurs et les coumarines.</p> <p>Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits organiques a révélée une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.</p> <p>L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révélant une teneur de 74,91 ±16,32µg, 11.31 ±2.65µg et 3.69±1,01 µg EQ/mg d'extrait pour les fractions n-butanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole respectivement.</p> <p>Les résultats de l'activité anti-inflammatoire obtenus via l'évaluation <i>in vitro</i> de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire remarquable dose-dépendante. Cependant, cette activité ne dépend pas à la teneur en flavonoïdes mais plutôt à la nature et la classe de ces phytomolécules.</p> <p>En conclusion; L'<i>Artemisia campestris</i> est doué d'une activité anti-inflammatoire remarquable. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications de l'inflammation chez le patient.</p>	
Mots clés : Activité anti-inflammatoire, <i>Artemisia campestris</i> , CCM, flavonoïdes.	