

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université « Abbas Laghrour » - Khenchela
Faculté des Sciences et Technologies



Département des Sciences de la Matière



N° de série :

Mémoire de Fin d'Études

Pour l'obtention du diplôme de Master(LMD)

Spécialité : Chimie

Option : Chimie analytique et environnement.

Screening phytochimique et activité biologique d'*Artemisia vulgaris*

Réalisé par :
Begaouche Samiha

Dirigé par :
M^{me} Golea Lynda M.C.B

Membres de jury :
Baaziz Sonia M.A.A.
Lechkheb Messaouda M.A.B.

Présenté le : 01 /07/2017

Dédicace

A mes très chers parents

A mes frères

A mes soeurs

A tous mes amies : Samia, Saida, Hanane Baara, Chamia, Noussaiba et surtout

Hanane Trachet.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Je vous dédie mon travail en témoignage de votre affection et vos

encouragements.

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

*Tout d'abord, je tiens à remercier mon encadreur **M^{me} Golea Lynda** de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail et mes remerciements pour sa présence permanente.*

*Mes remerciements vont aussi aux membres de jury **M^{me} Baaziz Sonia** et **Lechkheb Messaouda** de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.*

*Je remercie infiniment tous les membres de laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Khenchela surtout le Docteur **Benhouria Toufik** pour leur aide précieuse.*

Je remercie tout l'équipe du hall technologique (Samia, Saida, Hanen, Bahia, Lamia).

Enfin, je tiens à exprimer mes sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

PAM: Plantes aromatiques et médicinales.

CHCl_3 : Chloroforme.

MeOH: Méthanol.

H.E: Huile essentielle.

EP: Éther de pétrole.

AcOET: Acétate d'éthyle.

AMP: Adenosine monophosphate.

APG: The Angiosperm Phylogeny Group.

CCM: Chromatographie sur couche mince.

UV: Rayonnement Ultra violet.

GN: Gélose nutritive.

MH: Mueller Hinton agar.

DMSO: Diméthyl sulfoxyde.

ATCC: American type culture collection.

Liste des figures

Figure I.1 : Les métabolites primaires	1
Figure I.2 : Les métabolites secondaires	2
Figure I.3 : Structure de la molécule phényléthylamine.....	3
Figure I.4 : Structure de la molécule ; capsaïcine.....	4
Figure I.5 : Structure de la molécule, Acide nicotinique.....	4
Figure I.6 : Structure de l'acide benzoïque	6
Figure I.7 : Structure de l'acide cinnamique.....	6
Figure I.8 : Structure du resvératrol.....	7
Figure I.9 : Structure de lignane (matairesinol).....	7
Figure I.10 : Structure d'une molécule de coumarine.....	8
Figure I.11 : Structure de manguiférine	8
Figure I.12 : Structure générale des flavonoïdes.....	9
Figure I.13 : Structure de chalcone (isobavachalcone).....	10
Figure I.14 : Structure générale des flavones	10
Figure I.15 : Structure générale des flavanone.....	11
Figure I.16 : Structure d'isoflavanones (5,7-Dihydroxy-2',4'-dimethoxyisoflavonone Homoferreirin).....	11
Figure I.17 : Exemple des isoprénoïde.....	14
Figure I.18 : Squelettes des génines stéroïdique des saponosides (spirostane).....	16
Figure I.19 : Quelques exemples de génines triterpéniques Acide Madécassique et Acide Oléanolique.....	16
Figure II.1 : La plante <i>Artemisia vulgaris</i>	22
Figure II.2 : Aspect morphologique d' <i>Escherichia Coli</i>	26
Figure II.3 : Aspect morphologique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
Figure II.4 : Aspect morphologique de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Figure III.1 : Echantillon de l'espèce <i>Artemisia vulgaris</i>	28

Figure III.2: Macération de La plante.....	29
Figure III.3: Evaporation des filtrats.....	29
Figure III.4: Les extraits bruts.....	30
Figure III.5: CCM de l'extrait CHCl ₃	31
Figure III.6: CCM de l'extrait MeOH.....	32
Figure III.7: Résultats après l'ajout des réactifs.....	33
Figure III.8: Résultats du test des Polyphénols.....	33
Figure III.9: Résultats après l'ajout de NH ₄ OH.....	34
Figure III.10: Identification des tanins.....	34
Figure III.11: Test d'identification des coumarines.....	35
Figure III.12: Identification des anthracénosides par la réaction de BORNTRÄGER	36
Figure III.13: Test d'identification des saponines.....	37
Figure III.14: Test d'identification des cardénolides	37
Figure III.15: Test d'identification des stérols et triterpènes par la réaction de LIEBERMANN après l'ajout du H ₂ SO ₄	38
Figure III.16: Test d'identification des sucres réducteurs.....	38
Figure III.17: Montage d'hydrodistillation utilisé pour détecter les huiles essentielles dans la plante étudié.....	39
Figure III.18 : Extraction liquide-liquide par éther de pétrole.....	40
Figure III.19 : huile essentielle d' <i>Artemisia vulgaris</i>	40
Figure III.20 : CCM d'HE.....	41
Figure III.21: Les souches bactériennes cultivée.....	42
Figure III.22: Les solutions préparées.....	43
Figure III.23: Flottage de l'écouvillon sur la totalité de gélose en stries serrée.....	44
Figure III.24: Effet de l'extrait CHCl ₃ sur la croissance microbienne.....	46
Figure III.25: Effet de l'extrait MeOH sur la croissance microbienne.....	47
Figure III.26: Effet de l'HE sur la croissance microbienne.....	47
Figure IV.1 : Photo de chromatographie résultant de l'analyse de l'extrait MeOH avec révélation à l'UV.....	51

Liste des tableaux

Tableau III.1 : Le système d'élution des extraits.....	31
Tableau III.2 : Le système d'élution utilisé pour les huiles essentielles	40
Tableau III.3 : Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits d' <i>Artemisia vulgaris</i>	45
Tableau III.4 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle testée.....	45
Tableau IV.1 : Le rendement des extraits.....	48
Tableau IV.2 : Analyse phytochimique préliminaires d' <i>Artemisia vulgaris</i>	49

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	2
Chapitre I: Principales classes de métabolites secondaires	
I -Plantes aromatiques et médicinales.....	5
I -1- Les métabolites secondaires des plantes.....	5
I-1-1- Les alcaloïdes.....	6
I-1-1-1-Répartition et localisation.....	6
I-1-1-2- Constitution chimiques et classification.....	7
I-1-1-3-Propriétés des alcaloïdes.....	8
I-1-1-3-1- Propriétés physiques des alcaloïdes	8
I-1-1-3-2- Propriétés chimiques des alcaloïdes.....	9
I-1-1-3-3- Propriétés basiques des alcaloïdes.....	9
I-1-1-3-4-Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes.....	9
I-1-2- Les composés phénoliques.....	9
I-1-2-1-Généralités.....	9
I-1-2-2-Classification.....	10
I-1-2-2-1- Les non flavonoïdes.....	10
I-1-2-2-1-1--Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	12
I-1-2-2-2-Les flavonoïdes.....	13
I-1-2-2-2-1- Propriétés des flavonoïdes.....	15
I-1-3- Les tanins	16
I-1-3-1-Utilisation des tanins.....	16
I-1-4-Terpènes et stérols	17

I-1-4-1-Les terpènes.....	17
1-1-4-1-Classification des terpènes	18
I-1-4- 2-Les stérols.....	18
I-1-4-2-1-Intérêts des terpènes et stérols.....	18
I-1-5- Saponosides.....	19
I-1-5-1-Définition.....	19
I-1-5-2- Répartition et localisation.....	19
I-1-5-3-Structures et classification.....	19
I-1-5-4- Propriétés des saponines	20
I-1-6- Les huiles essentielles.....	21
I-1-6-1-Définition.....	21
I-1-6-2-Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	21
I-1-6-3-Constitution chimique.....	21
Chapitre II : Etude systématique des plantes sélectionnées et activité	
biologique	
II-1-Etude bibliographique de l'espèce <i>Artemisia vulgaris L. (Asteraceae)</i>	24
II-1-1-Famille des <i>Asteraceae</i>	24
II-1-1-1- Caractéristiques générales.....	24
II-1-1-2- systématique de la famille <i>Asteraceae</i>	25
II-1-2-Présentation du genre <i>Artemisia</i>	26
II-1-3-Espèce <i>Artemisia vulgaris L</i>	26
II-1-3-1-Description botanique	26
II-1-3-2-Classification	27
II-1-3-3- Les composants chimiques et leurs propriétés.....	28
II-1-3-4-Utilisation de la plante	29
II-1-3-4-1-Utilisation dans la médecine naturelle	29
II-1-3-4-2-Usages en pharmacopée	30
II-2-Les agents antimicrobiens	30
II-2-1-La résistance aux antibactériens	31

II-2-2-Les souches microbiennes testées	31
II-2-2-1- <i>Escherichia coli</i>	31
II-2-2-2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
II-2-2-3- <i>Acinetobacter baumannii</i>	32
II-2-2-4- <i>Staphylococcus aureus</i>	32
II-2-2-5 <i>Enterobacter sp</i>	32

Chapitre III: Résultats et discussions

III- Matériels et méthodes	35
III-1- Matériel biologique (échantillonnage)	35
III-1-1-Matériel végétal.....	35
III-1-2-Réactifs chimiques et instrumentations.....	35
III-2-Méthodes.....	36
III-2-1-Techniques d'extraction.....	36
III-2-1-1-Extraction par les solvants	36
III-2-1-2-Détermination du rendement.....	37
III-2-1-3-La chromatographie sur couche mince.....	37
III-2-2-Screening phytochimique de la plante sélectionnée.....	39
III-2-2-1-Détection des alcaloïdes.....	39
III-2-2- 2- Détection des polyphénols.....	40
III-2-2-3-Détection des flavonoïdes.....	40
III-2-2-4-Détection des tanins.....	41
III-2-2-5-Détection des coumarines.....	41
III-2-2-6-Détection des anthracénosides.....	42
III-2-2-7-Détection des saponines.....	43
III-2-2-8-Détection des cardénolides.....	44
III-2-2-9-Détection des stérols et triterpènes.....	44
III-2-2-10-Détection des sucres réducteurs.....	45
III-2-2-11-Détection d'huiles essentielles.....	46

III-3- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante sélectionnée <i>Artemisia vulgaris</i>	48
III-3-1- Les produits à tester.....	48
III-3-2-Les souches testées.....	48
III-3-2-1-Préparation des précultures.....	48
III-3-2-2-Préparation de la suspension antibactérienne.....	49
III-3-2-3-Préparation des disques.....	49
III-3-2-4-Préparation des solutions.....	49
III-3-2-5-Préparation des milieux de culture.....	50
III-3-2-6-Ensemencement.....	50
III-3-2-7-Application et lecture.....	51
IV- Résultats et discussions.....	55
IV-1-Le rendement des extraits	55
IV-2-Détermination du rendement en huile essentielle d' <i>Artemisia vulgaris</i>	55
IV-3-Screening phytochimique.....	55
IV-3- 1-L'analyse des chromatogrammes des extraits obtenus.....	57
IV-4- L'activité biologique.....	58
IV-4-1- Activité antibactérienne	58
Conclusion générale	61

Résumé

Références bibliographiques

INTRODUCTION

Introduction

La phytothérapie est la médecine par les plantes, selon l'O.M.S (organisation mondiale de la santé) la phytothérapie est considérée comme médecine alternative.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expérience de populations ainsi que la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle [1]

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes...etc.

La première manifestation de tensions antibiotiques résistantes pathogènes illustre notre besoin urgent de chercher des nouvelles sources alternatives de traitement, un nouveau discours du monde médical (universités, laboratoires de recherches et compagnies pharmaceutiques) se propage afin de réduire l'utilisation de ces produits synthétiques d'où, beaucoup de tentatives ont été faites dans ce contexte pour répertorier quelques plantes médicinales et leurs extraits, car à côté des antibiotiques connus, différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la synthèse de molécules odorantes contenues dans ce qu'on appelle les huiles essentielles ou essences connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et leur activité thérapeutique dans la médecine populaire [2].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques [3]. Parmi lesquelles nous avons choisi la plante *Artemisia vulgaris* ; Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères...etc., a constitué le sujet de plusieurs études qui ont déterminé leurs compositions chimiques; ainsi que la propriété biologique.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de notre plante *Artemisia vulgaris* en métabolites secondaires et déterminer leur propriété biologique. Pour cela notre étude deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur la préparation des deux extraits chloroformique et méthanolique de la plante. il porte également

sur les tests de mise en évidence dans la plante et la séparation des principaux composés dans ces extraits par l'utilisation de la chromatographie sur couche mince.

Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits préparés à partir de la plante sélectionnée.

CHAPITRE I

**Principales classes de métabolites
secondaires**

I -Plantes aromatiques et médicinales

Une plante médicinale est une plante que l'on trouve ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés biologiques et médicinales. Depuis des milliers d'années l'être humain utilise les plantes pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 35 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales [4].

Une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour se soigner ou prévenir de maladies dangereuse. Les plantes aromatiques et médicinales ont eu une infinie diversité d'emplois, dans le domaine thérapeutique, alimentaire, cosmétique, industriel, etc. [2]

I -1- Les métabolites secondaires des plantes

Les métabolites sont des composés organiques issus de matière vivante soit végétale ou animale. On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires [3].

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère biologique sur les cellules (végétales, animales) ou sur l'organisme humain.

- ❖ les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires.
- ❖ les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- ❖ les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines.

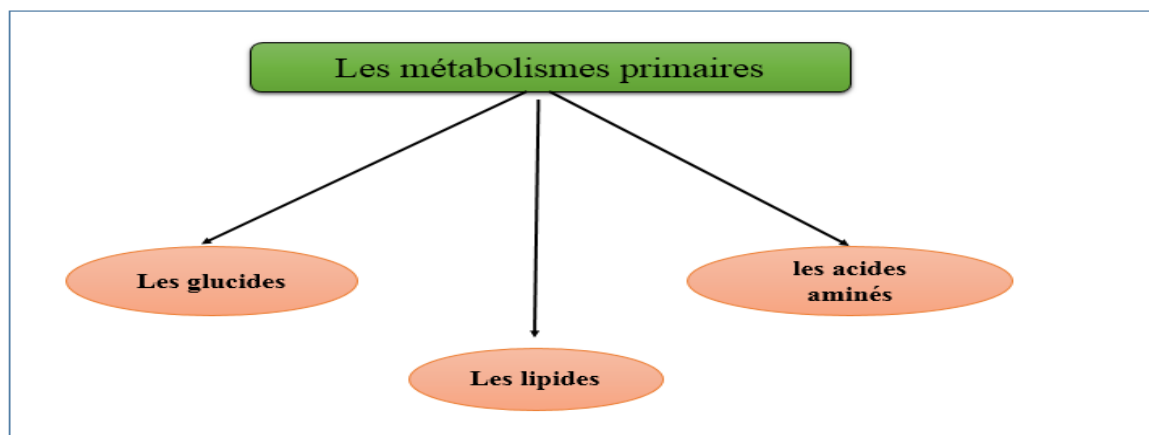


Figure I.1: Les métabolites primaires.

En plus, les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction.

Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. De façon générale, mais ces métabolites sont repartis en trois grandes familles chimiques principales :

- ❖ les composés aromatique (phénoliques, l'acide shikimique ou les dérivés d'acétate).
- ❖ les terpénoïdes et stéroïdes.
- ❖ les composés azotés ou alcaloïdes [5].

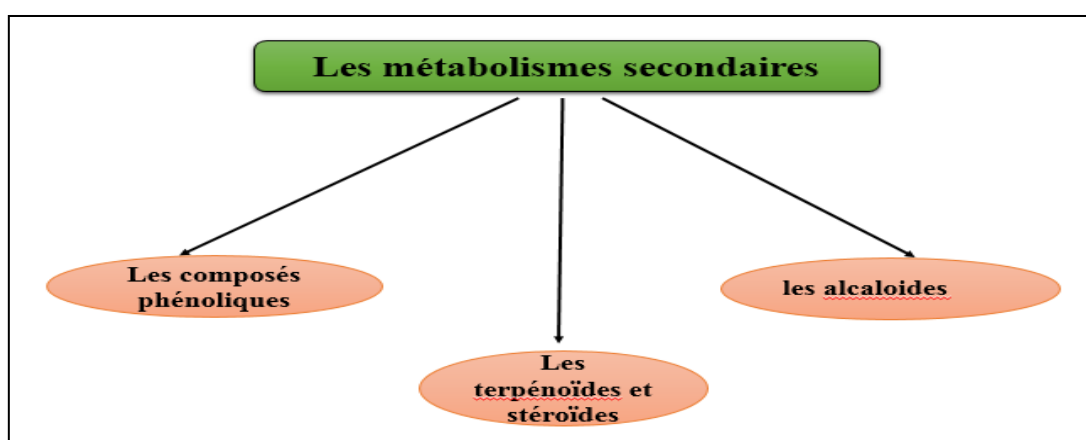


Figure I.2 : Les métabolites secondaires

I-1-1- Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelles, possédant au moins un atome d'azote hétérocyclique. Leurs noms se terminent toujours par <ine>. Généralement les alcaloïdes ont des propriétés très basiques. Ce sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que pour leur toxicité, selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire [6].

I-1-1-1- Répartition et localisation

La source principale des alcaloïdes était auparavant les plantes florales mais plusieurs composés ont été récemment extraits des règnes animaux à savoir les insectes et les poissons. Malgré cet avancement, les alcaloïdes floraux restent les plus importantes par rapport aux autres.

La teneur en alcaloïdes se différencie d'une partie à une autre et selon la période de récolte et les conditions de croissances, ainsi que la région (influence du sol, climat, ...).

En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante. Ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles.

La présence des alcaloïdes est généralement associée à un acide organique ou à une autre entité avec un pourcentage variant entre 1 et 3 % du poids sec de la plante. Dans des cas très particuliers, notamment dans les quinquinas, ils dépassent les 10 % [7].

I-1-1-2- Constitution chimiques et classification

Parmi les nombreux systèmes proposés pour la classification des alcaloïdes on cite celui de **HEGNANER** [8], qui regroupe les alcaloïdes en trois classes à savoir :

- ✓ alcaloïdes vrais.
- ✓ pseudo-alcaloïdes.
- ✓ proto-alcaloïdes.

a-Alcaloïdes vrais : Sont des composés dans lesquels l'atome d'azote N dérivé d'un acide aminé ne fait pas partie d'un hétérocycle. Comme les alcaloïdes phényléthylaminés hordéines.

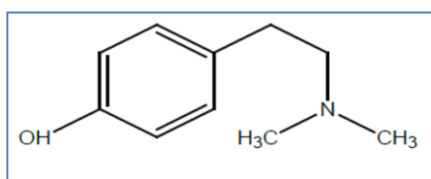


Figure I.3: Structure de la molécule phényléthylamine.

b- Les pseudo-alcaloïdes

Sont des composés dont le squelette carboné de base ne dérive pas d'acide aminé. Il s'agit des alcaloïdes aromatiques, dans la majorité des cas d'isoterpénoides comme capsaïcine.

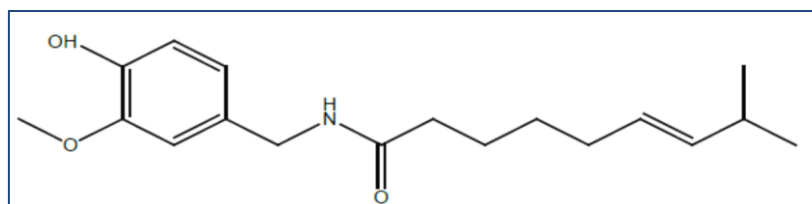


Figure I.4 : Structure de la molécule; capsaïcine.

c- Proto-alcaloïdes

Dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils apparaissent dans les plantes soit sous forme libre soit sous forme d'un sel soit comme N-oxyde.

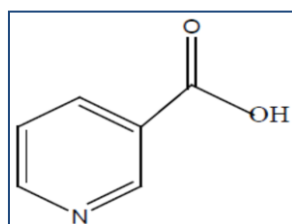


Figure I.5 : Structure de la molécule, Acide nicotinique.

I-1-1-3- Propriétés des alcaloïdes

I-1-1-3-1- Propriétés physiques des alcaloïdes

La masse moléculaire des alcaloïdes varie entre 100 et 900 g/mol. Les alcaloïdes et leurs sels purs sont en général des produits solides cristallisés caractérisés par un point d'ébullition propre. Certains alcaloïdes sont amorphes se trouvant sous forme de cires. D'autres alcaloïdes de faibles points d'ébullitions sont à l'état liquide sous forme d'huiles dont la viscosité varie.

Les alcaloïdes dans le cas général sont des produits incolores, sans odeurs spécifiques, particulièrement ceux qui ayant de faibles points d'ébullition. Un nombre limité des alcaloïdes possédant des cycles aromatiques vire vers le jaune tel que la berbérine et la colchicine, d'autres virent vers l'orange à l'image de la canadine. Les alcaloïdes liquides peuvent être volatils caractérisés par une odeur spécifique ou non volatils. Signalons enfin que les alcaloïdes ont un goût amer.

I-1-1-3-2- Propriétés chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes peuvent former des sels organiques ou non organiques par action des acides. Ces sels formés sont en général plus stable que les bases mères. Plusieurs alcaloïdes ont une activité optique très importante avec la présence d'un atome de carbone asymétrique.

I-1-1-3-3- Propriétés basiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont en général des bases grâce à la présence d'un doublet électronique libre de l'atome d'azote. La présence de plus de deux atomes d'hydrogène, la structure cristalline et d'autres facteurs défavorise la formation des alcaloïdes au milieu végétal. Plusieurs chemins biosynthétiques ont été proposés pour la formation des alcaloïdes [9].

I-1-1-3-4- Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

Généralement les alcaloïdes exercent leurs activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, epinephrine, norepinephrine, acide γ -aminobutyrique, dopamine et la serotonine. Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques : Analgésique (cocaine), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (reserpine), antitussive (codeine), dépressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaine), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (ephedrine), etc....

Plusieurs alcaloïdes servent de model pour la synthèse d'analogues avec des propriétés meilleures [10].

I-1-2- Les composés phénoliques

I-1-2-1- Généralités

Le terme « *poly phénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les poly phénols dont les molécules contiennent

respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques, qui dérivent de la biogenèse de l'acide chikimique et/ou l'acétate et qui ne contiennent pas de l'azote. Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale. Ces composés présentent une grande diversité de structures, divisées en non flavonoïdes et flavonoïdes.

I-1-2-2- Classification

I-1-2-2-1- Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones [11].

➤ Les acides phénoliques

Une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux seuls dérivés des acides benzoïque (acides-phénols en C6-C1) (**Figure I.6**) et cinnamiques (acides-phénols en C6-C3) (**Figure I.7**). Comme exemple d'acides phénoliques, on cite: acide caféique, acide protocatechique, acide ferulique, acide sinapique et acide gallique. Ont une distribution très large. Ils possèdent notamment un grand pouvoir antioxydant, c'est-à-dire qu'ils neutralisent les radicaux libres qui endommagent les cellules, ce qui a pour effet de renforcer les défenses immunitaires. De plus, certains composés poly-phénoliques sont des agents antibiotiques, anti-diarrhéiques, antiulcéreux et anti-inflammatoires. Ils peuvent ainsi être utilisés dans le traitement des maladies comme l'hypertension, la faiblesse vasculaire, les allergies et l'hypercholestérolémie [12].

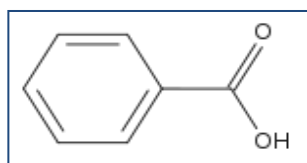


Figure I.6 : structure de l'acide benzoïque

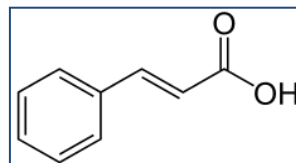


Figure I.7 : structure de l'acide cinnamique

➤ **Les stilbènes hydroxylés**

Ces dérivés hydroxylés sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6). Le resvératrol (**Figure I.8**) (un des stilbènes les plus connus se trouve dans le raisin ainsi que le vin [13]).

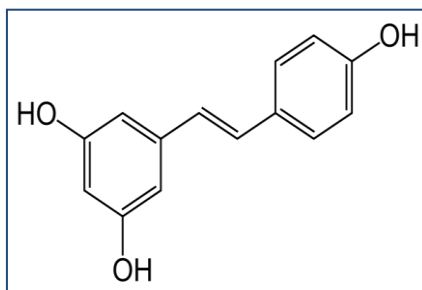


Figure I.8 : Structure du resvératrol

➤ **Les lignanes et les lignines**

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique et servent de précurseurs pour les composés de type phénylpropanoïde tels que les lignanes et les lignines [14].

Les lignanes, produits de condensation de deux unités phénylpropaniques, jouent sans doute un rôle important pour la défense des végétaux (**Figure I.9**). En effet, des propriétés antibactériennes, antifongiques et antinutritives ont été décrites pour de nombreuses molécules de ce groupe [15].

Les lignines ; composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe [16].

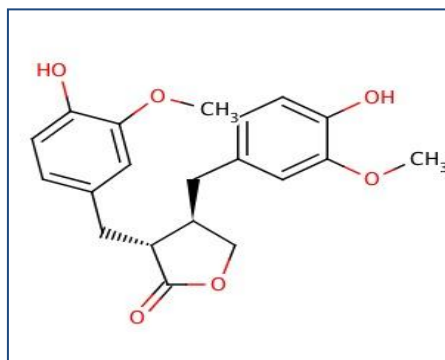


Figure I.9 : structure de lignane (matairesinol).

➤ **Les coumarines**

Les coumarines (**figure I.10**) sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques. Elles existent sous forme libre, solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau [17].

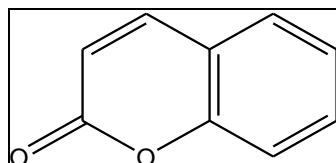


Figure I.10 : Structure d'une molécule de coumarine.

➤ **Les xanthones**

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont essentiellement: leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase. La manguiférine (**Figure I.11**) est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes [18].

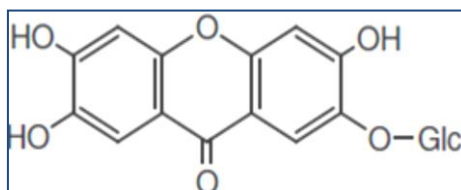


Figure I.11 : Structure de manguiférine.

I-1-2-2-1-1- Rôle et intérêt des composés phénoliques

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir: Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...).

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte, varie du blanc ivoire au jaune vif. Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool et les solvants

organiques. Ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires. Les génines sont peu solubles dans l'eau et l'éther. Les flavonoïdes sont aussi solubles dans la solution alcaline (ammoniacque et potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide. Ils possèdent un spectre d'absorption dans l'ultra violet avec généralement deux maximums caractéristiques variant avec chaque type flavonique [19].

I-1-2-2-2- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal, qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols.

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényl [20].

De Rijke et coll. ont classé les flavonoïdes en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols. Au sein de ces six familles, deux types de structures ont été relevés, celui des flavonoïdes (**Figure I.12**) au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des isoflavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3.

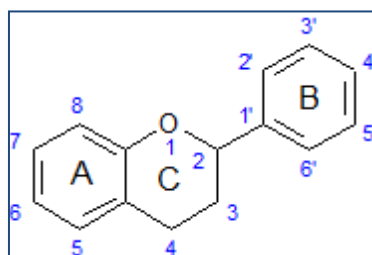


Figure I.12: Structure générale des flavonoïdes

a. Les flavonoïdes au sens strict

Dans ce groupe on distingue les chalcones, les aurones, les flavones, les flavanes, les flavanones, les flavanols, les flavonols et les flavanonols [11].

➤ Chalcones et dérivés

Le mot « chalcone » provient du mot grec chalcos (cuivre). Elles gardent la structure du tétra trihydroxychalcone [21]. Les chalcones sont des flavanoïdes ne comportant pas d'hétérocycle [11]. Les chalcones sont différents des autres types des flavonoïdes cités ci-dessus. De par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, α , β -insaturée (**Figure I.13**). Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont identiques à celles des autres flavonoïdes [22].

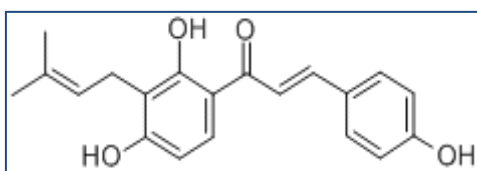


Figure I.13 : Structure de chalcone (isobavachalcone).

➤ Aurones et dérivés

Les aurones sont des isomères structuraux des flavones. Ils ont une structure proche mais différente de la plupart des autres flavonoïdes. Ces molécules dérivent de la chalcone. En effet dans les cas des aurones, la chalcone se ferme en formant un cycle à 5 atomes, alors qu'elle forme un cycle de 6 atomes pour les autres flavonoïdes.

➤ Flavones et flavanones

Les flavones comme tous les flavonoïdes ont une structure C6-C3-C6 avec en C3 l'apparition d'un hétérocycle porteur d'un groupement carbonyle et d'une insaturation (**Figure I.14**). Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle (**Figure I.15**).

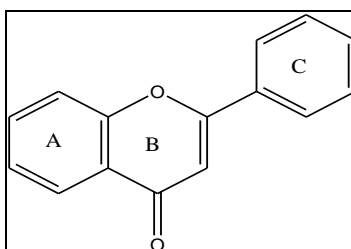


Figure I.14 : Structure générale des flavones.

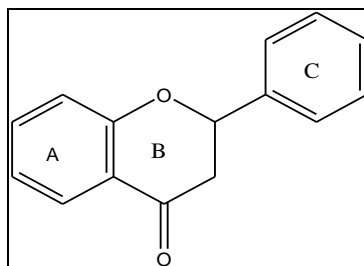


Figure I.15: Structure générale des flavanones

Les flavonols et les flavanonols correspondent aux dérivés hydroxylés des flavones et des flavanones. Les flavanones et les flavanonols dérivés sont les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, des citrons, des oranges. Les flavanes sont des dérivés saturés et non carbonylés des flavones, ils sont caractérisés par la présence d'une double prénylation du noyau A (cyclisée et linéaire) et d'un pont époxy reliant les carbones 4 et 6' du noyau B [11].

➤ Les isoflavonoïdes

Ils forment une sous classe très large et très distinguée des flavonoïdes, toutes les molécules de ce groupe sont caractérisées par un squelette de 15 atomes de carbone comme les flavonoïdes mais réarrangé selon un motif 1, 2-diphénylpropanique. La distribution des isoflavonoïdes (**Figure I.16**) dans le règne végétal est très restreinte, elle est presque spécifique à la famille des fabales (légumineuses), sous famille des fabacées (papilionacées) [23].

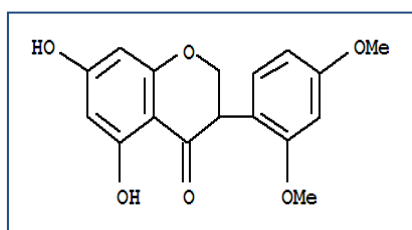


Figure I.16 : Structure d'isoflavanones (5,7-Dihydroxy-2',4'-diméthoxyisoflavonone Homoferreirin).

I-1-2-2-2-1- Propriétés des flavonoïdes

➤ Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes

Des études ont montré que certains flavonoïdes comme: quercétine, myricétine, l'apigénine et la chrysin ont des effets anti-inflammatoires par l'action inhibitrice des

enzymes responsables du métabolisme de l'acide arachidonique. D'autres flavonoïdes: rutine et kaempférol ont montré une action inhibitrice sur le PAF (Platelet Activating Factor), agent ulcérogène potentiel, et ainsi la réduction des dommages gastro-intestinaux [24].

I-1-3- Les tanins

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible: le cuir. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau. D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da. Les tannins se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité [25]. On distingue les tanins hydrolysables et condensés.

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales [26]. Selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques.

I-1-3-1- Utilisation des tanins

On emploie les tanins pour protéger le cuir, car ils transforment les protéines contenues dans le cuir en produits insolubles résistant à la décomposition organique. La principale utilisation du tanin est le tannage (comme son nom l'indique) des peaux. Les tanins confèrent aux cuirs leurs qualités d'imputrescibilité qui ont fait la richesse de la mégisserie à Mazamet en particulier, mais aussi à Graulhet ou Millau [27].

Autres utilisations :

- Encres (par réaction avec des sels ferriques).
- Teinture d'étoffes.
- Encollage du papier ou de la soie.

- Coagulation du caoutchouc.
- Clarification des vins et des bières.
- Recherchés également pour leurs propriétés antioxydantes (après couplage avec d'autres chaînes carbonées).

❖ Pharmacopée

Au niveau biochimique, ce sont des composés phénoliques faisant précipiter les protéines. S'agit de celles de la salive, la lubrification de la bouche fait alors défaut, expliquant la sensation d'assèchement. Certains tanins auraient des propriétés antioxydantes, expliquant certains effets bénéfiques du vin sur la santé (protection cardio-vasculaire à doses modérées). Ils stopperaient également le développement des microbes. Les phénols interviennent dans les caractères organoleptiques du vin (saveur, astringence, dureté), dans les problèmes d'hygiène alimentaire (effet vitaminique P et effet bactéricide) et dans les transformations du vin (traitements et vieillissement). En particulier, ces substances, qui proviennent de la partie solide de la grappe, sont responsables de toutes les différences entre les vins blancs et les vins rouges. L'acide tannique est utilisé en médecine externe comme astringent anti-diarrhéique [6].

I-1-4-Terpènes et stérols

I-1-4-1-Les terpènes

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpénoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes.

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées (**Figure I.17**) comme par exemple le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire [28].

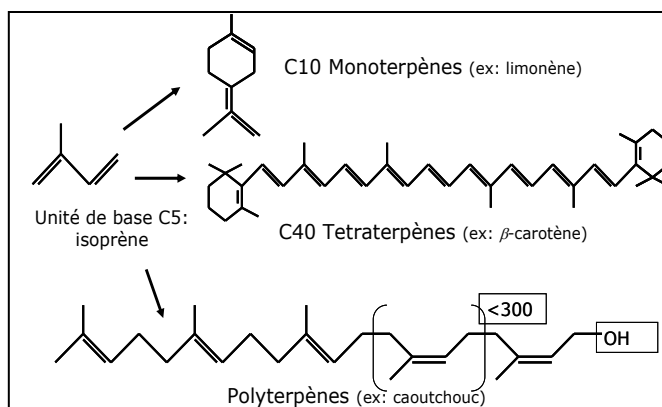


Figure I.17 : Exemple des isoprénoïdes

I-1-4-1-1-Classification des terpènes

Dans le règne végétal, les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (à 5 atomes de carbone). A ce jour, avec plus de 30 000 molécules identifiées, les terpènes constituent l'une des plus polymorphes et des plus grandes familles de composés naturels: hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et Polyterpènes [29].

I-1-4-2- Les stérols

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Tous les stérols ont en commun le même noyau et ils ne diffèrent que par la chaîne latérale. Les molécules stéroïdes se composent de quatre anneaux qui ont un certain nombre de résidus supplémentaires.

Les stérols, très largement répandus dans le monde vivant, se rencontrent aussi bien chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires (Spongiaires, madrépores, vers, mollusques...) que chez les algues [24].

I-1-4-2-1-Intérêts des terpènes et stérols

L'utilisation industrielle et l'intérêt thérapeutique des triterpènes et stéroïdes représentent un enjeu capital dans le domaine de la recherche des substances naturelles. Les propriétés pharmacologiques diverses attribuées à ces composés ont permis leur classement en

tant qu'un groupe de métabolites secondaires de grande importance. Ces composés manifestent entre autres:

- des potentialités thérapeutiques dans différents domaines: cytostatiques, anti-inflammatoires, analgésiques, insecticides, molluscicides, etc...
- un intérêt considérable dans le secteur de l'industrie pharmaceutique particulièrement la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés: contraceptifs, anabolisants, anti-inflammatoire,...etc.
- un intérêt thérapeutique concernant l'extraction des molécules bioactives, pour l'obtention des formes galéniques simples ou pour celle de préparation en phytothérapie.
- une importance économique du fait de leur utilisation dans les industries agroalimentaires [30].

I-1-5-Saponosides

I-1-5-1-Définition

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensioactifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom «saponine» est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante [7].

I-1-5-2- Répartition et localisation

Les Saponines sont distribuées dans une large variété de produits alimentaires et dans plusieurs familles de plantes différentes. Les sources les plus importantes étant l'arbre *Quillaja saponaria* Molina et *Yucca schidigera*, et l'arbuste du Sud-Est asiatique *Camellia sinensis*, connue sous le nom de « tea plant», en plus incluant les haricots, les mûres sauvages, les pois, les pommes de terre, la betterave sucrière et le thé [1].

I-1-5-3-Structures et classification

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique.

a-Saponine stéroïdique

Ce sont des saponosides à génines stéroïdique (**Figure I.18**), les stéroïdes sont des substances se trouvant à l'état libre chez le végétale, ce soit des stérols, soit des alcools. Ces

substances se rencontrent surtout chez les Monocotylédones (Liliacées, Amaryllidacées) et Dicotylédones (Scrofulariacées).

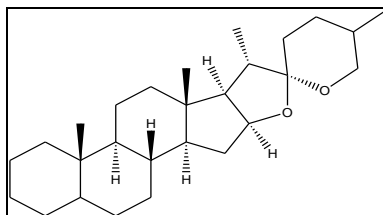


Figure I.18 : Squelettes des génines stéroïdique des saponosides (spirostane)

b- Saponine triterpénique

Les triterpéniques (**Figure I.19**) à squelettes en C30 constituent la majorité des saponosides rencontrés notamment chez les dicotylédones (Caryophyllacées, Araliacées, Luippocastanacées...). Dans ce cas l'aglycone peut être pentacyclique ou tétracyclique. Les sapogénols triterpéniques n'ont pas encore tous été identifiés.

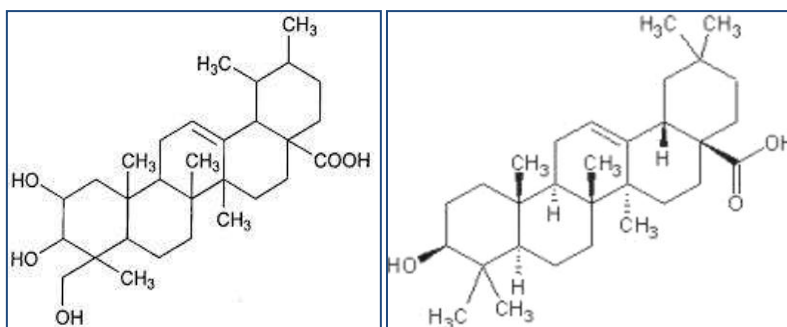


Figure I.19 : Quelques exemples de génines triterpéniques Acide Madécassique et Acide Oléanolique

I-1-5-4- Propriétés des saponines

Les saponines sont des glycosides naturels de triterpènes ou de stéroïdes qui présentent des activités biologiques et pharmacologiques variées, principalement dans les domaines de l'immunologie, la cancérologie et la microbiologie. Les saponines sont connues pour leurs Activités anti-tumorales, anti-inflammatoires, immunostimulants, anti-microbiennes, insecticide (anti-leshmanien).

Les saponines retiennent l'attention aussi bien pour leur exploitation industrielle. Certains sont des matières premières pour l'hum synthèse des molécules médicamenteuses stéroïdiques que pour leurs propriétés pharmacologiques. De nombreuses drogues à saponines

sont utilisées pour l'obtention de forme galénique, mais également par la phytothérapie ou l'industrie des cosmétiques [7].

I-1-6- Les huiles essentielles

I-1-6-1-Définition

Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. En effet, les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques [31].

Les HE doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobes et lipophiles. Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau et on les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tendent à se collecter en gouttelettes de grosse taille. Par contre, elles sont solubles dans les solvants (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) des lipides et, à l'inverse des glycérides, dans l'alcool [32].

I-1-6-2-Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Le rôle biologique des HE dans l'écologie est évident. Par leur odeur, elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, elles jouent un rôle attractif ou répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes...). Elles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs par les propriétés toxiques et inappétentes des substances qu'elles contiennent. Elles protègent les cultures en inhibant la manipulation des bactéries et des champignons. Elles empêchent la dessiccation de la plante (perte d'eau) par évaporation excessive et protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou concentration. Par ailleurs leurs composés interviennent dans les réactions d'oxydo-réduction, comme donneurs d'hydrogène. Par exemple l'isoprène réagit rapidement avec l'ozone et les radicaux hydroxyles. Aussi, elles émettent l'excès de carbone et l'énergie [33].

I-1-6-3-Constitution chimiques

La composition chimique de l'huile essentielle n'est pas immuable. Les huiles essentielles sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules sécrétrices. Leur élaboration est totalement tributaire du rayonnement solaire en l'absence duquel le rendement en produits aromatiques et leur nature sont affectés. En sa présence, et tout particulièrement

en fonction de la présence de tel ou tel rayonnement, les types de composants pourront varier considérablement au sein d'une même espèce [34].

CHAPITRE II

**Etude systématique de la plante
sélectionnée et activité biologique**

II-1-Etude bibliographique de l'espèce *Artemisia vulgaris* (Asteraceae).

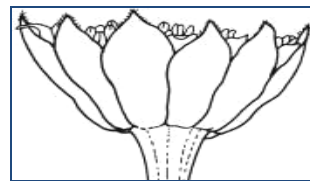
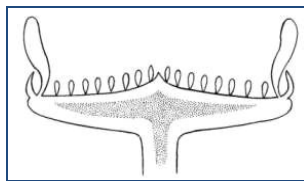
II-1-1-Famille des Asteraceae

La famille des asteraceae anciennement appelée compositae est la plus vaste de toute les plantes à fleurs, environ 1000 genres et 19000 espèces, soit près du 1/10 des Angiospermes. Ce sont des plantes dicotylédones cosmopolites, caractérisées par leurs inflorescences en capitules [35].

Plantes vivaces, annuelles ou bisannuelles, elles sont généralement herbacées ou subligneuses dans les régions tempérées, arbustives ou arborescentes dans les régions tropicales (*Vernonia*). Les formes en coussinet (*catananche* des régions méditerranéennes, *Raoulia* de Nouvelle-Zélande et de Tasmanie) ou lianescentes (*Mutisia*) sont rares. Dans les hautes montagnes tropicales, au-dessus de 3000 m, se rencontrent les *asteraceae* géantes portant de volumineuses inflorescences terminales: *Espeletia* dans les Andes, *Dendro senecio* en Afrique. Ces derniers atteignent de 8 à 10 mètres de haut. Il en existe une vingtaine d'espèces dont la localisation stricte dépend de l'altitude, de l'exposition des versants ou même des montagnes [35].

II-1-1-1- Caractéristiques générales

Les plantes de la famille Asteraceae se caractérisent surtout par leur inflorescence, des fleurs regroupées en capitules, plus ou moins fréquemment convexe, sur l'extrémité élargie d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des involucre [36].



Les fleurs (fleurons), stériles, unisexuées ou hermaphrodites, sont caractérisées par leurs anthères soudées, les ovules ont une position basale dans l'ovaire. On peut les diviser en trois groupes suivant l'aspect des capitules: les tubuliflores, les liguliflores et les radiées.

- ✚ Les premières ont une inflorescence uniquement composée de fleurs tubuleuses régulières, elles présentent des tubes terminés par des lèvres imperceptibles où s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes (chardon, centaurée).
- ✚ Les secondes composées uniquement de fleurons ligulés. Elles présentent des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés,

généralement par cinq, reconnaissables seulement aux dents de la languette (chicorée, laitue).

- ✚ Les dernières ont des fleurs tubuleuses régulières au centre et des fleurs tubuleuses irrégulières ou ligulées tout autour en forme de couronne (marguerite, aster).



Fleurons ligulés et tubulés



Fleurons tous tubulés



Fleurons tous ligulés

Le fruit des Astéracées est un akène indéhiscent, couronné, ou non, par le limbe du calice. La graine exalbuminée est dressée et son tégument est souvent soudé avec l'ovaire [36].

Pour identifier la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante [36].

II-1-1-2- Systématique de la famille Asteraceae

La famille largement répandue dans le monde entier, mais ses plantes sont principalement localisées dans les régions tempérées. Elle se distingue essentiellement par sa structure florale uniforme, sa grande variété écologique, son caractère cosmopolite. On y trouve surtout des plantes herbacées, vivaces et à feuilles alternes [37].

Les plantes appartenant à cette famille ont fait l'objet de nombreux travaux de recherches pour élaborer une classification plus précise de cette grande famille. Elle est partagée en de nombreuses tribus qui sont regroupées en 3 sous-familles par certains auteurs (Bremer et Jansen): Barnadesioideae, Asteroideae et Cichorioideae. Divisant cette famille en 12 sous-familles et 43 tribus. Ces sous-familles sont: Barnadesioideae, Stifftioideae, Mutisioideae, Wunderlichioideae, Gochnatioideae, Hecastocleidoideae, Carduoideae, Pertyoideae, Gymnarrhenioideae, Cichorioideae, Corymbioideae et Asteroideae. Parmi ces

tribus on peut citer: Barnadesieae, Stifftieae, Nassauvieae, Dicomeae, Tarchonantheae, Arctotideae, Astereae, Anthemideae, Heliantheae, Cichorieae et Cardueae [38].

II-1-2-Présentation du genre *Artemisia*

Artemisia est le genre le plus largement distribué dans la famille des *Asteraceae*. Il comprend 200 à 400 espèces. Ce sont des herbes ou petits arbrisseaux, fréquemment aromatiques. Plusieurs espèces de genre *Artemisia*, riches en huiles essentielles et en métabolites secondaires, ont une importance médicinale et sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de grand nombre de maladies et plaintes grâce à ses propriétés pharmacologiques : anti-malarique, antivirale, antipyrétique, antihémorragique, anticoagulant, anti-angineux, antioxydant, anti-hépatique, antispasmodique, anticomplimentaire, emménagogue, diurétique, hypoglycémique, fébrifuge, antirhumatisme [35].

Les espèces de genre *Artemisia* sont réparties à travers l'hémisphère Nord. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie. Certaines sont rares disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites. D'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répondues sur de grandes étendues. Leur détermination n'est pas délicate, d'autant qu'elles sont, pour la plupart vivaces et aromatiques [35].

II-1-3-Espèce *Artemisia vulgaris*

Le nom *Artemisia vulgaris* provient de la Déesse grecque Artémis qui venait en aide aux femmes malades, la plante, ayant des propriétés médicinales, hérita du nom de la Déesse. *Vulgaris* signifie vulgaire et réfère à l'espèce commune de ce genre [39].

II-1-3-1-Description botanique

L'armoise commune une «mauvaise herbe» qui pousse pratiquement sur n'importe quel sol est une plante pluriannuelle imposante qui peut atteindre plus de 1 mètre de haut. Elle se multiplie par semis ou par bouturage des jeunes pousses. Cette plante aromatique a des tiges ligneuses dans leur partie inférieure et des feuilles d'un vert moyen, argentées et duveteuses sur leur face inférieure (**Figure II.1**). La plante supporte très bien le gel en hiver. Nous recommandons de la tailler à 15 cm du sol au début de l'automne afin que de nouvelles pousses puissent éventuellement encore se former avant l'hiver. Ses fleurs pourpres mettent des touches de couleur discrètes dans chaque jardin durant les mois d'été.



Figure II.1: La plante *Artemisia vulgaris*.

On utilise avant tout les feuilles. Mais dans certaines régions, notamment en Chine, on se sert également des jeunes pousses fleuries pour aromatiser des plats délicats. Cette plante solitaire de taille imposante privilégie les endroits plutôt ensoleillés, de préférence pas trop humides [40].

II-1-3-2-Classification

Classification classique

Règne : Plantae.

Sous-règne: Tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Asteridae.

Ordre : Asterales.

Famille : Asteraceae.

Genre : *Artemisia*.

Espèce : *Artemisia vulgaris*.

Classification phylogénétique (APG II)

Règne : Plantae.

Clade : Eudicotylédones.

Clade : Asteridées.

Clade : Campanulidées.

Ordre : Asterales.

Famille : Asteraceae.

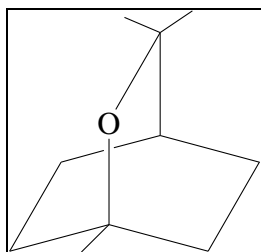
Genre : *Artemisia*.

Espèce : *Artemisia vulgaris*.

II-1-3-3- Les composants chimiques et leurs propriétés

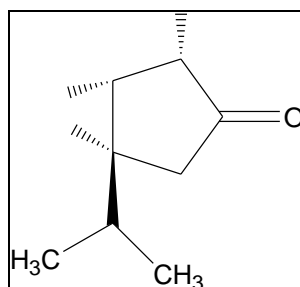
Plus de 40 composants chimiques ont été identifiés dans les huiles extraites d'*Artemisia vulgaris*: 28 monoterpènes, 14 sesquiterpènes et un composant acyclique non-terpénique. Cela représente près de 90% de la composition de ces huiles. On ne présentera ici que quelques-uns d'entre eux.

• **Eucalyptol:** (Formule brute: $C_{10}H_{18}O$; Nomenclature: 1,3,3-triméthyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octane). Propriétés antidouleurs, anti-inflammatoires et peut détruire des cellules cancéreuses. Il est insoluble dans l'eau, mais miscible dans l'éther, éthanol et le chloroforme. C'est un éther cyclique de la famille des monoterpènes.



Eucalyptol

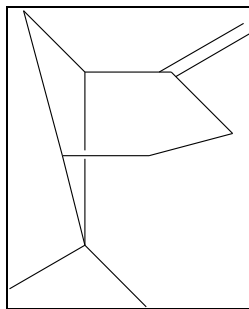
• **α thuyones:** formes stéréo-isomères du thuyone. (Formule brute: $C_{10}H_{16}O$; Nomenclature: (1S-(1-,4-,5- α))4-méthyl-1-Propan-2-yl-bicyclo [3,1,0] hexan-3-one) Propriété stimulante du système immunitaire, mais a des effets secondaires sur le système nerveux, provoquant anxiété et perte de sommeil. La thuyone agit en particulier sur les récepteurs de GABA dans le cerveau et peut provoquer des hallucinations et des inhibitions. Les GABA sont les principaux neurotransmetteurs inhibiteurs du système nerveux encéphalique. Ce sont des cétones de la famille des monoterpènes.



α thuyones

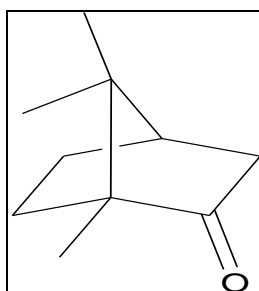
L' α -thuyone est le plus toxique des thuyones qui peuvent provoquer des convulsions voir la mort, leurs concentration dans les produits est donc réglementée.

• **β -pinène**: (Formule brute: $C_{10}H_{16}$; Nomenclature: triméthyl-2, 6,6-bicyclo (3, 1,1) hept-1-ène). Cette molécule a des propriétés antiseptiques. Insoluble dans l'eau mais miscible dans l'éthanol. C'est un membre de la famille des monoterpènes et elle est bicyclique.



β -pinène

• **Camphre**: (Formule brute: $C_{10}H_{16}O$; Nomenclature: 1, 7,7-triméthylbicyclo [2, 2,1] heptan-2-one). Le camphre est facilement absorbé par la peau et produit une sensation de froid similaire à celle du menthol. Il sert d'anesthésique local léger et de la substance antimicrobienne. C'est un poison à forte dose. C'est une cétone, faisant partie de la famille des composés carbonylés [39].



Camphre

II-1-3-4- Utilisation de la plante

II-1-3-4-1-Utilisation dans la médecine naturelle

Il est recommandé de faire un usage parcimonieux de cette plante amère, dans la médecine comme dans la cuisine. Mais une tisane d'armoise soulage fréquemment les maux d'estomac ou d'intestin. Les effets bénéfiques de cette plante sur la digestion ainsi que son action apaisante sur les troubles de la menstruation et les problèmes de peau sont très

appréciés de tout temps. À signaler toutefois que l'utilisation d'armoise commune est à proscrire pendant la grossesse et l'allaitement [40].

II-1-3-4-2-Usages en pharmacopée

Artemisia vulgaris est une plante que l'on utilise en homéopathie, les parties de la plante qui sont utilisées pour la conception de médicaments sont les feuilles, les racines et les sommités fleuries dont on extrait surtout une huile essentielle avec comme composant principal du cinéole (ou eucalyptol) et des amers. La plante sert entre autres pour régulariser le cycle menstruel de la femme et soulager les symptômes de la ménopause par le biais d'infusion. Cette capacité de stimuler le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus est appelé emménagogue. Plusieurs autres usages lui sont également reconnues, avec entre autres, une aptitude de stimulation de l'organisme, dite capacité tonique, une aptitude à combattre la fièvre dite capacité fébrifuge, une aptitude de lutter contre les spasmes musculaires dit capacité antispasmodique, une aptitude d'extermination des vers intestinaux dit capacité vermifuge et une action qui favorise la digestion dit capacité stomachique. Cette plante présente néanmoins à forte dose un caractère toxique, avec un risque de lésions hépatiques et rénales et est convulsivante [39].

II-2-Les agents antimicrobiens

Le terme agent antimicrobien désigne toute substance utilisé pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance. Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisée de diverse manière, selon les objectifs recherchés et selon leur spécificité d'action [41].

Les organismes vivants sont tous de formidables chimistes aux capacités souvent insoupçonnées. Chaque cellule est le siège d'un nombre considérable de réactions qui lui permettent de créer les molécules nécessaires à sa vie à partir des molécules de son environnement. Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires et autonomes, procaryotes qui ne contiennent pas de noyaux et qui se trouvent en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Il y a beaucoup de types de bactéries qui sont toutes éparées dans différents groupes et chaque groupe ayant des propriétés uniques.

II-2-1-La résistance aux antibactériens

La résistance aux antibactériens une des menaces les plus sérieuses pour un traitement efficaces d'une maladie. Les bactéries deviennent résistantes aux antimicrobiens de différents manières:

- En empêchent la pénétration d'antibiotique.
- En activant les antimicrobiens par des modifications chimiques.
- Certains agents pathogènes ont, dans leur membrane plasmatique des transloquases, appelées souvent pompe effluentes, comme les drogues [42].

II-2-2-Les souches microbiennes testées

Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (Gram négatif et Gram positif) basé sur la différence de la structure et de la composition chimique de la paroi cellulaire, mise en évidence grâce à la coloration de Gram. Les bactéries à coloration Gram positif possèdent entre autre une paroi cellulaire plus épaisse que les bactéries à coloration Gram négatif.

II-2-2-1- *Escherichia coli*: Bacille aérobie et Gram négatif que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud (**Figure II.2**).

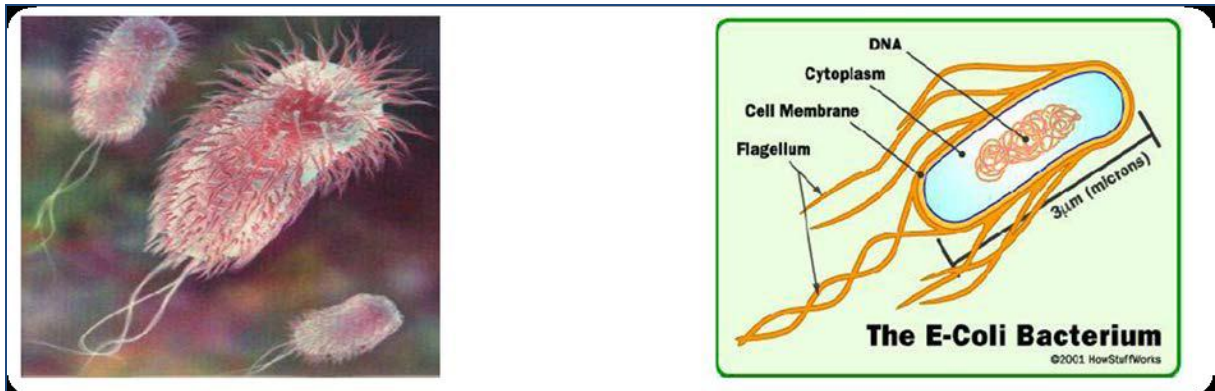


Figure II.2 : Aspect morphologique d'*Escherichia Coli*.

II-2-2-2-*Pseudomonas aeruginosa*: Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile grâce à un flagelle polaire. Il est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales (germe ubiquitaire). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement (**Figure II.3**).



Figure II.3 : Aspect morphologique de *Pseudomonas aeruginosa*.

II-2-2-3- *Acinetobacter baumannii*: Gram négatif, aérobie et immobile. Il s'agit d'un germe d'infection opportuniste chez l'homme, particulièrement chez les personnes immunodéprimées et que l'on trouve aussi comme agent de maladies nosocomiales.

II-2-2-4- *Staphylococcus aureus*: Cocci à Gram positif ubiquitaire qui est commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste dans certains. *Staphylococcus aureus* est aussi responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients (**Figure II.4**).

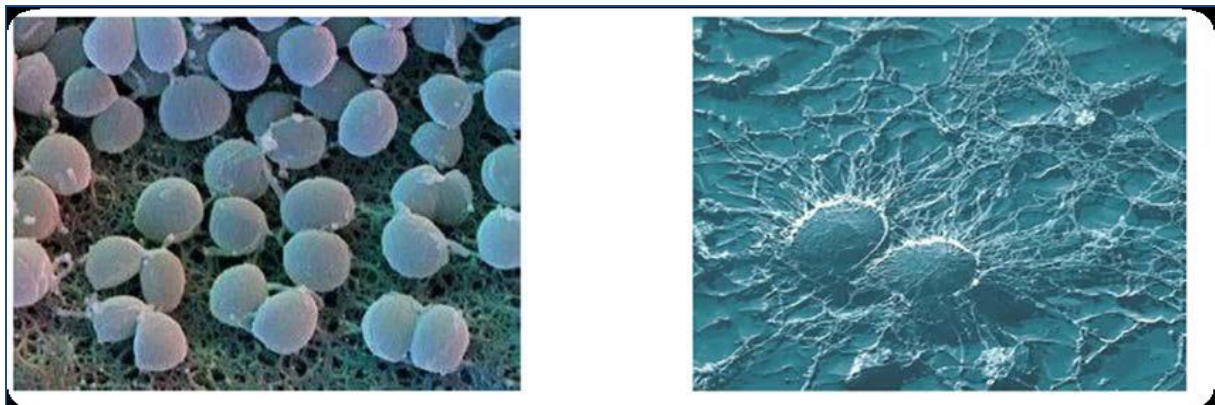


Figure II.4 : Aspect morphologique de *Staphylococcus aureus*.

II-2-2-5- *Enterobacter ssp*: est un genre de bactérie appartenant à la classe des Gammaproteobacteria et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram négatif, chimio-hétérotrophe. L'habitat est l'intestin de l'homme et des animaux, *Enterobacter* est aussi trouvé dans les selles, les eaux d'égouts, le sol, les produits

laitiers. Certaines souches du genre *Enterobacter* peuvent être responsables d'infections nosocomiales [43].

CHAPITRE III

Résultats et discussions

III- Matériels et méthodes

III-1- Matériel biologique (Echantonnage)

III-1-1-Matériel végétal

La plante d'*Artemisia vulgaris* a été collectée au mois d'avril 2016 dans la région d'Ain Touta Batna. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie et de microbiologie, université Abbès Laghrour-Khenchela.

La plante récoltée a été ensuite séchée à l'abri de la lumière du soleil. Enfin la plante sèche a été pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation (**Figure III.1**).



Figure III.1: Echantillon de l'espèce *Artemisia vulgaris*.

III-1-2-Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi les produits: $FeCl_3$, acide sulfurique (H_2SO_4), HCl , l'acide acétique, $NaOH$, NH_4OH , KI , I_2 , $NaCl$, dimethyl sulfoxide (DMSO), méthanol, chloroforme, éthanol, proviennent tous de sigma-Aldrich. Parmi l'appareillage utilisé: rotavapeur (HANVAPOR), chambre d'observation UV « 264-365 nm » (VILBER COURMAT), bain marie (MEMMERT), étuve universelle de 5 à 220° avec ventilation (MEMMERT), agitateur magnétique (SCIOLOGEX), vortex (VELP), autoclave (SANO, Clav) et balance (OUAUS).

III-2-Méthodes

III-2-1-Techniques d'extraction

II-2-1-1-Extraction par les solvants

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par deux solvants organiques de polarité croissante; il s'agit du chloroforme, et du méthanol. Dans notre cas 69g de la plante est broyé et extraite par 600 ml de chloroforme. L'extraction est effectuée sous agitation continue et à une température ambiante, pendant 48 heures (**Figure III.2**).

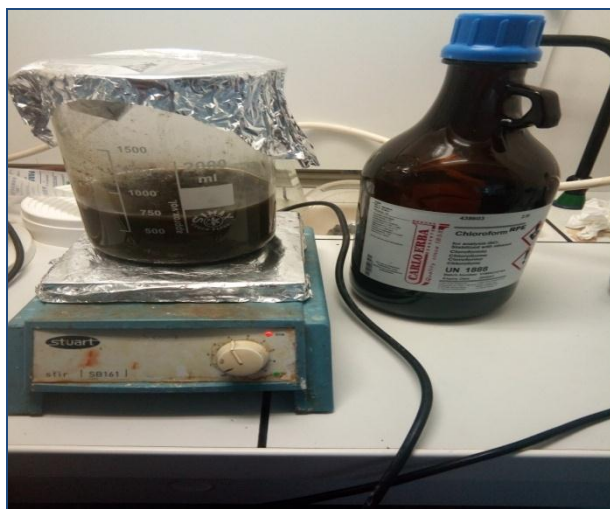


Figure III.2: Macération de La plante

Après filtration sur un papier Wattman, le matériel végétal est ensuite soumis à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec un autre solvant plus polaire, il s'agit du méthanol. Les filtrats sont additionnés et concentrés à sec par un évaporateur rotatif de type « HAHNVAPOR » (**Figure III.3**).



Figure III.3: Evaporation des filtrats.

Cette série d'extraction a permis d'obtenir deux extraits organiques bruts: extrait Chloroformique (CHCl_3) et extrait méthanolique (MeOH) (**Figure III.4**), qui seront récupérés dans des flacons en verre puis conservés à 4° C jusqu'à utilisation.



Extrait CHCl_3



Extrait MeOH

Figure III.4: les extraits bruts.

III-2-1-2-Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

II-2-1-3- La chromatographie sur couche mince

Parmi les méthodes chromatographiques de séparation et de purification, qui se base sur support d'adsorption et le partage. On mit en œuvre un adsorbant telle que la silice ou l'alumine la phase stationnaire est étalé en couche fine sur une plaque en verre ou en plastique la quelle est placée dans une cuve de développement contenant au font une phase mobile (solvant), tout est fermé par une plaque de verre. Le solvant migre le long de la plaque par l'effet de capillarite entraînant avec lui le soluté. Les phases stationnaires les plus utilisées en chromatographie planaire sont: la silice (SiO_2), Alumine, amidon, cellulose et polyamide. Les phases mobiles les plus utilisées en CCM sont généralement un ou plusieurs solvants mais tous simplement il faut respecter l'ordre de polarité (de moins polaire jusqu' au plus polaire) [9].

- ❖ Pour la détection des constituants des différents extraits de la plantes étudiée, nous avons utilisé des plaques CCM dont la phase stationnaire est le gel de silice.
- ❖ La révélation des taches se fait par une lampe à UV (longueur d'onde à 254 et 365 nm), et avec un mélange des acides (30 ml l'acide acétique et 20 ml acide sulfurique et 50 ml d'eau distillée).

Les systèmes solvants choisis sont utilisés comme des éluant des phases stationnaires leurs vapeurs doivent saturer l'atmosphère de la cuve ceci impose d'utiliser une cuve bien fermée.

- ❖ **Le dépôt:** le dépôt se fait avec des pipettes de pasteur ou capillaire à usage unique d'une façon perpendiculaire et linéairement. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans les solvants, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte.
- ❖ **Développement des plaques:** chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque.
- ❖ **Révélation:** si les constituants sont colorés, ils seront directement visibles sur la plaque, sinon la révélation peut se faire à UV.

Pour les deux extraits on a utilisé deux solvants chloroforme et méthanol de différents pourcentages comme un système d'élution (**Tableau III.1**).

Le système d'élution	Les pourcentages
CHCl ₃ / MeOH	95/5 %
	80/20 %
	70/30 %

Tableau III.1 : le système d'élution des extraits.



Figure III.5: CCM de l'extrait CHCl₃.

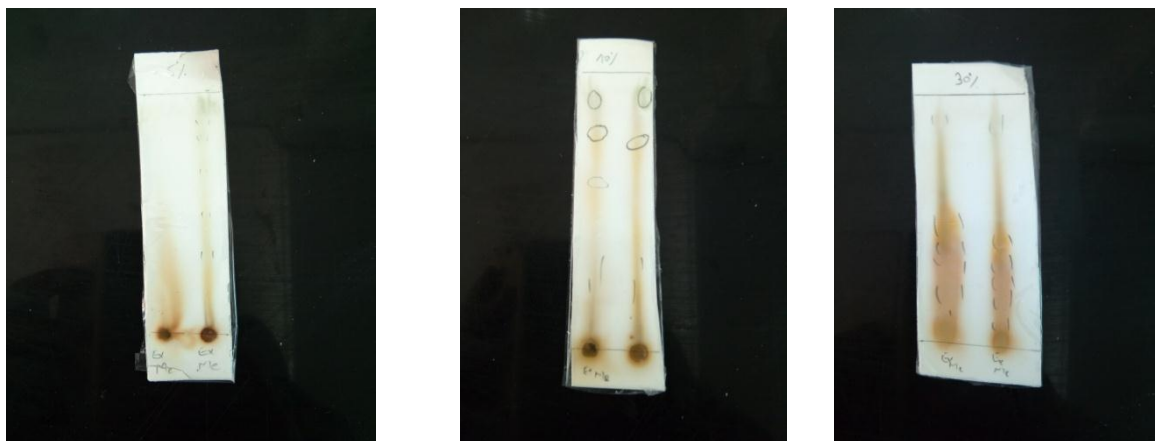


Figure III.6: CCM de l'extrait MeOH.

III-2-2- Screening phytochimiques de la plante sélectionnée

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et technique de préparation et d'analyse des substances organique naturelles de la plante. De cet effet, nous somme intéressé à réaliser un screening chimique de la plante *Artemisia vulgaris*. ainsi que l'évaluation biologique des extraits obtenue.

III-2-2-1- Détection des alcaloïdes

Pour faire les tests d'identification rapide des drogues à alcaloïdes, on peut préparer un extrait selon le procédé suivant :

- Dans un erlenmeyer de 50 ml, introduire :
 - **6 g** de la Poudre végétale.
 - **30 ml** d'une solution d'acide sulfurique à 10%.
- Agiter pendant 2 minutes puis filtrer sur papier filtre.
- Partager les filtrats entre 2 tubes :
 - Dans le premier tube, ajouter quelques gouttes de réactif de **MAYER** (réaction faible, léger précipité blanc-jaunâtre si le test positif).
 - Dans le deuxième tube, ajouter quelques gouttes de réactif de **BOUCHARDAT** (il se forme un précipité marron roille si le test positif).

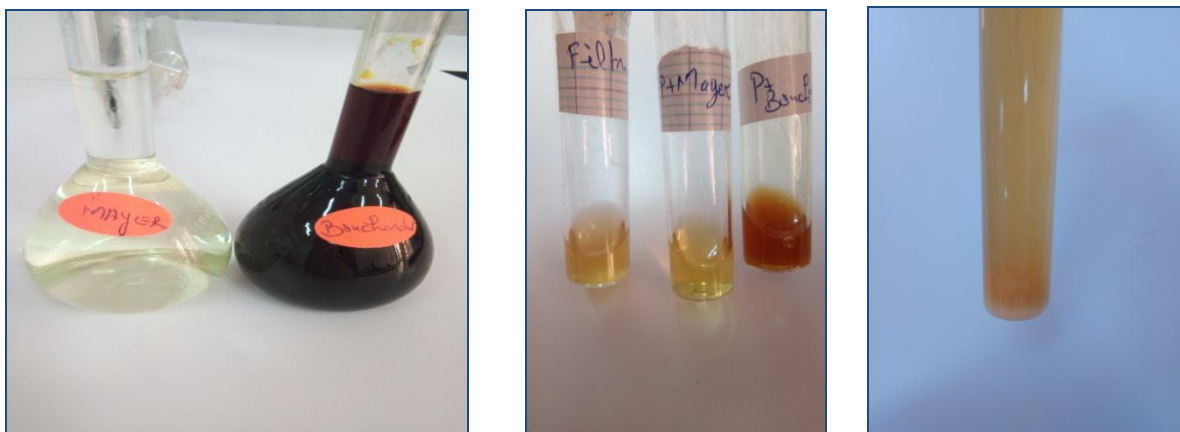


Figure III.7: Résultats après l'ajout des réactifs.

III-2-2-2- Détection des polyphénols

- Dans un erlenmeyer, introduire **6 g** de poudre végétale et ajouter un mélange de **6 ml** eau distillé et **12 ml** d'acétone.
- Placer au bain marie (à 60 C° max), pendant 5 min environ, en agitant de temps en temps.
- Mettre le filtrat dans un tube à essais de 16 ml et ajouter 1 ou 2 gouttes de solution perchlorure ferrique (**FeCl₃**).
- Après l'ajoute de FeCl₃, on a observé la formation d'un précipité noir-vert intense.



Figure III.8: Résultats du test des Polyphénols.

III-2-2-3- Détection des flavonoïdes

- Macérer **10g** de poudre sèche des dans **150 ml** HCl dilué 1% pendant 24 heures puis filtrer.
- A chaque 10 ml du filtrat, ajouter quelques gouttes de NH₄OH.

- L'apparition d'un couleur jaune clair dans la partie supérieure de tube à essai, indique la présence des flavonoïdes.



Figure III.9: Résultats après l'ajout de NH_4OH .

III-2-2-4- Détection des tanins

2 à 3 gouttes de la solution FeCl_3 à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brute. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le test est considéré positif s'il ya l'apparition d'une coloration verte-noir et un précipité.

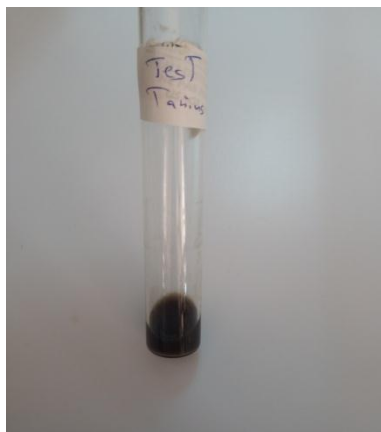


Figure III.10: Identification des tanins.

III-2-2-5- Détection des coumarines

Les coumarines ont été mises en évidence par la réaction sur le cycle lactonique.

- Dans un erlenmeyer introduire :
- 6 g de la poudre végétale.
 - 16 ml éthanol.

- **2 ml** eau distillée.
- Agiter pendant 2 minutes puis filtrer sur papier filtre.
- Prendre **2 ml** de filtrat et ajouter **0.5 ml** de NaOH 10%, chauffés jusqu'à l'ébullition.
- Après le refroidissement, sont rajoutés dans le tube à essai 4 ml d'eau distillée.
- Si le liquide de tube à essai dans lequel l'on a ajouté la solution alcaline est transparente ou plus transparente par rapport au liquide du tube à essai témoin (sans solution alcaline), alors la réaction est positive.
- En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes d'HCl concentré, elle prend une coloration jaune.

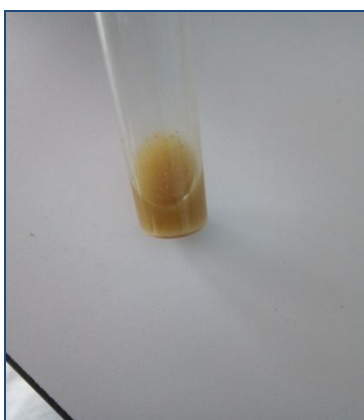


Figure III.11: Test d'identification des coumarines.

III-2-2-6- Détection des anthracénosides

L'identification rapide des anthracénosides, nécessite la préparation d'un extrait sur lequel une réaction de BORNTRÄGER peut être pratiquée directement, selon le procédé suivant :

- Dans un erlenmeyer introduire :
 - **6 g** de la poudre de la poudre.
 - **30 ml** d'acide sulfurique dilué à 10%.

Porter au bain-marie bouillant à 95°C pendant 3 minutes.

- Ajouter : 1 ml d'eau oxygénée à 30 volumes, puis porter au bain-marie 95°C pendant 10 min.
- Filtrer à chaud sur papier filtre dans un tube à essai, laisser refroidir le filtrat. Ajouter un égal volume (3 à 4 ml) d'éther éthylique, agiter doucement, par retournement du

tube. S'il ne se forme pas d'émulsions vous pouvez agiter plus énergiquement a fin de bien extraire les anthraquinones.

- Décanté l'éther (phase supérieure) et le prélever à l'aide d'une pipette pasteur.
- Le placer dans un autre tube et ajouter un égal volume de lessive de NaOH à 50 g/l, agité énergiquement.
- La phase aqueuse (se colore en rouge pourpre (émolol dianion majoritaire), tandis que la phase organique, initialement colorée en jaune citron (anthraquinones), se décolore totalement. Les anthraquinones, sous forme de sels (dianions), ne sont plus solubles que dans l'eau et la colorent en rouge.



Figure III.12: Identification des anthracénosides par la réaction de BORNTRÄGER.

III-2-2-7- Détection des saponines

- peser exactement **1 g** de poudre végétale, et l'introduire dans un erlenmeyer de 250 ml avec 100 ml d'eau distillée.
- Chauffer au bain-marie à 95°C pendant 30 min: « décoction ».
- Filtrer à chaud le décocté, sur filtre plissé, dans un erlenmeyer propre.
- Introduire le filtrat dans un tube à essai.
- Boucher le tube avec un bouchon.
- Agiter vigoureusement le tube, en position horizontale pendant 15 secondes.
- Après 10 minutes au repos, la couleur rouge-marron et la mousse de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques.



Figure III.13: Test d'identification des saponines.

II-2-2-8-Détection des cardénolides

- Macérer **1 g** de la poudre sèche dans 20 ml d'eau distillée et filtrer, prélever **10 ml** de filtrat, l'extraire avec **10 ml** d'un mélange de CHCl_3 et $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Evaporer la phase organique et dissoudre le précipité dans **3 ml** de l'acide acétique glacial.
- ajouter quelques gouttes de FeCl_3 suivi de **1 ml** de H_2SO_4 concentré sur les parois du tube à essai, l'apparition d'une couleur vert-bleue dans la phase acide indique la présence des cardénolides.

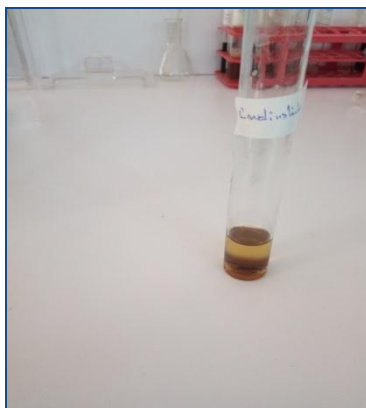


Figure III.14: Test d'identification des cardénolides.

II-2-2-9- Détection des stérols et triterpènes

Les stérols et les triterpènes ont été mis en évidence par la réaction de LIEBERMANN.

- Prendre **5 g** de la poudre végétale, dissoudre dans 20 ml d'éther de pétrole, filtrer et évaporer jusqu'à sec.
- Dissoudre le résidu obtenu dans **5 ml** d'anhydride acétique et ensuite dans **5 ml** de CHCl_3 .
- La solution est transférée dans un tube à essai.

- Ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré. Un cercle violet ou marron est formé, dans la zone de contact entre les deux phases ceci indique la présence des stérols et triterpènes.

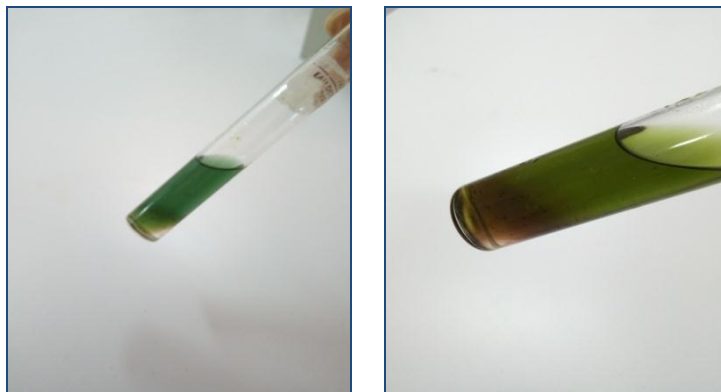


Figure III.15: Test d'identification des stérols et triterpènes par la réaction de LIEBERMANN après l'ajout du H_2SO_4 .

II-2-2-10- Détection des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits bruts (extrait butanolique) par le réactif de Fehling.

- Pour réaliser le test de Fehling à 5 ml d'extrait brute sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à $70^\circ C$ indique une réaction positive.



Figure III.16: Test d'identification des sucres réducteurs.

III-2-2-11- Détection des huiles essentielles

a- L'hydrodistillation

Cette méthode consiste à immerger directement la matière végétale à ébullition. Les principes volatiles sont alors entraînés par la vapeur d'eau et après condensation du distillat, sont séparé par décantation.

- Nous remplissons environ de moitié un ballon avec de l'eau distillée et 100 g de la poudre végétale. Puis nous plaçons le tout sur la chauffe ballon et raccordons au montage à reflux. Le chauffe ballon est ensuite allumé et le contenu porté à ébullition. Au fur et à mesure les vapeurs s'échappent du mélange et sont liquéfiées grâce au chauffage à reflux.



Figure III.17: Montage d'hydrodistillation utilisé pour détecter les huiles essentielles dans la plante étudiée.

Nous récupérons le distillat dans un récipient, puis on le verse dans une ampoule à décanter et on introduit 200 ml d'éther de pétrole (02 fois). Après agitation et décantation (l'extraction liquide-liquide), on observe deux phases (organique et aqueuse) la phase organique est inférieure et la phase aqueuse est supérieure, on récupère la phase organique (Ether de pétrole et l'huile essentielle).

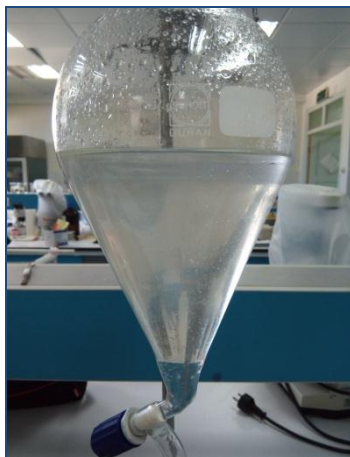


Figure III.18: Extraction liquide-liquide par éther de pétrole.

Après filtration et évaporation de solvant par un évaporateur rotatif. L'huile essentielle récupérée et pesée.



Figure III.19: Huile essentielle d'*Artemisia vulgaris*.

b- La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince des huiles essentielles de la plante *Artemisia vulgaris*, utilisent le système d'élutions suivant le (**Tableau III.2**).

Le système d'élution	Les pourcentages
EP / AcOET	80/20 %

Tableau III.2: Le système d'élution utilisé pour les huiles essentielles.

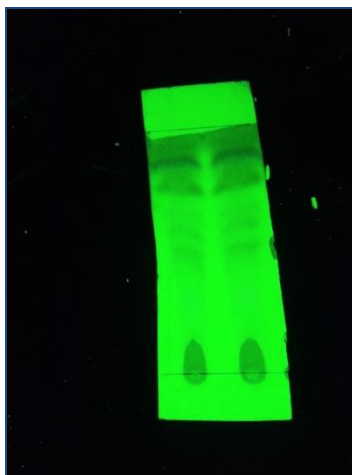


Figure III.20: CCM des huiles essentielles.

III-3-Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante sélectionnée *Artemisia vulgaris*

III-3-1- Les produits à tester

Pour tester l'activité antibactérienne de la plante étudiée nous avons utilisé l'huile essentielle et les deux extraits d'*Artemisia vulgaris*: l'un au chloroforme, et l'autre au méthanol. L'huile essentielle et les différents extraits testés ont été préparés au laboratoire de biochimie et de microbiologie à l'université Abbès Laghrour-Khenchela. Concernant l'huile essentielle obtenue par la méthode hydrodistillation décrite dans la partie précédente.

III-3-2-Les souches bactérienne

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), il s'agit de: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) en plus deux souches isolées, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter sp.* Elles proviennent de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ahmed ben Bella de Khenchela.

III-3-2-1-Préparation des précultures

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 18 h à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

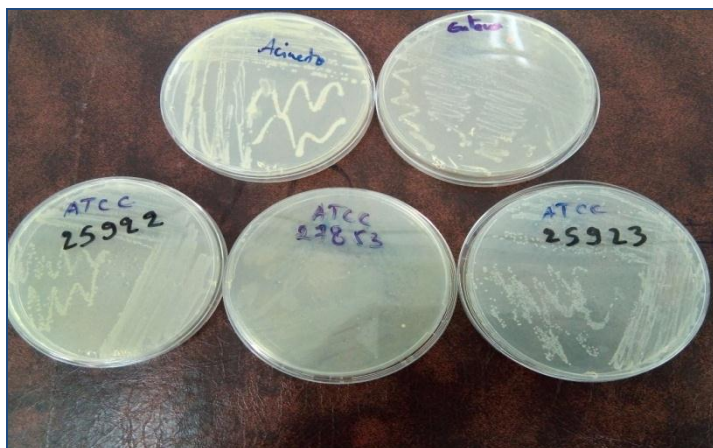


Figure III.21: Les souches bactériennes cultivées.

III-3-2-2- Préparation de la suspension antibactérienne (inoculum)

Une suspension antibactérienne d'une densité optique de 0,5 McFarland a été préparée, pour chaque souche, à partir de deux colonies bien isolées dans 5 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai stérile.

III-3-2-3-Préparation des disques

La méthode de diffusion à partir d'un disque a été utilisée pour mettre en évidence. Des disques de papier Wattman de (6 mm) de diamètre sont stérilisés dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée puis séchés à l'étuve. Ces disques sont ensuite imbibés de 10 μ l d'extrait à tester des concentrations différentes. Des disques imprégnés de DMSO sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif, et les disques des antibiotiques comme contrôle positif pour déterminer la sensibilité de chaque souche bactérienne testée.

III-3-2-4-Préparation des solutions

Les différents extraits organiques des plantes étudiées sont solubilisés dans le DMSO. Des dilutions ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de **0,5 g/ml**, **0,25 g/ml** et **0,125 g/ml** pour chaque extrait testé.

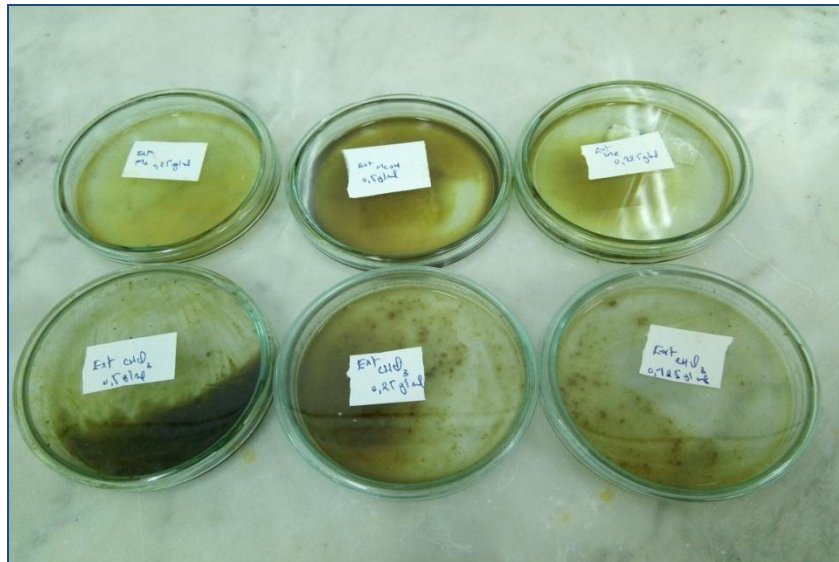


Figure III.22: Les solutions préparées

III-3-2-5- Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antibactériens sont les suivants :

- La gélose nutritive (GN) pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton (MH) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de la plante.

Les géloses ont été coulées dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes.

III-3-2-6- Ensemencement

L'inoculum est ensemencé sur des boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon. La surface entière de la gélose a été étalée à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution homogène des bactéries.

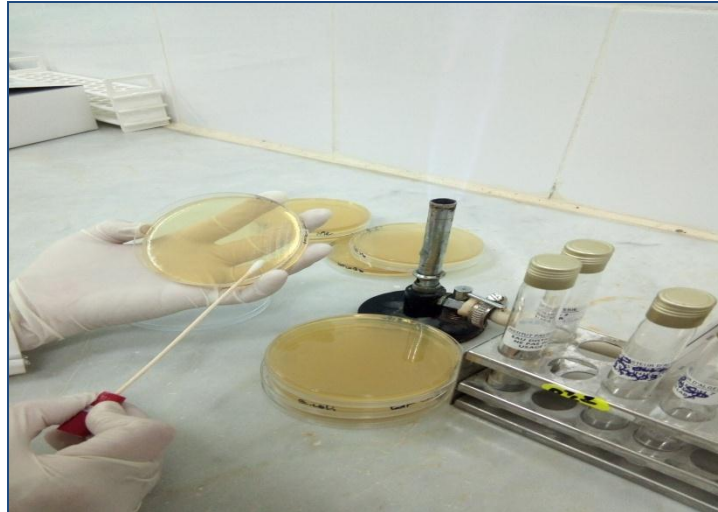


Figure III.23: Flottage de l'écouvillon sur la totalité de gélose en stries serrées.

III-3-2-7-Application et lecture

Pour chaque extrait, à l'aide d'une micropipette et en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée on dépose 10 μ l à la surface de chaque disque stérile, celui-ci va absorber progressivement l'extrait et l'huile. Puis on le dépose à l'aide d'une pince stérile sur la gélose inoculée au préalable. Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser au réfrigérateur pendant 1 heure. Enfin on incube à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible. Les résultats obtenus sont récapitulés dans les tableaux suivants (**Tableau III.3**). La sensibilité aux extraits a été classée par le diamètre des zones d'inhibition comme suit :

Non sensible (-): ou résistante avec un diamètre < 8 mm. **Sensible (+):** diamètre compris entre 9 et 14 mm. **Très sensible (++):** diamètre compris entre 15 à 19 mm. **Extrêmes sensible (+++):** diamètre > 20mm.

Souches bactériennes	Zones d'inhibition des souches bactériennes en (mm).							
	L'extrait chloroformique				L'extrait méthanolique			
	1/8	1/4	1/2	DMSO	1/8	1/4	1/2	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	13	15	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	09	10	11	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	08	11	12	-
<i>Acenitobacter boumanii</i>	-	-	-	-	08	09	10	-
<i>Enterobacter sp</i>	-	-	-	-	08	12	14	-

Tableau III.3: Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits *Artemisia vulgaris*.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Zones d'inhibition en (mm).	13	09	30

Tableau III.4 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle testée.

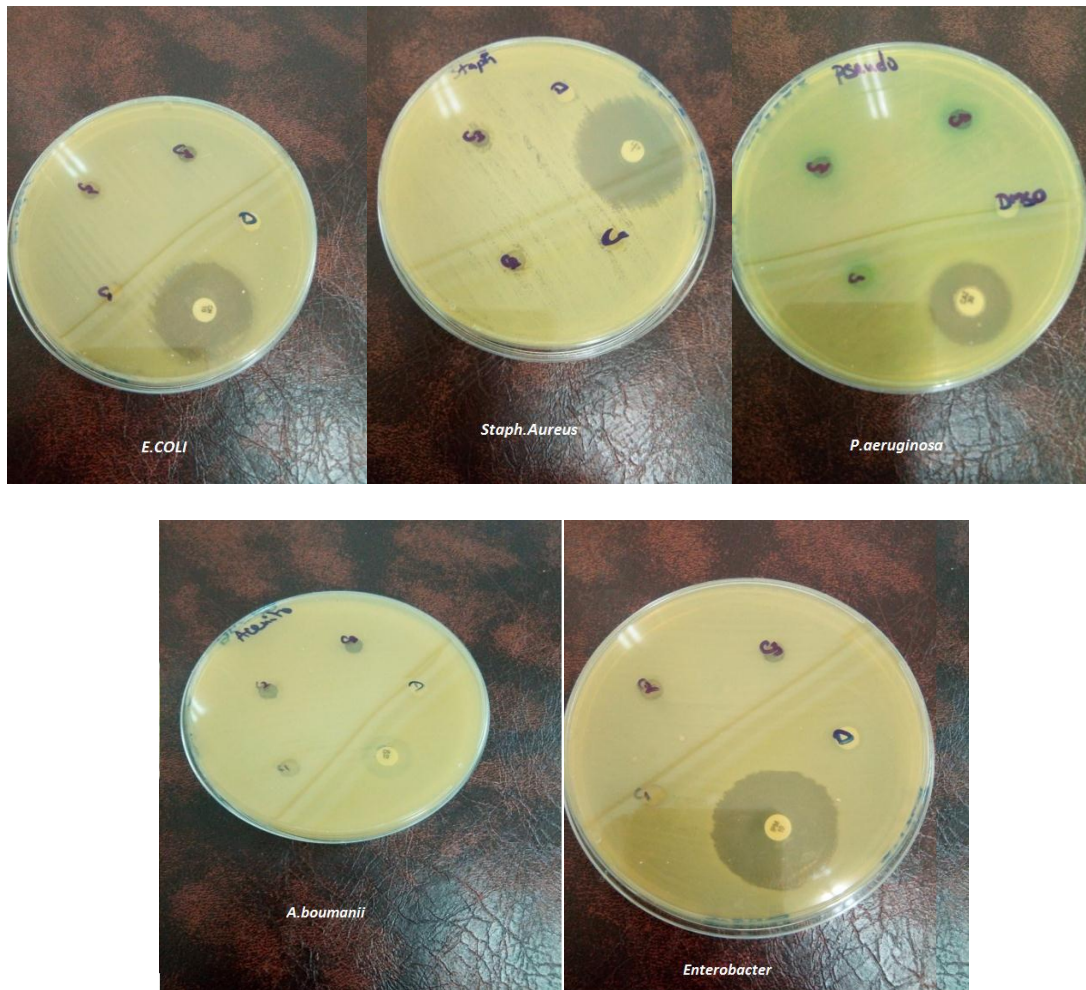


Figure III.24: Effet de l'extrait CHCl_3 sur la croissance microbienne.

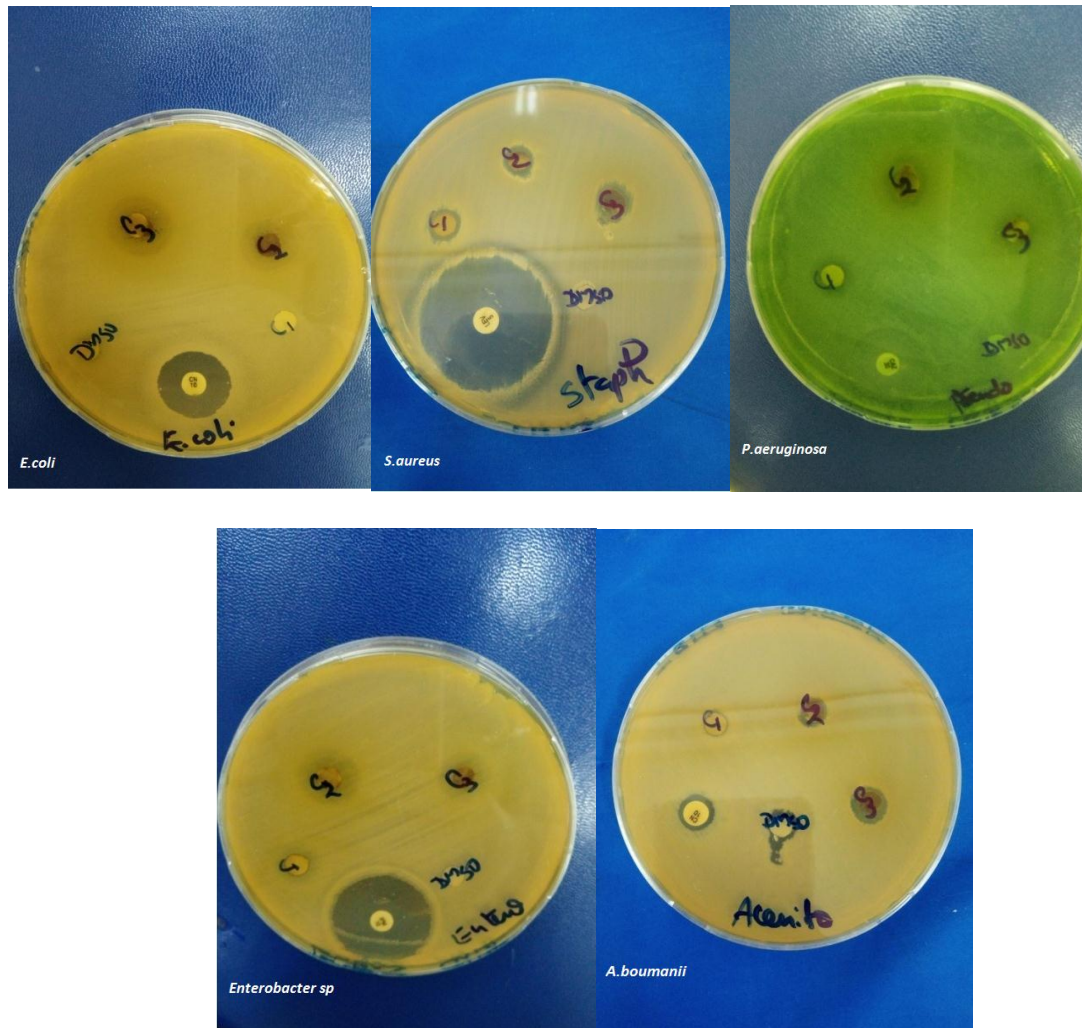


Figure III.25: Effet de l'extrait MeOH sur la croissance microbienne.



Figure III.26: Effet de l'HE sur la croissance microbienne.

IV- Résultats et discussions

IV-1-Le rendement des extraits

L'extraction de la plante *Artemisia vulgaris* nous a permis d'obtenir les résultats suivant le (Tableau IV.1).

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids de l'extrait CHCl ₃ en (g)	Le poids de l'extrait MeOH en (g)	Le rendement de l'extrait CHCl ₃ en (%)	Le rendement de l'extrait MeOH en (%)
<i>Artemisia vulgaris</i> L	69 g	49 g	14 g	10 %	34 %

Tableau IV.1: Le rendement des extraits.

L'opération de l'extraction du matériel végétal d'*Artemisia vulgaris* à l'aide de chloroforme et du méthanol permis d'obtenir des résidus secs des extraits brutes de 49g pour l'extrait CHCl₃ et 14g pour l'extrait MeOH. Le calcul des rendements en fonction du matériel végétal sec a montré que l'extrait méthanolique d'*Artemisia vulgaris* représente un rendement de 34%. Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale puisqu'il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

IV-2-Détermination du rendement en huile essentielle d'*Artemisia vulgaris*

Le Poids d'huile essentielle = [le poids de ballon + d'huile essentielle]- [le poids de ballon].

- Le poids d'huile essentielle = 0,8(g).

$$R = 0,8/100 \times 100 = \mathbf{0,8\%}.$$

IV-3-Screening phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par des réactions qualitatives de caractérisation.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les tests phytochimiques réalisés sur la plante *Artemisia vulgaris* révèlent la présence de différentes familles de composés dont les résultats sont présentés dans le (tableau IV.2).

Composés	Plante
Alcaloïdes	+/-
Polyphénols	+++
Flavonoïdes	++
Tanins	+++
Coumarines	++
Saponines	+++
Les sucres réducteurs	+
Stérols et triterpènes	++
Les huiles essentielles	+++
Les cardénolides	-
Les antracénosides	+

Tableau IV.2: Analyse phytochimique préliminaires d'*Artemisia vulgaris*.

Les résultats sont interprétés comme suit :

Le signe (-) : absence de principe actif.

Le signe (+) : présence des traces de principe actif.

Le signe (+ +) : présence d'une qualité appréciative de principe actif.

Le signe (+ + +) : plante riche en principe actif.

L'étude phytochimique de la plante *Artemisia vulgaris* a montré que cette plante est riche de plusieurs composés particulièrement : les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, et les huiles essentielles, les stéroles et les terpènes, les antracénosides, les sucres réducteurs. Cependant, on marque l'absence des autres principes testés. La richesse de l'extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation en médecine traditionnelle.

IV-3- 1-L'analyse des chromatogrammes des extraits obtenus

Le développement de la méthode pour la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais le choix aussi de la phase stationnaire, la technique de la chromatographie sur couche mince CCM permis d'avoir les empreintes Polyphénoliques dans les extraits de la plante *Artemisia vulgaris*. Notre CCM a été réalisée en utilisant le système solvant suivant: chloroforme/méthanol. Les chromatogrammes résultants comportent une série de spots sous UV à 254 nm.

- L'analyse des CCM de l'extrait CHCl_3 et MeOH prouve leur richesse en stéroles connus par leurs taches violette avec les acides gras d'une part et en coumarines.
- La chromatographie des deux extraits montre bien la présence des graisses caractérisés par leur révélation en couleur orange.
- La chromatographie de l'extrait MeOH révèle la présence des composés polaires de types flavonoïdes glycosylés, flavones (violet), l'acide phénol (bleu), anthocyanidin (rouge), les glycosides (rose), isoflavones (blanc) détectés par l'apparition des taches visibles au UV et se révèlent par les acides (Acétique/sulfurique).



Figure IV.1: photo de chromatographie résultant de l'analyse de l'extrait MeOH avec révélation à l'UV.

- La chromatographie sur couche mince d'huile essentielle a donné une bonne séparation des molécules dans le système (Ether de pétrole /Acétate d'éthyle)
- Dans la plaque CCM du système (Ether de pétrole /Acétate d'éthyle), on observe cinq spots pour l'huile essentielle extraite par l'hydrodistillation.

La richesse de cette plante en métabolites secondaires nous a incités à explorer biologiquement leurs extraits.

IV-4- L'activité biologique

IV-4-1- Activité antibactérienne

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des extraits et de l'huile essentielle d'*Artemisia vulgaris* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton).

L'activité antibactérienne de nos extraits et de l'huile essentielle est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis de germes (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Acenitobacter boumanii*, *Enterobacter ssp*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Les résultats obtenus sont rassemblés auparavant dans les tableaux III.3 et III.4.

- Selon les résultats mentionnés dans le tableau III.3, nous n'avons détecté aucune résistance et aucune zone d'inhibition au niveau de l'extrait chloroformique contre toutes les souches

microbiennes. Par contre, l'extrait méthanolique d'*Artemisia vulgaris*, inhibe fortement la croissance de tous les types de bactéries *Escherichia coli* (15 mm). Les mêmes résultats développent des zones d'inhibition (sensible) contre *Staphylococcus aureus* (11 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (12 mm), *Acenitobacter boumanii* (10 mm), *Enterobacter* (14 mm). En ce qui concerne l'huile essentielle, les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *P. Aeruginosa* a été extrêmes sensible (30 mm) que *E. Coli* (13 mm) et (9 mm) pour *S. Aureus*. Ces résultats montrent ainsi que l'activité antibactérienne varie d'un extrait à un autre et d'un germe à l'autre.

CONCLUSION

GENERALE

Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et est devenue aussi importante que la chimiothérapie.

Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et, d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce et sans effets secondaires.

La présente étude a porté sur l'espèce *Artemisia vulgaris*. Elle a permis de mettre en évidence à travers un screening phytochimique la présence plusieurs familles chimiques telles que: stérols, flavonoïdes, tanins, saponosides, huile essentielle, sucres réducteurs, coumarines.

Les analyses effectuées par la chromatographie sur couche mince ont montré, sous UV, la présence d'une multitude de variété de composés phénoliques.

L'activité antimicrobienne a été réalisée sur les deux extraits chloroformique et méthanolique de la plante et déterminée sur cinq souches bactériennes, selon la méthode de diffusion disque. Les résultats indiquent que l'extrait chloroformique ne possède aucune activité antimicrobienne sur toutes les souches testées. En revanche l'extrait méthanolique a manifesté une bonne activité vis-à-vis toutes les souches et particulièrement *E. coli*. D'autre part l'extraction de l'huile essentielle a été réalisé par hydrodistillation. Le rendement obtenu est 0.8 %. Ce rendement est conforme avec les normes international (0,5-2%), cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et la situation géographique.

L'analyse effectué par la chromatographie sur couche mince à montré l'existence de cinq composés chimiques majoritaires qui constituée l'H. E d'*Artemisia vulgaris*, l'huile essentielle a manifesté un pouvoir antibactérien contre *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus*.

Au cours de cette étude nous avons conclu que L'espèce *Artemisia vulgaris* est riche en flavonoïdes et des huiles essentielles, sachant que notre pays possède une biodiversité immense ; dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important des métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières.

Conclusion générale

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activité antimicrobienne des extraits de cette plante.

Résumé

Dans le cadre de la recherche phytochimique et biologique des plantes naturels, notre étude a été effectuée sur une plante médicinale de l'est d'Algérie, *Artemisia vulgaris* appartenant à la famille des Astéraceae. Cela dans le but de réaliser une étude chimique et biologique. Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant deux solvants: chloroforme et méthanol. Les rendements respectifs sont: 34 %, 10 %.

Le screening phytochimique sur la plante a montré que cette plante contient: des flavonoïdes, des tanins, coumarines, des composés réducteurs, aussi stérols et des huiles essentielles. Ces résultats ont été confirmés par des chromatogrammes réalisés sur les différents extraits obtenus. L'extraction d'huile essentielle d'*Artemisia vulgaris* à été effectuée par hydrodistillation; le rendement obtenu de la plante est 0,8 %. L'analyse par chromatographie planaire CCM a révélé la présence de cinq composés majoritaire.

L'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé a été réalisée sur cinq souches bactériennes; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Acinetobacter boumanii*, *Enterobacter ssp.* L'extrait chloroformique ne possède aucune activité antimicrobienne sur toutes les souches testées; en revanche l'extrait méthanolique a montré une bonne activité sur toutes les bactéries étudiées mais avec des degrés différents. D'autre part l'huile essentielle d'*Artemisia* présente une très bonne activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* par sa zone d'inhibition (30 mm).

Au bout de cette étude, nous retiendrons que l'extrait méthanolique d'*Artemisia vulgaris* exerce un effet antibactérien. Donc, cette plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antibactériennes.

Mots clés : Asteraceae, *Artemisia vulgaris*, screening phytochimique, huile essentielle, CCM, activité antibactérienne.

ملخص

في إطار الدراسات المتعلقة في البحث عن المواد العلاجية الطبيعية, قمنا بالتطرق في هذا العمل إلى دراسة نبتة من الشرق الجزائري *Artemisia vulgaris* "الشيخ البري", التي تنتمي إلى عائلة Asteraceae. وذلك بغية تحقيق فحص كيميائي وفحص النشاطية المضادة للبكتيريا.

تم الحصول على المستخلصات العضوية للنبتة بواسطة النقع وذلك باستعمال مذيبين عضويين: الكلوروفورم, الميثانول, فكان المردود: 34%, 10% على الترتيب.

الفحص الكيميائي على النبتة بين احتوائها على مختلف العائلات الكيميائية, وهذا ما أكدته الكروماتوغرافيا لمختلف مستخلصاتها. تم استخراج الزيت الأساسي لنبتة الشيخ بواسطة تقنية التقطير وذلك بمردود 0.8%. كشف تحليل الكروماتوغرافيا عن وجود خمس مركبات أساسية, أيضا بينت الدراسة البيولوجية التي أجريت على خمس سلالات بكتيرية, إن مستخلص الكلوروفورم غير فعال على كل السلالات, أما مستخلص الميثانول فله نشاط ضد كل السلالات البكتيرية وذلك بنسب مختلفة. من جهة أخرى بين أن الزيت الأساسي فعاليته ضد كل السلالات وخاصة *Pseudomonas aeruginosa* بقطر 30مم.

وفي الأخير بعد هذه الدراسة التجريبية لنبتة الشيخ, استنتجنا أن المستخلص الميثانولي لهاته النبتة لديه فعالية كبيرة مضادة للبكتيريا, تمكنها من أن تكون مصدر واعد وجديد لمستقلبات مضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia vulgaris*, Asteraceae, الفحص الكيميائي, الزيت الأساسي, كروماتوغرافيا, النشاطية المضادة للبكتيريا.

Abstract

In the framework of the studies relating to the research for natural therapeutic product. The present study was undertaken on the medicinal plant in the east of Algeria "*Artemisia vulgaris*" belonging to the Asteraceae family; with the aim of evaluating phytochemical screening and antibacterial activity.

Organic extracts were obtained by maceration with three solvents: chloroform and methanol, the yields were: 34%, 10% respectively.

The phytochemical screening of the plant showed that this plant contains: flavonoids, tannins, coumarins, reducing compound, sterols and essentials oils. This results confirmed by TLC analysis.

The extraction of essential oil of "*Artemisia vulgaris*" was performed by hydrodistillation yield obtained from the leaves is 0.8%. TLC analysis revealed the presence of five compounds prevails.

Antimicrobial activity was determined using five bacterial strains according to the disk diffusion assay. For the CHCl_3 extract hasn't any action against all bacterial strains. The study showed that the MeOH act differently on the bacterial species tested. The essential oil of "*Artemisia vulgaris*" exhibits antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* by its inhibition zone (30mm).

After this study, we conclude that the methanolic extract of "*Artemisia vulgaris*" exert antibacterial effect, so this plant may be a promising new source of antibacterial substance.

Key words: Asteraceae, "*Artemisia vulgaris*", phytochemical screening, essential oil, TLC, antimicrobial activity.

Références bibliographiques

[1] Baara H., Nessah R., 2016, étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Thapsia garganica*, mémoire de master en biologie, université abbès laghrour, Khenchela, 1.

[2] Benayad N., 2013, évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse, thèse de doctorat en chimie, université Mohammed v agdal- Rabat, Maroc, 15-23.

[3] Boudjouref M., 2011, étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L, mémoire de magister en biochimie, université ferhat abbes, Sétif, 17.

[4] Benayache F., 2013, étude phytochimique et biologique de l'espèce *thymus numidicus* poiret, mémoire de magister en chimie, université Constantine 1, 3.

[5] Mohammedi Z., 2013, étude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie, thèse de doctorat en biologie, université abou bekr belkaid Tlemcen, 22.

[6] Messai L., 2011, étude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia Herba Alba*), thèse de doctorat en chimie organique, université mentouri Constantine, 21.

[7] Dr.Djahra. , cours phytochimique II 2^{ème} année master, université echahid hamma lakhdar El oued, 23-26-31-32-33.

[8] J. Bruneton, pharmacognocie, phytochimie plantes médicinales, 3^{ème} édition, 1991.

[9] Bouhennicha I., 2015, screening phytochimique et activité biologique de quelques plantes médicinales, mémoire de master en chimie, université Med khider Biskra 18-30-32.

[10] Badereddine M.; Moussaoui H., 2014, étude phytochimique comparative des extraits de feuilles de *phoenix dactylifera* L, obtenue par différents méthodes, mémoire de master en génie des procédés, université d'El-oued.

[11] Hamidi A/R., 2013, étude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*, mémoire de magister en chimie organique, université kasdi merbah Ouargla, 19-22-23.

Références bibliographiques

- [12] Kheffach A., 2015, la cytotoxicité de certaines huiles essentielles chez les lapins, mémoire de master en biologie, université hamma lakhdar d'Eloued, 16-17.
- [13] Ghenimi W., 2015, étude phytochimique des extraits de deux euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*, évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase, thèse de doctorat en chimie/biologie, université de lorraine (France) et université de carthage (Tunisie), 28.
- [14] K.Donatien., 2009, enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante, mémoire de doctorat en chimie organique, université paul verlaine de metz-upv-m (France), 48.
- [15] Ferrari J., 2002, contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud, ex A. Rich, thèse de doctorat en pharmacie, université de Lausanne, 35.
- [16] Chakou F.Z., Medjoudja K., 2014, à l'étude de bibliographie de la phytochimie de quelques plantes du genre *Nitraria* de la famille *Zygophyllaceae*, mémoire de licence en biologie, université kasdi merbah, Ouargla, 7.
- [17] Aref M.,Heded M., 2015, contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (région d'oued souf), mémoire de master en biologie, université hamma lakhdar d'El-oued, 11.
- [18] Boutine Dj., 2011, évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne d'une plante endémique algérienne *Ampelodesma mauritanica*, mémoire de magister en chimie, université badji mokhtar –Annaba, 23-24.
- [19] Bouras F. Z., Houchi A/salem., 2013, étude de l'activité antioxydante de la plante *Rumex Vesicarius* L, mémoire de master en génie des procédés, université kasdi merbah – Ouargla, 11.
- [20] Kholkhal F., 2014, étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*, thèse de doctorat en biologie, université abou bekr belkaid –Tlemcen, 51.
- [21] 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 en chimie, université d'Oran, 16.
- [22] Moulay Y., 2012. investigation phytochimique de l'*Acacia arabica* aux propriétés antioxydantes et inhibitrices, mémoire magister en chimie, université kasdi merbah Ouargla,

Références bibliographiques

49.

[23] Mekkiou R., 2005, recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'espèces du genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*, mémoire de doctorat en chimie, université mentouri Constantine, 30.

[24] Attou A., 2011, contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'ain Témouchent, mémoire de magister en biologie, université abou bekr belkaid Tlemcen, 14.

[25] Yezza S., Bouchama S., 2014, index des métabolites secondaires végétaux, mémoire de licence en biologie, université kasdi merbah-Ouargla, 23-45.

[26] Telili Med L., 2015, contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional), mémoire de magister en biologie, université kasdi merbah Ouargla, 8.

[27] Nouioua W., 2012, biodiversité et ressources phytogénétiques d'un écosystème forestier « *paeonia mascula* (L.) mill. », mémoire de magister en biologie, université ferhat abbès – Setif, 33.

[28] Support de cours sur le métabolisme secondaire d'antoine gravot (équipe pédagogique physiologie végétale, umr 118 apbv), université de rennes 1 – L2 ue phr, année universitaire 2008/2009.

[29] Harkati B., 2011, valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Astereaceae: *Scorzonera Undulata*, mémoire de doctorat en chimie, université mentouri Constantine, 14.

[30] Prévost Bi Kouame F., 2011, valorisation de quatre plantes médicinales ivoiriennes : étude phytochimique, thèse de doctorat en chimie, université de Nantes, 35.

[31] Bayala B., 2014. étude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du burkina faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, thèse de doctorat en biologie, université de Blaise Pascal 4.

[32] Abbas A., 2014, évaluation de l'activité antioxydante, huiles essentielles d'*ammoides verticillata* « NOUKHA » de la région de Tlemcen, mémoire de master en agronomie et des forêts, université abou bekr belkaid Tlemcen, 10.

[33] Ouis N., 2015, étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil, et de persil, thèse de doctorat, université d'Oran, 17-18.

[34]:<http://www.memoireonline.com/01/16/9403/étude-phytochimique-et-activite>

Références bibliographiques

[biologiques-des-extraits-et-des-huiles-essentielles-de-foeniculum.html](#).

[35] Younes K., 2015, contribution de l'étude chimique et biologique des deux plantes médicinales de la région ouest d'Algérie: *Artemisia arborscience* L et *Cardaria draba* (L.) Desv, thèse de doctorat en chimie, université abou bekr Belkaid, 37.

[36] Ozenda, P., 1991. flore et végétation du sahara, 3ème édition, ed. cnrs, paris, France.

[37] Raven, P. H., evert, r. f., eichhorn, s. e., 2000, biologie végétale, bruxelles, book university.

[38] Baldwin, B. G., Wessa, B. I., Panero, j. l., 2002, nuclear dna évidence for major lineages of helenioid heliantheae (compositae), systematic botany 27, 161–198.

[39] Declerck laurent l3 sve, faculté libre des sciences et technologies.

[40] EGK-Caisse de santé connaissance des herbes, série de brigitte speck, ursula & christian fotsch.

[41] Belfadel A., 2013, étude phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale « *Ruta mortana* », mémoire de master en microbiologie, université abbès laghrour khenchela, 1.

[42] Upton A., 2006, les produits antimicrobiens à domicile, le problème de l'antibiorésistance, enoncé de la SCP, 11(3) : 177-181.

[43] : <http://Fr.wikipedia.org/wikienterobacter>.