

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE ABBAS LAGHROUR -KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie appliquée

THÈME

**Etude phytochimique et activité biologique de
la plante médicinale : *Artemisia campestris L***

Présenté par:

M^{me} .MEZIANI KARIMA

Soutenu le : 21 JUIN 2018

M^{elle} .BOUSSAÂDA LOUBNA

Devant le jury :

Président : M. MAAMAR HICHEM M.C.B Univ. Abbès Laghrou-Khenchela

Promotrice : M^{me} .ARAB YASMINE M.A.A Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Examinatrice : M^{elle} .BOUTARFA SOUMIA M.A.A Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Promotion 2017/2018

Laboratoire où le travail a été réalisé: laboratoire de l'université Abbès Laghrou
-Khenchela-

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE ABBAS LAGHROUR -KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie appliquée

THÈME

**Etude phytochimique et activité biologique de
la plante médicinale : *Artemisia campestris L***

Présenté par:

M^{me} .MEZIANI KARIMA

Soutenu le : 21 JUIN 2018

M^{elle} .BOUSSAÂDA LOUBNA

Devant le jury :

Président : M. MAAMAR HICHEM M.C.B Univ. Abbés Laghrour-Khenchela
Promotrice : M^{me} .ARAB YASMINE M.A.A Univ. Abbés Laghrour -Khenchela
Examinatrice : M^{elle} .BOUTARFA SOUMIA M.A.A Univ. Abbès Laghrour -Khenchela

Promotion 2017/2018

Laboratoire où le travail a été réalisé: laboratoire de l'université Abbes Laghrour
-Khenchela-

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous tenons à remercier DIEU le tout puissant et miséricordieux, qui nous à donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

الله
إنهاء هذا
خطأ
إلتمامه
به منه
سهو
اللهم
لهما
اذهبا
اليكما
لهما

*Nos vifs remerciements s'adressent à **Dr. MAAMAR HICHAM**, maitre assistant à l'université Abbes Laghrour-Khenchela, un grand honneur d'être présidente du jury de soutenance, et exprimer notre gratitude d'avoir apporté attention particulière à ce travail.*

*Un grand merci à **M^{lle} BOUTARFA SOUMIA**, maitre de conférences à l'université Abbes Laghrour-Khenchela, qu'il trouve ici l'expression de profonde reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tous en vous témoignant notre respect. Pour leur gentillesse avant tout ... ♥*

*Nous tenons à remercier vivement **M^{me}. ARAB YASMINE** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec la plus grande rigueur scientifique, sa compréhension, son aide et sa très gentillesse durant tout au long de notre mémoire sa compétence et la qualité de ses conseils. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

*Nous adressons notre profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'institut de Biologie à l'université de Khenchela surtout les ingénieurs **BOURAKBA SOUAD, MIZAN SARA, MAJDA, BEN YAZA RIM***

Pour l'aide qu'elles nous ont donnée et les efforts déployés pour faciliter notre travail.

♥ *Merci* ♥

À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.

DÉDICAS

C'est avec mon énorme plaisir, un cœur ouvert et une joie immense, que je dédie ce modeste travail tout d'abord

À mes chers parents pour leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

À très chère ma sœur « LOUBNA »

À mes très chère frère « ABDERRAHIM, SAMI, YUCEF, ABDERRAZAK et TADJEDDIN » pour leur soutient et leur amour ♥

À toute ma grande famille "MEZIANI" ♥

À celui que j'aime beaucoup et qui m'à soutenue tout au long de ce projet, Mon fiancé : TAKI EDDIN

À mon promotrice, Mme ARAB YASMINE, pour son aide jusqu' au dernier moment à fin de préparer ce mémoire.

À mon binôme LOUBNA et mes amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis

Merci ♥

♥ KARIMA ♥

Dédicaces

*A l'aide de dieu, "Allah" tout puissant
Qui m'a tracé le chemin de ma vie,
J'ai pu réaliser ce travail.*

*Que Je dédie : A mes chers parents, ma mère **Hadda** et mon père
Arbi pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes
études.*

*A ma chère sœur : **KARIMA** ♥*

*A mes chers frères : **ABDLMAJID**, **DJAMEL**, **RAMZI**
et **ABDERRAOUF** pour leur soutien et leur amour ♥*

*Le grand respect et les plus belles sentiments à mon cher oncle:
Rachid*

*A mes chers cousins : **SAID**, **MOHSEN**, **TAYEB**, **ZOUHIR** et
mon petit cher : **MOATAZ BILLAH***

*A mes chères tantes: **TAFANA**, **BAHRIYA** et **DJAMILA***

*A toute la famille **BOUSSAADA** et **SAFI** ♥*

*A ma chère binôme : **KARIMA** ♥*

*A mes chères copines : **HAYETI**, **HAFIDHA**, **AHLAM***

*A mes chères amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au
cours de mon cursus à l'université*

*A tous mes amis de la promotion de master en
Bioclimie appliquée*

***LOUBNA** ♥*

Résumés

Résumé

Artemisia campestris est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracée*, cette espèce connue sous le nom de « Tgouft », est très répandue dans le sud algérien. L'extraction aqueuse des parties aériennes de cette plante par macération permet à l'obtention d'un rendement égal à 20,731 %.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par les réactifs du Folin-Ciocalciu et trichlorure d'aluminium respectivement. La teneur en polyphénols et en flavonoïdes est de $75,636 \pm 0,244$ µg EAG/mg d'extrait aqueux, $10,25 \pm 0,033$ µg EQ/mg d'extrait aqueux respectivement.

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

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH est efficacement inhibée par l'extrait aqueux IC₅₀ égale à $(2,208 \pm 0,192$ mg/ml) comparable à celle du contrôle positif : acide ascorbique $(1,130 \pm 0,117$ mg/ml).

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par l'extrait aqueux sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Listéria monocytogène* ATCC 11778 est de 2 mg/ml. L'extrait aqueux a un effet sur les bactéries testées sauf sur *E.colie* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893.

Mots clés : Activité antibactérienne, Activité antioxydante, *Artemisia campestris*, Extrait aqueux, Flavonoïdes, Polyphénols.

Abstract

Artemisia campestris is a medicinal plant belonging to the family *Asteraceae*, this species known under the name "Tgouft", is widespread in southern Algeria. The aqueous extraction of the aerial parts of this plant by maceration makes it possible to obtain a yield equal to 20.731%.

Quantitative analysis of total polyphenols and flavonoids by the Folin-Ciocalciu reagents and aluminum trichloride respectively. The content of polyphenols and flavonoids is $(75.636 \pm 0.244 \mu\text{g EAG} / \text{mg})$ aqueous extract, $(10.25 \pm 0.033 \mu\text{g EQ} / \text{mg})$ aqueous extract respectively.

Thus, the qualitative study by TLC of aqueous extract has revealed a remarkable diversity of flavonoid compounds capable of expressing the desired activity.

The antioxidant activity was evaluated using the free radical reduction method DPPH is effectively inhibited by the aqueous extract IC₅₀ equal to $(2.208 \pm 0.192 \text{ mg} / \text{ml})$ comparable to that of the positive control: ascorbic acid $(1.130 \pm 0.117 \text{ mg/ml})$.

The antimicrobial activity was determined on four bacterial strains, according to the disk diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the aqueous extract of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Listeria monocytogenes* ATCC 11778 is 2 mg/ml. The aqueous extract has an effect on the bacteria tested except on *E. coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893.

Key words : Antibacterial activity, Antioxidant activity, Aqueous extract, *Artemisia campestris*, Flavonoids, Polyphenols.

يعرف نبات *campestris Artemisia* بأنه نبتة طبية تنتمي إلى عائلة *Asteraceae*، تنتشر هذه النبتة "Tgouft".

الهوائية من هذا النبات بواسطة النقع للحصول على عائد من هذا المستخلص هو (20.731).

التحليل الكمي من البوليفينول الكلي و فلافونيدات بواسطة الكواشف فولين - سيوكاليو كلوريد الألومنيوم غانك / يغ . البوليفينول ($0,244 \pm 75.636$ ميكروغرام ما يكافئ حمض غاليك /) وبالنسبة للفلافونويد ، يكون الم ($0,033 \pm 10.25$ ميكروغرام ما يكافئ الكرستين /).

في حين ، كشفت الدراسة النوعية بواسطة الكروماتوغرافيا لا مركبات الفلافونويد القادرة على التعبير عن النشاط .

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الحد من الجذور DPPH يتم تثبيطه بشكل فعال عن طريق مستخلص IC50 (0.192 ± 2.208 /) الإيجابي: حمض الأسكوربيك (0.117 ± 1.130 /).

تحديد للميكروبات بكتيرية لطريقة تركيز (MIC) *Listeria Staphylococcus aureus* ATCC 25923 له تأثير البكتيريا *monocytogen* ATCC 11778 هو 2 / . *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893 *E. coli* ATCC 25922 فيما

المفتاحية : *campestris Artemisia* مائة بوليفينول فلافونيدات للبكتيريا.

Liste des abréviations

- # $^1\text{O}_2$: Oxygène singulet
- # *A. campestris*: *Artemisia campestris*
- # AlCl_3 : trichlorure d'aluminium
- # **ATB**: Antibiotique
- # **ATCC**: American type culture collection
- # **CCM**: Chromatographie sur couche mince
- # CHCl_3 : Chloroforme
- # **DMSO**: Diméthylsulfoxyde
- # **DPPH**: Diphénylpicryl-hydrazyl.
- # **EQ** : Extrait aqueux
- # FeCl_3 : Trichlorure de fer
- # H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.
- # H_2SO_4 : Acide Sulfurique.
- # **HCl** : Acide chlorhydrique.
- # Na_2CO_3 : Carbonate de sodium
- # **NaCl** : chlorure de sodium
- # **NADP** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
- # NH_4OH : Ammoniaque
- # $\text{NO}\cdot$: monoxyde d'azote ou oxyde nitrique
- # $\text{O}_2\cdot^-$: anion superoxyde
- # O_3 : Ozone
- # $\text{OH}\cdot$: Radical hydroxyle
- # $\text{ONOO}\cdot$: Peroxynitrite
- # **ONOOH** : Nitroperoxyde
- # **OX**: Oxacilline
- # **ROOH**: Hydroperoxydes
- # **UFC** : Unité Formant Colonie
- # $\mu\text{g EAG/mg}$: Microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait
- # $\mu\text{g EQ/mg}$: Microgramme Equivalent Quercétine par milligramme

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
N°01	Répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i> dans le monde	05
N°02	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	12
N°03	Squelette de base des coumarines	14
N°04	Structures de l'acide gallique et d'un tannin gallique	14
N°05	Structures chimiques de base des flavan-3-ols et des tanins condensés	15
N°06	Nomenclature et numérotation des atomes dans un composé de type flavonoïde	16
N°07	Classification des flavonoïdes	17
N°08	structure de base de l'isoprène	19
N°09	structure de l'isoprène	19
N°10	La rupture d'équilibre à l'origine du stress oxydant	22
N°11	Radicaux libres : métabolites dérivés de l'oxygène	23

N°12	Les principales sources des ERO	26
N°13	Elimination du H ₂ O ₂ par les réactions enzymatiques combinées de la GPX et la GR	28
N°14	Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux	31
N°15	schéma d'une microplaque	41
N°16	Photo de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait aqueux d'A. Campestris par chromatographie sur gel de silice par le système solvant : Acéton/eau (révélation à l'UV), $\lambda = 365\text{nm}$	46
N°17	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols (moyenne \pm SD de trois essais).	47
N°18	Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois essais).	47
N°19	Deux courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des concentrations d'EQ et l'acide ascorbique.	49

Liste des photographies

N° de photo	Titre	N° de page
N°01	<i>Artemisia campestris</i>	03
N°02	Vue générale de la plante d' <i>Artemisia campestris</i> prise à partir du site d'étude	30
N°03	Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez l' <i>E.Coli</i> ATCC25922 ,pour les trois essais.	50
N°04	Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez <i>Pseudomonace eurogenoca</i> ATCC27893, pour les trois essais.	50
N°05	Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez <i>Listéria Monocytogène</i> ATCC11778, pour les trois essais.	51
N°06	Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez <i>Staphélococcus aureus</i> ATCC25923, pour les trois essais.	51
N°07	Représente la zone d'inhibition d'antibiotique (oflx à gauche et péni à droite) autour du disque chez <i>Listéria Monocytogène</i> ATCC11778, pour les trois essais.	51

Liste des photographies

N°08	Représente la zone d'inhibition d'antibiotique (oflx à gauche et péni à droite) autour du disque chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27893, pour les trois essais.	52
N°09	Représente la préparation de CMI de <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 11778.	54

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	N° de page
N°01	Classification botanique d' <i>Artemisia campestris</i> L. dans la systématique	04
N°02	Classification des composés phénoliques	13
N°03	Quelques exemples des différents types de terpenoïdes	21
N°04	Caractéristiques des espèces utilisées	39
N°05	Le rendement d'extrait aqueux (EQ) d' <i>Artemisia campestris</i>	42
N°06	Rapports frontaux(Rfs) des spots issus de la séparation de l'extrait Aqueux dans le système : Acéton/H ₂ O (1 : 1)	45
N°07	Teneur en Flavonoïde d'extrait d' <i>Artemisia campestris</i> L	47
N°08	représente la valeur d'IC50 d'extrait et l'acide ascorbique	49
N°09	Diamètres des zones d'inhibition d'extrait aqueux de la partie aérienne d' <i>Artemisia campestris</i> vis-à-vis les bactéries testé	52
N°10	La sensibilité d'extrait classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition	53

N°11	Représente les résultats le la lecteur de la microplaque du : EQ, Ab (Péni et Oflox).	54
N°12	Concentrations minimales inhibitrices (CMI exprimée en mg/ml) de l'extrait aqueux (dont les diamètres des zones d'inhibitions sont 20mm) relatives aux bactéries testées.	55

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumés I

Liste des abréviations..... IV

Liste des figures..... V

Liste des photographies..... VII

Liste des tableaux..... IX

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I. la plante médicinale sélectionnée

I. Artemisia campestris L...... 3

I.1. Généralités..... 3

I.2. Présentation et Description botanique..... 3

I.3. Dénomination..... 4

I.4. Systématique de la plante..... 4

I.5. Répartition géographique..... 5

I.6. Composition Chimique..... 5

I.7. Utilisations en médecine traditionnelle..... 6

I.8. Activités biologiques..... 7

I.8.1. Activité antioxydante..... 7

I.8.2. Activité antibactérienne et antiviral.....	7
I.8.3. Effet insecticide.....	8
I.8.4. Propriétés allélopathique.....	8
I.8.5. Effet hypoglycémiant.....	9
I.8.6. Effet antipoison.....	9
I.9. Toxicités de la plante.....	9

Chapitre II. Les métabolites secondaires

I. Métabolites secondaires.....	10
I.1. Généralités.....	10
I.1. Les Composés phénoliques.....	10
I.1.1. Définition.....	10
I.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	11
A / La voie de shikimate.....	11
B / La voie de phénylpropanoïde.....	11
C/ Voie de l'acétate.....	11
D/ La voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	11
I.1.3. Classification des composés phénoliques.....	13
A-Les non-flavonoïdes.....	13
a. Les acides phénoliques.....	13
b. Les stilbènes hydroxylés.....	15
c. Les lignanes, lignines et subérines.....	15
B- Les flavonoïdes.....	15
B.1. Structure des flavonoïdes.....	15

B.2. Classification des flavonoïdes.....	16
I.1.4. Activités et intérêts pharmacologiques des composés phénoliques.....	17
I.2. Les alcaloïdes.....	17
I.2.1. Généralités.....	17
I.2.2. Intérêts des alcaloïdes.....	17
I.3. Les Terpénoïdes.....	18
I.3.1. Définition.....	18
I.3.2. Structure des terpenoïdes.....	18
I.3.3. Classification des terpenoïdes.....	19
I.3.4. L'intérêt des triterpènes.....	20

Chapitre III. Activité biologique

I. Activité antioxydante.....	21
I.1. Stress oxydatif et les antioxydants	21
I.1.1. Généralité.....	21
I.1.2. Définition du stress oxydatif	21
I.1.3. Les radicaux libres	22
I.1.4. Différentes formes des radicaux libres	22
I.1.5. Radicaux libres oxygénés (ROS).....	23
I.1.6. La formation des ERO	23
I.1.7. Radicaux libres azotés (RNS).....	25
I.1.8. Les sources des ERO	26
I.1.9. Le rôle physiologique des ERO.....	26

I.1.10. Le système de protection antioxydants.....	26
1. Les Antioxydants endogens.....	27
1.1. Antioxydants enzymatiques.....	27
1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	28
II. Activité antibactérienne.....	29
II.1. Généralités.....	29
II.2. L'aromatogramme.....	29

Partie expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes	30
I.1. Matériel biologique.....	30
I.1.1. Matériel végétal.....	30
I.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	31
II. Méthodes.....	31
II.1. Préparation de l'extrait aqueux	31
II.2. Détermination du rendement d'extraction	32
II.3. Analyse qualitative de l'extrait aqueux des feuilles de <i>l'Artemisia campestris</i>	32
II.3.1. Screening phytochimique.....	32
II.3.2. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM).....	34
II.3.2.1. Dépôt de l'échantillon.....	35
II.3.2.2. Phase mobile.....	35

II.3.2.3. Développement des plaques.....	35
II.3.2.4. Expression des résultats.....	35
II.4. Etude quantitative.....	36
II.4.1. Dosage des polyphénols.....	36
II.4.1.2. Principe.....	36
II.4.1.3. Réalisation de l'essai.....	36
II.4.1.4. Expression des résultats.....	36
II.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	37
II.4.2.1. Réalisation de l'essai.....	37
II.4.2.2. Expression des résultats.....	37
II.5. Evaluation in vitro de l'activité antioxydant.....	37
II.5.1. Test scavenger du radical libre DPPH.....	37
II.5.2. Principe.....	38
II.5.3. Méthode.....	38
II.5.4. L'expression des résultats.....	38
I.1.2. Matériel bactérienne	39
I.1.3. Méthode.....	39
I.1.3.1. Préparation de solution.....	39
I.1.4. Détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).....	40
I.1.5. Etude statistique.....	41

Chapitre II. Résultats et Discussion

I. Résultats et discussion.....	42
I.1. Détermination du rendement d'extraction.....	42
I.2. Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques.....	42
I.3. Etude qualitative de la chromatographie sur couche mince par CCM.....	45
I.3.1. Composés identifiés dans l'extrait aqueux.....	45
I.3.2. Composés identifiés dans l'extrait aqueux.....	46
I.4. Résultats de l'étude quantitative.....	46
I.5. Activité antioxydant	48
I.5.1 Evaluation de l'IC 50.....	49
I.6. L'activité antibactérienne.....	50
I.6.1. Evaluation des activités antibactérienne.....	50
I.6.2. Résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de microdilution.....	54
I.6.3 Détermination de la CMI.....	56
Conclusion et perspective.....	58
Références bibliographiques.....	60
Annexe	

Synthèse
Bibliographique

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (**Tabuti et al., 2003**).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

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

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, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia campestris*. Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. a constitué le sujet de plusieurs études qui font déterminé leurs compositions chimiques (**De Pascual et al., 1984 ; Rauter et al., 1989 ; Joao et al., 1998 ; Akrouit et al., 2001**), ainsi que les propriétés biologiques (**Memmi et al., 2007; Sefi et al., 2010 ; Akrouit et al., 2011**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les activités antioxydantes et antibactériennes d'extraits aqueux d'*A. Campestris*.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressé à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles; initié par une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre expose la plante médicinale choisie «*Artemisia campestris*» et élucide sa

composition en principes actifs et leurs activités biologiques. Le deuxième chapitre montre les métabolites secondaires et leur intérêt et le dernier chapitre montre leurs activités biologiques (l'activité antioxydante et antibactérienne).

La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, le premier comporte les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir :

- La préparation de l'extrait aqueux de la plante *Artemisia campestris*.

- La détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes). L'évaluation de pouvoir antioxydant et de pouvoir antibactérienne d'extrait aqueux de la plante.

- Dans le deuxième chapitre, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude des activités biologiques de l'extrait aqueux d' *Artemisia campestris*.

Chapitre I

La plante médicinale

sélectionnée

I. *Artemisia campestris* L

I.1. Généralités

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des *Astéracées* : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli et Maffei, 2002).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tel que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (Kundan et Anupam, 2010).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Mirjalili et al., 2007).

Le genre *Artemisia*, disposé autour du monde, pousse sauvagement dans l'hémisphère nord, onze espèces ont été recensées dans la flore de l'Algérie.

Artemisia campestris, est connu sous l'appellation « **dgouft** », poussant dans la steppe et le désert (Bakchiche et al., 2013). Les populations du Sud l'utilisent pour calmer les troubles digestifs, les maux abdominaux ainsi que les nausées. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures (Temani, 2005).

I.2. Présentation et Description botanique

Artemisia campestris L. c'est une plante vivace, arbrisseau de 40 à 80 cm de haut, à tige dressées, rougeâtres, ligneuses à la base. Feuilles glabres d'un vert foncé, divisée et très étroites. Fleurs capitules très petites, coniques, vert jaunâtre (Chehma, 2006).



Photo n° 01 : *Artemisia campestris*

I.3. Dénomination (Ozanda, 1977)

- ✓ **Noms français :** -*Armoise champêtre*
-*Armoise des champs*
-*Armoise rouge*
- ✓ **Noms anglais :** -*Field sagenort*
-*Field southernwood*
-*Sagewort*
-*Sowhernwood*
-*Womwood*
- ✓ **Nom arabe :** -*Dgoufte*

I.4. Systématique de la plante

Le tableau N°1 représente la classification botanique de la plante utilisée dans ce travail « d'*Artemisia campestris* L. ».

Tableau n°1 : Classification botanique d'*Artemisia campestris* L. dans la systématique (Caratini, 1971 ; Botineau, 2010 ; Dupont et Guignard, 2012).

Classification	<i>Artemisia Campestris</i> L.
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous- classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia campestris</i> L.

I.5. Répartition géographique

L'espèce *Artemisia campestris* est distribuée dans l'hémisphère nord, en particulier sur la côte méditerranéenne de l'Europe, sud-ouest de l'Asie et de l'Afrique (Floss, 1997).

Dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et L'Amérique du sud (Kyeong, 2007).



Figure n° 01 : Répartition géographique d'*Artemisia campestris* dans le monde (Tela Botanica., 2016). <http://www.tela-botanica.org/isfan-nn-27322-repartition>.

I.6. Composition Chimique

L'utilisation des solvants à polarité différente, suivie par des étapes de fractionnement et l'emploi de différentes techniques de chromatographie, permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de plantes. Les études chimiques des espèces du genre *Artemisia*, indiquent que les classes des composés qui sont présents sont en particulier : les terpénoïdes et les flavonoïdes. La riche accumulation des terpénoïdes et des flavonoïdes dans les huiles essentielles de ce genre, est responsable de leur utilisation pour aromatiser les aliments et les liqueurs (Baykan Erel et al., 2010).

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, les huiles essentielles (Juao et al., 1998, Juteau et al., 2002). Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont : flavones (apégénine), flavonol (kaempférol 7-

méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (Valant et al., 2003).

Les feuilles d'*Artemisia campestris* contiennent aussi des alcaloïdes, des saponines (Naili et al., 2010).

I.7. Utilisations en médecine traditionnelle

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

En usage local *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (Dob et al., 2005). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (Sefi et al., 2010).

En Tunisie, l'espèce est utilisée sous plusieurs formes (infusion, décoction, poudre) pour traiter les maladies gastriques, l'hyperglycémie, la fièvre, et aussi contre les vers intestinaux (Juteau et al., 2003).

En Algérie, la plante est utilisée en décoction comme remède anti-diarrhéique, antispasmodique, et contre l'ulcère gastrique (Akrouit et al., 2011). La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme ; elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi et al., 2007).

Selon Saoudi et al., (2010), la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia campestris* permet de réduire les symptômes digestifs.

I.8. Activités biologiques

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

I.8.1. Activité antioxydante

La partie aérienne d'*Artemisia campestris* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tannins. Ces différents constituants exercent leurs actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999).

Dans une étude faite par **Aniya et al., (2000)**, l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* a été testée par la méthode de DPPH (2diphenyl-1-picrylhydrazyl). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée.

De leur côté **Akrout et al., (2011)**, ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en utilisant trois méthodes différentes : la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique acid). Ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison à celle de l'huile essentielle.

I.8.2. Activité antibactérienne et antivirale

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

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

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

Les plantes du genre *Artemisia* contiennent un sesquiterpène lactone appelé Artemisinine. Ce composant constitue le métabolite secondaire le plus important chez toutes les espèces *Artemisia*. Il est considéré comme une drogue antimalariale très efficace contre le parasite qui cause la malaria : le *Plasmodium falciparum* (**Donrop et Day, 2007**).

L'artémisinine possède également plusieurs activités, il est efficace contre les maladies infectieuses telle que l'hépatite B (**Romero et al., 2005**).

I.8.3. Effet insecticide

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

I.8.4. Propriétés allélopathique

Les plantes du genre *Artemisia* possèdent des propriétés allélopathiques par inhibition de la croissance et la germination de certaines plantes de l'entourage. Ces propriétés sont dues probablement à la présence d'acide phénolique et d'autres composants polaires (**Kyeong et al., 2007**).

I.8.5. Effet hypoglycémiant

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

I.8.6. Effet antipoison

Les extraits d'acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et de dichlorométhane, des feuilles d'*Artemisia campestris* ont été testés pour leurs capacités de neutralisation de venin de scorpion et de vipère. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique, inhibe l'activité de dégradation des globules rouges contre le venin du scorpion *Androctonus australis garzonii*. Des résultats similaires ont été obtenus pour l'extrait de dichlorométhane pour la neutralisation de venin de la vipère *Macrovipera lebetina* (**Memmi et al., 2007**).

I.9. Toxicité de la plante

Les toxines sont répartis à travers toute la plante, mais les feuilles et les tiges en contiennent les concentrations les plus élevées, la plante compte 0,04% d'huiles essentielles. Elle est contient 58-65% de α -Pinene et 30% de β -Pinene **Elbahri et al., (1997)**, d'autre résultat obtenu lors du test réalise sur des rats wistars albinos et des souris de laboratoire, malgré d'une dose très élevé « 20ml/kg » aucun mortalité n'a été enregistrée après 23 jours d'administration (**Moussaoui, 2010**).

Chapitre I I

Les métabolites

secondaires

I. Les métabolites secondaires

I.1. Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Amara et Melouk, 2016**).

D'un point de vue appliqué, beaucoup de métabolites secondaires constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales.

Les métabolites secondaires sont dotés d'une grande diversité structurale et dépassent actuellement 5000 identifiées. Ils peuvent être classés dans trois groupes majeurs : les alcaloïdes, les terpènes, et les composés phénoliques (**Tirichine, 2010**).

I .2. Les Composés phénoliques

I.2.1. Définition

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. Sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Chimiquement, ils sont réactifs et donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélateur des métaux pour les O-dihydroxyphénols (catéchol); Enfin, ils sont sensibles à l'oxydation (**Lyasi et al., 2003 ; Amara et Melouk., 2016**).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Lugasi et al., 2003**). Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (**Tapieroh et al., 2002**). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

I.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques**A / La voie de shikimate :**

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Harrar, 2012**).

B / La voie de phénylpropanoïde:

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine (**Harrar, 2012**).

C/ Voie de l'acétate :

La voie de l'acétate conduit (origine de ces poly à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable, menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones (**Bruneton, 1999 ; Naczk et Shahidi, 2004**). De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies (du shikimate et de l'acétate) dans l'élaboration de composés d'origine mixte, comme les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

D/ La voie de biosynthèse des flavonoïdes :

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, l'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (**Harrar, 2012**).

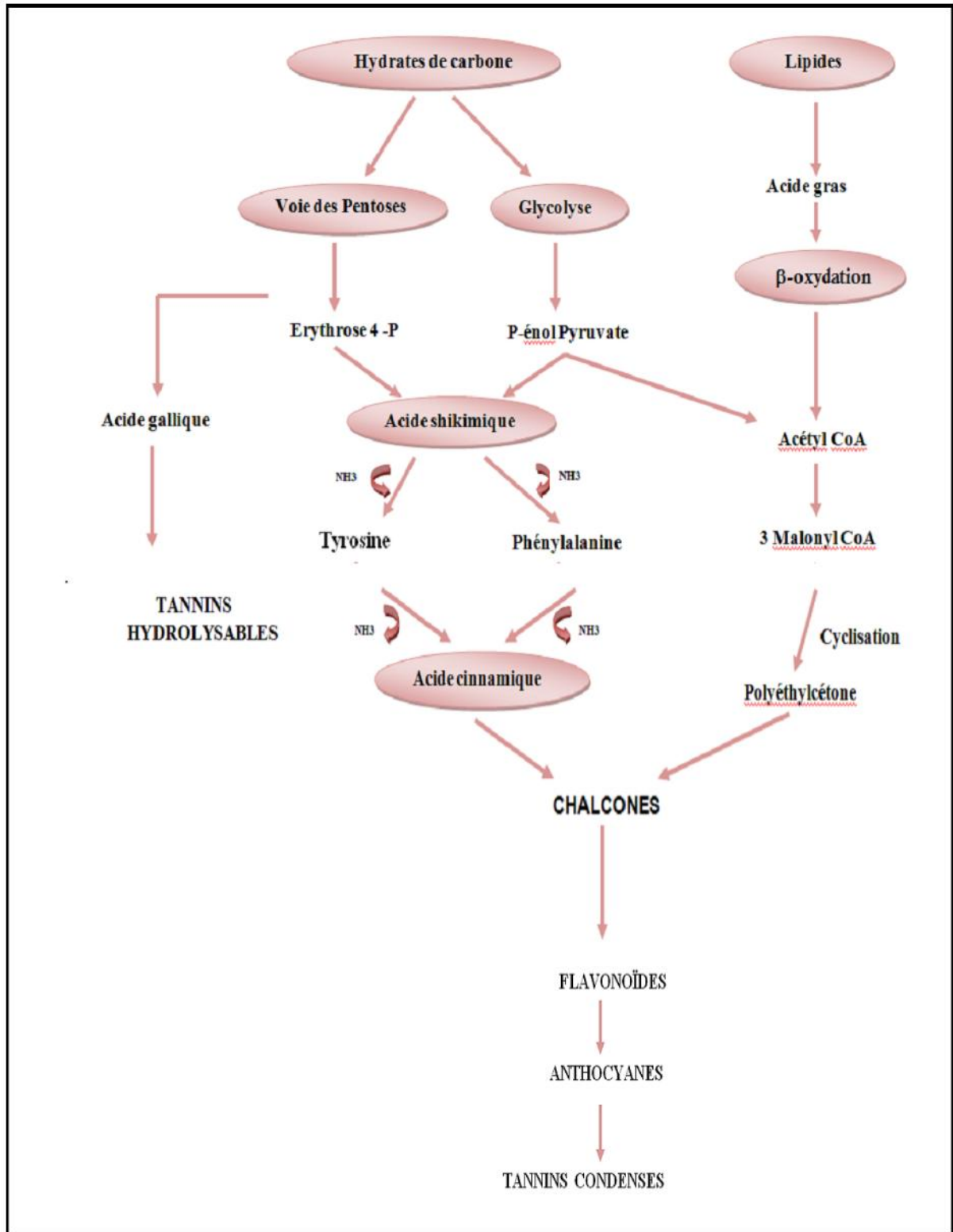


Figure n°2 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011).

I.2.3. Classification des composés phénoliques

Selon **Corona, (2011)**, les polyphénols peuvent être répartis en deux classes majeures ; les flavonoïdes et les non flavonoïdes (**Tableau n°2**) :

Tableau n°2 : Classification des composés phénoliques

La classe	Les sous-classes
Les non-flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Les acides phénoliques ✓ Les stilbènes ✓ Les lignanes, lignines et subérines
Les flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Les flavones ✓ Les flavanes ✓ Les flavanones ✓ Les flavonols ✓ Les anthocyanes ✓ Les prénylchalcones et dihydrochalcones

A. Les non-flavonoïdes

a. Les acides phénoliques

➤ Les acides hydroxybenzoïques

Les structures varient selon les hydroxylations et les méthoxylations sur le cycle phénolique aromatique (**Boutakiout, 2015**).

➤ Les acides hydroxycinnamiques

Ils sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement composés de l'acide p-coumarique, caféique, férulique et synapique (**Boutakiout, 2015**).

➤ Les coumarines

Les coumarines sont caractérisées par une structure qui comporte le noyau benzo- pyrone (coumarine), résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique (**Ben Rhouma, 2013**).

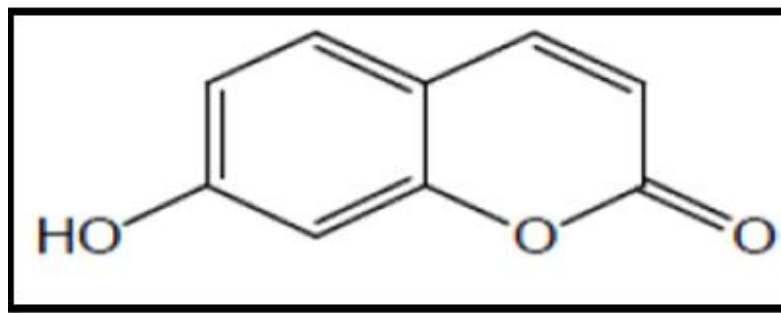


Figure n°3 : Squelette de base des coumarines (Djemoui, 2012)

➤ Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters d'acides phénoliques (acide gallique ou ellagique) associés à un polyol (habituellement le glucose) (Boutakiout, 2015).

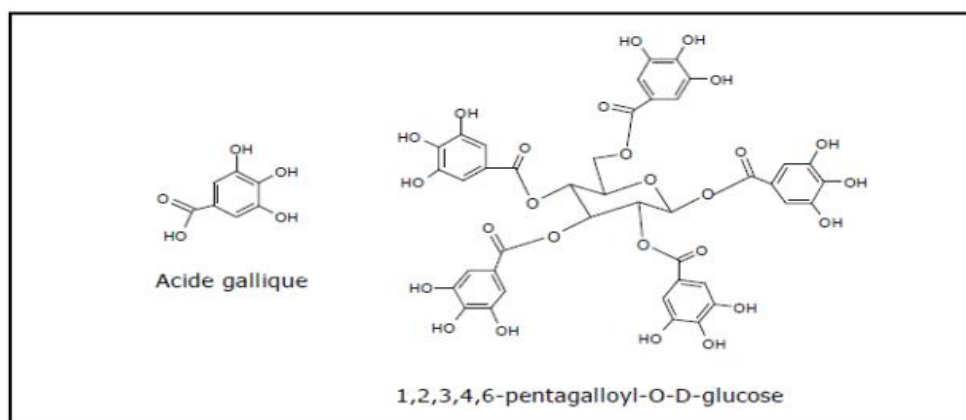


Figure n°4 : Structures de l'acide gallique et d'un tannin gallique (Brunet, 2008).

➤ Tanins condensés (proanthocyanidines)

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine Khanbabaeva et Ree, (2001), avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (Ghestem, 2001).

Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C dans le type B des pro-anthocyanidines ; ou par une liaison interflavanique double (C4-C6, 8 ou C4-C6) et (C2-O-C) dans le type A (Bruneton, 1999 ; Xie et Dixon, 2005).

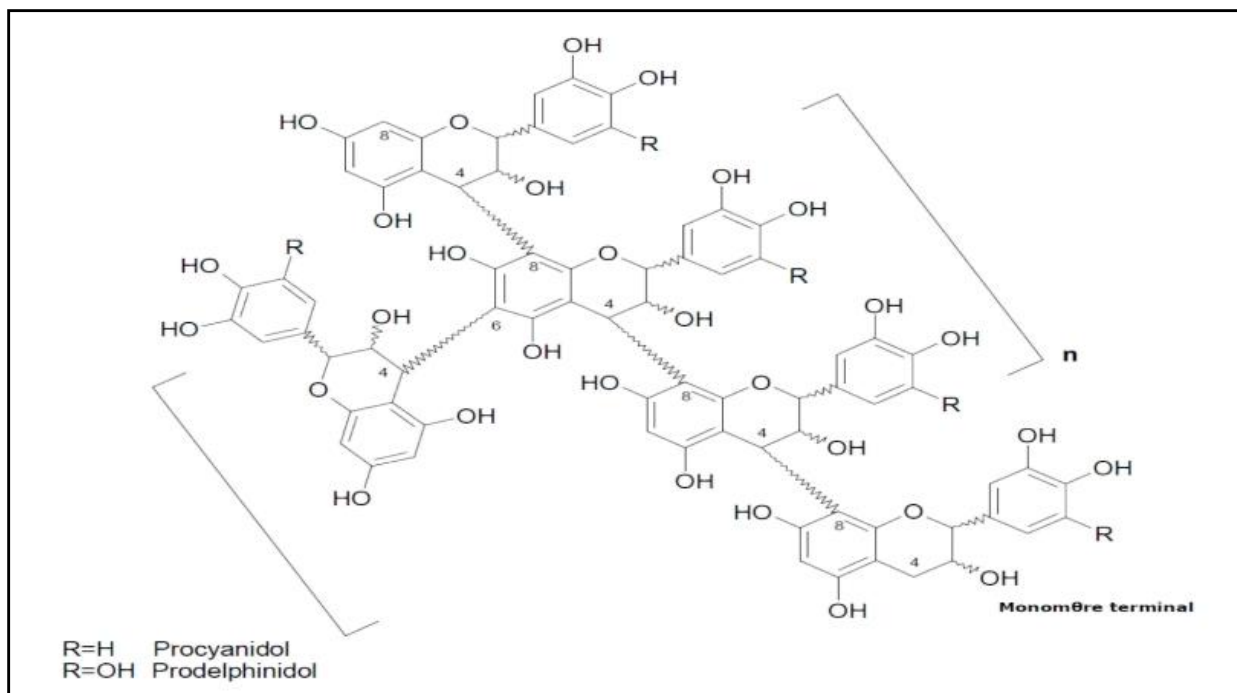


Figure n°5 : Structures chimiques de base des flavan-3-ols et des tanins condensés (**Brunet., 2008**).

b. Les stilbènes hydroxylés

Ces dérivés hydroxylés sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6) (**Lobstein, 2010**).

c. Les lignanes, lignines et subérines

Les lignanes sont des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ils sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool synapique. Alors que les lignines sont des polymères d'alcools conifériques, sinapyliques et p-coumarique. Par contre, les subérines sont des polyesters des acides férulique et p-coumarique avec des acides aliphatiques (**Renault Roger et al., 2002 ; Ghnimi, 2015**).

B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits naturels de bas poids moléculaire qui appartiennent à la classe générale des polyphénols, représentant les métabolites secondaires les plus abondants chez les plantes avec plus de 8 000 structures connues (**Pessel, 2013 ; Malbert, 2014**).

B.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent une structure commune composée d'un squelette carboné de type 2-phénylchromane, appelée aussi noyau flavane. Il est composé de deux cycles aromatiques, et d'un cycle central (nommés respectivement A, B et C dans la nomenclature initialement proposée par Hemingway en 1982 et améliorée par Porter en 1988) (Diharce, 2014).

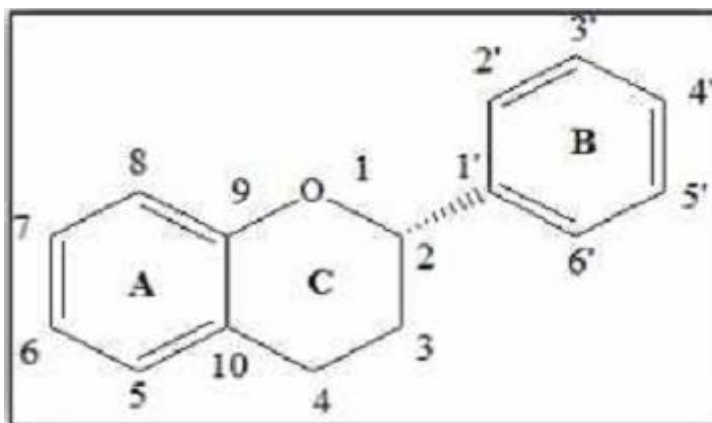


Figure n°6: Nomenclature et numérotation des atomes dans un composé de type flavonoïde (Diharce, 2014).

B.2. Classification des flavonoïdes

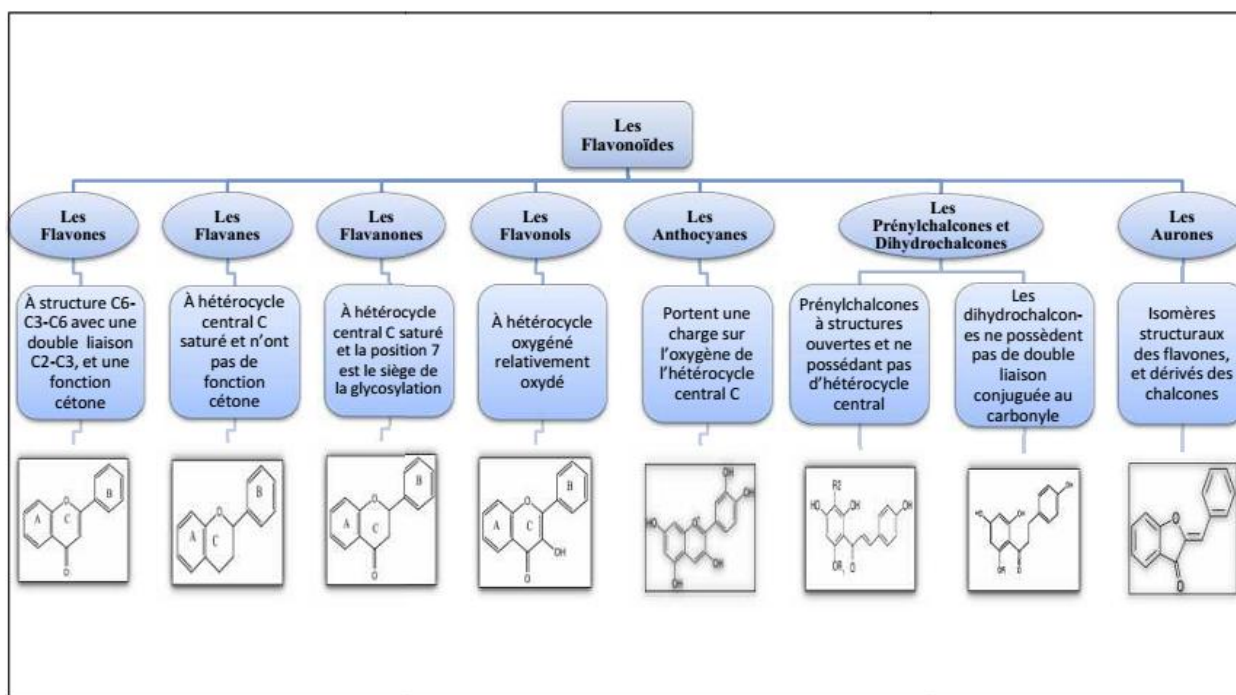


Figure n°7: Classification des flavonoïdes (Boutakiout, 2015 ; Ghnimi, 2015).

I.2.4. Activités et intérêts pharmacologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont dotés de certaines activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, anti-tumorale, anti-inflammatoire, et principalement antioxydante ainsi qu'ils présentent un effet protecteur vasculaire et capillaro-veineux (**Kanoun., 2011**).

Vers la fin du 20^{ème} siècle, les études épidémiologiques et les méta-analyses associées ont fortement suggéré que la consommation à long terme des régimes alimentaires riches en polyphénols végétaux offrait une certaine protection contre le développement des cancers, des maladies cardiovasculaires, du diabète, de l'ostéoporose et des maladies neurodégénératives (**Boutakiout, 2015**).

I.3. Les alcaloïdes

I.3.1. Généralités

Les alcaloïdes sont des molécules hétérocycliques azotées et faiblement basiques à structure souvent complexe et dont l'activité physiologique et pharmacologique est souvent marquée. Les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance: jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles. La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (**Muhammad, 2013 ; Yezza & Bouchama, 2013 ; Merabet & Menaifi, 2015**). Les alcaloïdes sont regroupés en trois genres:

➤ **Les alcaloïdes vrais**

Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**).

➤ **Les pseudo-alcaloïdes**

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011**). Dans la

majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (**Rakotonanahary, 2012**).

➤ Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (**Badiaga, 2011**). L'origine de ces alcaloïdes remonte aux acides aminés suivants : la lysine, phénylalanine, tyrosine, acide anthranilique, acide nicotinique, histidine, tryptophane et l'ornithine (**Mauro, 2006**).

I.3.4. Intérêts des alcaloïdes

Actions pharmacologiques

Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés;

- Dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central.
- Sympathomimétiques (éphédrine), parasymphomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.
- Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), antipaludiques (quinine)...etc. (**Bruneton, 2009**).

I.4. Les Terpénoïdes

I.4.1. Définition

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « *Pistacia Terebinthus* » (**Ayad, 2008**).

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (**Benaissa, 2011**).

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (**Malecky, 2005**).

I.4.2. Structure des terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 .

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.); (Malecky, 2005 ; Benaissa, 2011).

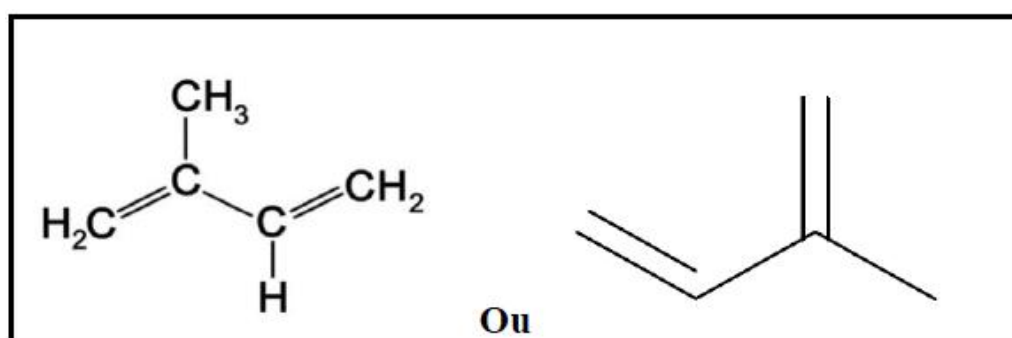


Figure n°8 : structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011).

I.4.3. Classification des terpénoïdes

La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C_5), monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes (Mebarki, 2010).

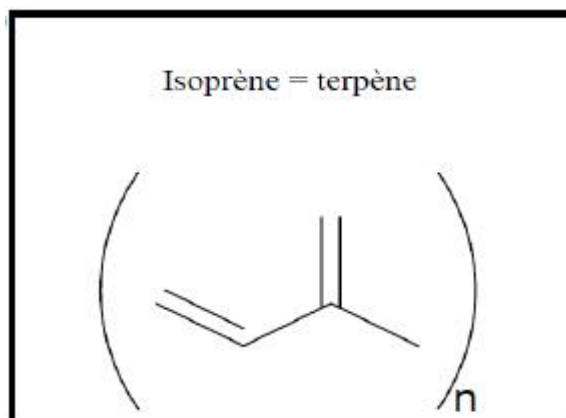


Figure n°9 : structure de l'isoprène (Belbache, 2003).

Tableau n°3 : Quelques exemples des différents types de terpenoïdes (Belbache, 2003)

N	Squelette carboné	Type de terpenoïdes	Exemple de molécule
1	C5	Hemiterpene	Isoprène
2	C10	Monoterpène	Nérol, citronnelle, huiles essentielles
3	C15	Sesquiterpène	β -Cadinène
4	C20	Diterpène	Sclaréol, phytol
6	C30	Triterpène	Lanostérol
8	C40	Tetraterpène	Caroténoïdes
> 8	>40	Polyterpène	Caoutchouc

I.4.4. L'intérêt des triterpènes :

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 les différents domaines : cytostatiques, antiinflammatoires, 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-inflammatoires,...etc.
- Un intérêt thérapeutique concernant l'extraction des molécules bioactives, pour l'obtention des formes galéniques simples ou pour celle de préparation phytothérapeutique.
- Une importance économique du fait de leur utilisation dans les industries agroalimentaires (Bouzghaia, 2013).

Chapitre I.I.I

Les activités

Biologiques

I. Activité antioxydante

I.1. Stress oxydatif et les antioxydants

I.1.1. Généralité

L'oxygène (O₂) est indispensable à la plupart des espèces vivantes, fournit un énorme pouvoir métabolique pour la production d'énergie. Cependant, en raison de sa conformation chimique, la molécule d'O₂ peut, dans certaines circonstances, s'avérer toxique. Cette toxicité est induite par des éléments réactifs, instables et pro-oxydants : les radicaux libres de l'oxygène (RLO) ou espèces réactives de l'oxygène (ERO). Dérivés pour la plupart de l'O₂ et produits par divers mécanismes physiologiques; ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Inopportunément, ils peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques. Afin que les ERO n'exercent pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense constitué par les Antioxydants (AO). Dans les circonstances quotidiennes normales, des ERO sont produits en permanence en faible quantité, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les AO qui sont produits d'ailleurs en fonction des radicaux générés. La balance oxydants/antioxydants est alors en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en AO ou par suite d'une surproduction d'ERO, le déséquilibre observé correspond au "stress oxydatif " (**Halliwell, 2013**).

I.1.2. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, avec conséquences l'apparitions des dégâts irréversibles par la cellule à concentration plus élevées, les EAO peuvent en effet engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire. Ce que se traduit par divers altérations biochimiques intracellulaires ; oxydation de l'ADN, de protéines et la peroxydation des lipides (**Cheurfa et al., 2015; Bidri et Choay, 2016 ; Kehili et al., 2017**).

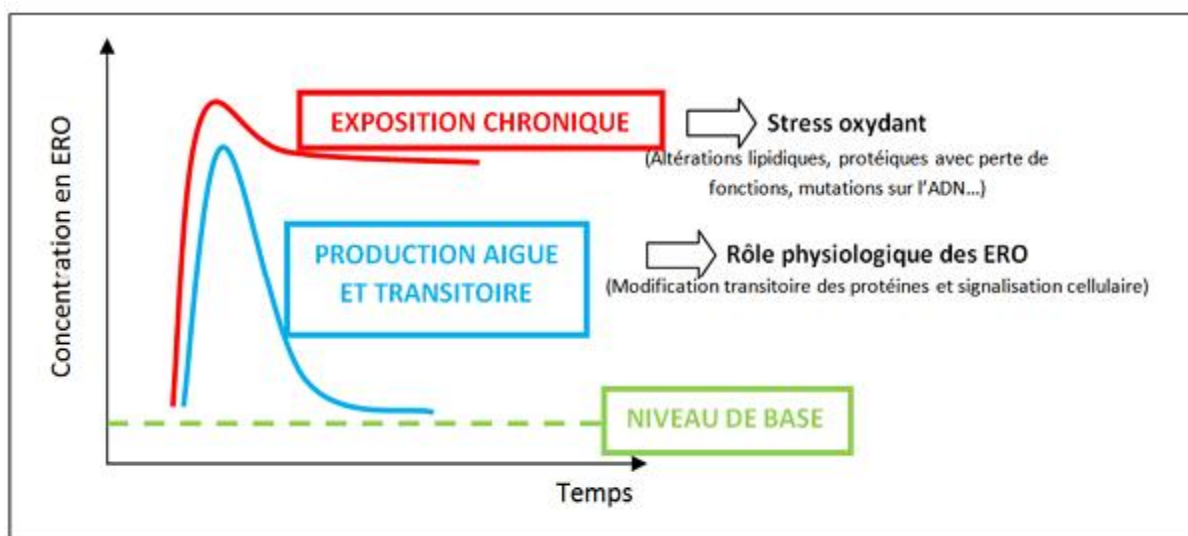


Figure n°10 : La rupture d'équilibre à l'origine du stress oxydant (Delattre et al., 2005).

I.1.3. Les radicaux libres

Stricto sensu, un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite électronique la plus externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives, agressives et à durée de vie très courte (10^{-9} - 10^{-6} sec). Ces radicaux cherchent dans leur environnement un électron d'une molécule stable plus proche pour s'apparier en déstabilisant alors la molécule attaquée et la transformer en radical. Les radicaux peuvent réagir avec des composants cellulaires (ADN, lipides, protéines...) aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles, mais dans des conditions physiologiques agissent comme des substances de signal importantes en plus de l'utilité dans la défense chez les bactéries (Chahine, 2014 ; Jdidi, 2015).

I.1.4. Différentes formes des radicaux libres

Parmi les espèces radicalaires qui se forment dans les cellules, on distingue des composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et dénommés radicaux primaires. Les autres RLO, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de radicaux primaires sur les composés de la cellule. Les radicaux primaires dérivent de l' O_2 tels le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyl (OH^{\bullet}), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces réactives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des RLO, mais des espèces réactives précurseurs de radicaux (Figure n° 11) (Favier, 2003).

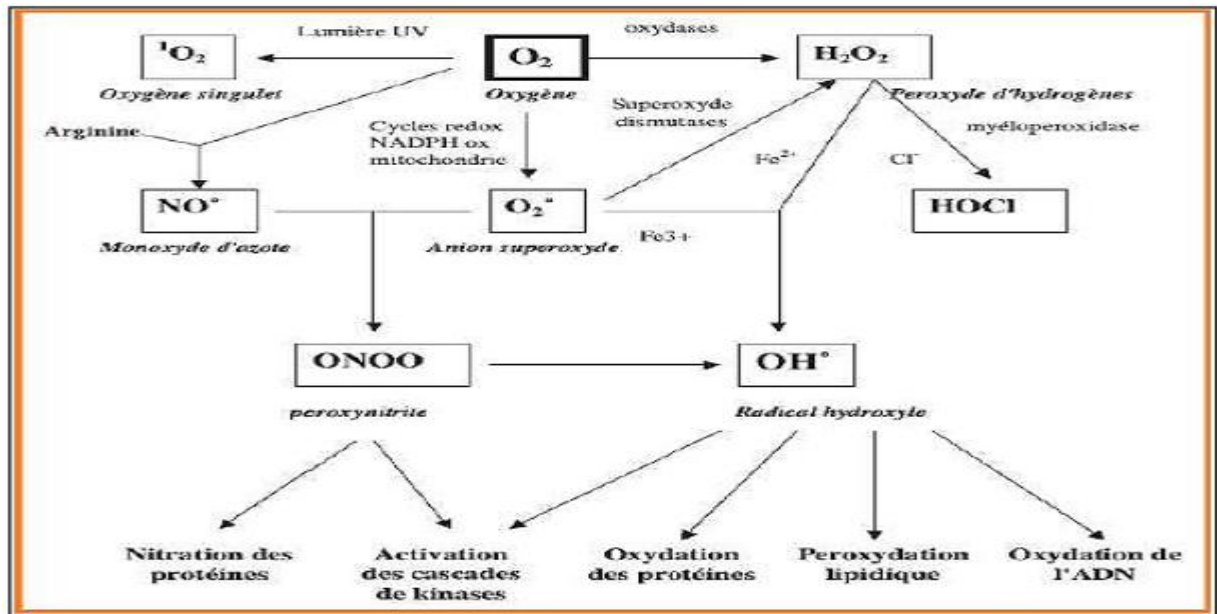
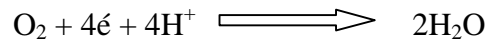


Figure n°11: Radicaux libres : métabolites dérivés de l'oxygène (Favier, 2003)

I.1.5. Radicaux libres oxygénés (ROS)

Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :

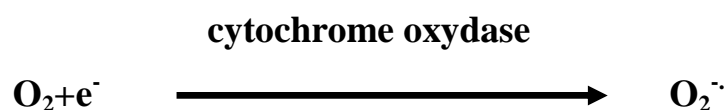


Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet (1O_2) mais surtout de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). La dismutation de $O_2^{\bullet-}$ va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyle (OH^\bullet) (Pincemail, 2002 ; Valko et al., 2006).

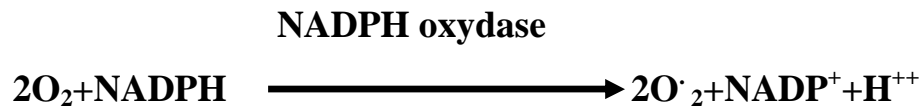
I.1.6. La formation des ERO

➤ Le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$

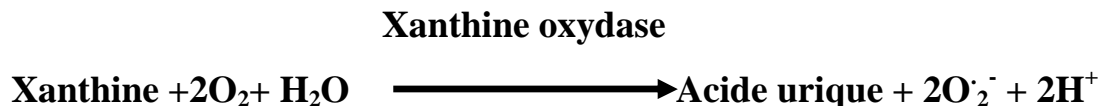
L'origine principale du radical superoxyde est sans conteste la chaîne respiratoire mitochondriale. En effet, ce système permet la production du radical superoxyde par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire, cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial:



Le radical superoxyde peut également se former lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase présente dans la membrane plasmique des phagocytes :



Une autre source possible est la xanthine oxydase. Cette enzyme catalyse l'oxydation de la xanthine en acide urique.



Le radical superoxyde est peu réactif, mais il entre comme agent oxydant dans la majorité des réactions (Marfak, 2003 ; Antwerpen, 2006).

➤ **Le peroxyde d'hydrogène**

Il se forme par une réaction de dismutation du radical superoxyde, catalysée par le superoxyde dismutase (SOD).



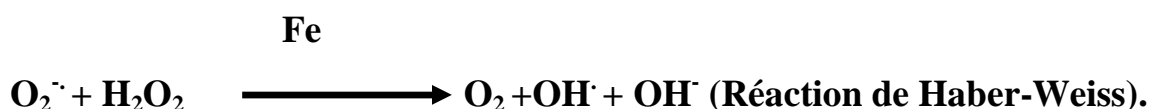
Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, mais il possède une capacité de diffusion importante (Jacques et André, 2004).

➤ **Le radical hydroxyl OH•**

Il est principalement formé lors de réactions d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène, ces réactions sont décrites sous le nom de réactions de Fenton:



Le fer peut également catalyser la transformation de l'anion superoxyde en présence de peroxyde d'hydrogène avec production de radical hydroxyle selon la réaction dite HaberWeiss. Cette réaction est relativement lente et moins courante que la précédente dans les tissus vivants (Jacques et André, 2004).



➤ **L'oxygène singlet $^1\text{O}_2$**

N'est pas un vrai radical. Molécule instable capable d'oxyder d'autres molécules, elle est très réactive avec les lipides membranaires produisant les peroxydes

➤ **L'acide hypochlorique**

Est formé par l'action des myéloperoxydases des phagocytes et il est libéré dans le milieu extracellulaire. C'est un fort agent antibactérien, mais il est capable aussi d'interrompre certaines fonctions des protéines même à de très faibles concentrations. La lyse cellulaire s'opère à des concentrations élevées d'acide hypochlorique (**Hoxes, 2006**).

I.1.7. Radicaux libres azotés (RNS)

➤ **Oxyde nitrique NO^\cdot**

Est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur L-arginine **Fang et al., 2002**. L'oxyde nitrique lui-même moins réactif que les autres radicaux libres, mais sa surproduction dans des conditions spécifiques capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma, tels que l'acide ascorbique et l'acide urique et capable d'entamer le lipide peroxidation (**Halliwell et Wiseman, 1996**).

➤ **Nitrique dioxyde NO_2**

Formé à partir de la réaction du radical peroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxidation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

➤ **Peroxynitrite**

La réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxynitrite (**Wiernsperger, 2003**).



➤ **Le peroxynitrite**

Est un dérivé d'oxygène très toxique provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL (**Halliwell, 1997**). Peroxynitrite apparaît comme l'espèce la plus toxique pour les tissus au niveau des sites de l'inflammation et participe dans plusieurs désordres neurodégénératif et des lésions rénales. Le peroxynitrite (OONO^-) est capable d'oxyder les

protéines et les bases azotiques des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle (Knight, 2001).

I.1.8. Les sources des ERO

Les principales sources des radicaux libres sont soit endogènes ou exogènes, elles sont résumées dans la (Figure n°12).

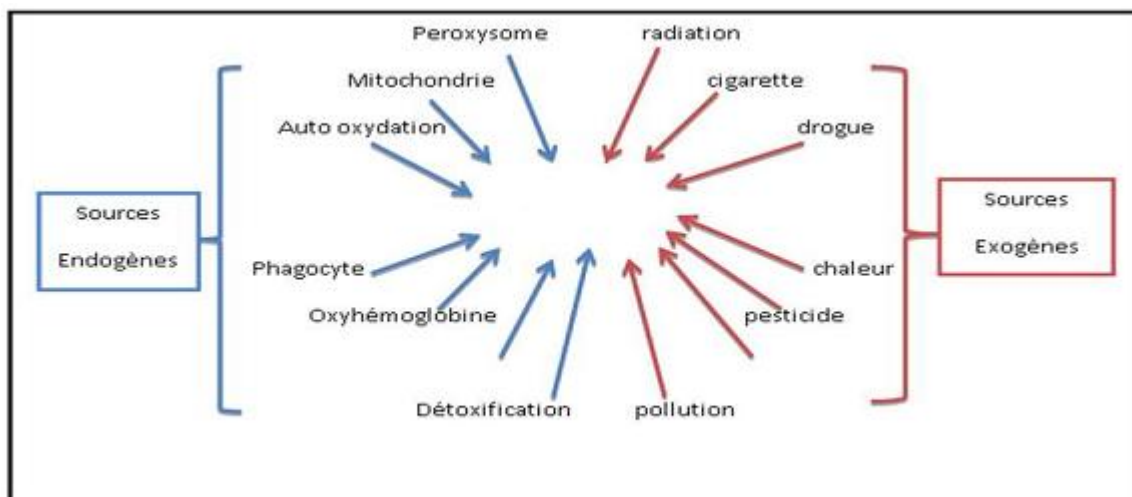


Figure n°12: Les principales sources des ERO (Humblet ; Godeau, 2005).

I.1.9. Le rôle physiologique des ERO

Les ERO remplissent de très nombreuses fonctions utiles. Ils participent à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes (phagocytose des bactéries par les macrophages), à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au dysfonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes..., les cytokines inflammatoires ou les carcinogènes chimiques. Ayant besoin d'une certaine quantité d'espèces réactives de l'O₂, l'organisme ne cherche pas à les détruire mais à contrôler leur niveau pour éviter le stress oxydatif (Dröge, 2002).

I.1.10. Le système de protection antioxydants

Les cellules possèdent différentes stratégies antioxydante afin de contrôler la quantité de radicaux libres. Une stratégie fréquemment retrouvée repose sur la présence de composés antioxydants synthétisés par la cellule (endogène) contrairement à d'autres apportés par l'alimentation (exogène) (Carange, 2010). Les antioxydants (AO) sont définis

comme toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, et capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (**Chahine, 2014**).

Les antioxydants sont regroupés en classes et sous-classes selon l'origine et la nature chimique:

1. Les Antioxydants endogènes

Sont synthétisés au sein de l'organisme et peuvent être classés en deux sous classes; les antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques:

1.1. Antioxydants enzymatiques

➤ La superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) est une enzyme convertissant le superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction ci-après. Ce dernier est secondairement soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase, soit transformé en eau lors d'une réaction couplée à l'oxydation du glutathion, catalysée par la glutathion peroxydase (GSH-Px) (**Chahine, 2014**).



➤ La catalase

La catalase (EC 1.11.1.6) est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction ci-dessous. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dismutation du peroxyde d'hydrogène (**Hierso, 2015**).



➤ La glutathion peroxydase et glutathion réductase

La glutathion peroxydase (GPX) (EC 1.11.1.9) est une enzyme séléno-dépendante, dont il existe plusieurs isoformes, réparties différemment dans la cellule. Elle catalyse la réaction de transformation des H₂O₂. Cette réaction met en jeu une molécule antioxydante non enzymatique, le glutathion, sous sa forme réduite GSH. En réalité, 2 molécules de GSH sont nécessaires pour former la forme oxydée du glutathion à savoir le glutathion disulfide (GSSG). La glutathion réductase (GR) (EC1.8.1.7) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. La GR est chargée de

réduire le glutathion qui a été oxydé par les nombreux processus cellulaires. Elle utilise l'oxydation du NADPH en NADP⁺ pour réduire le GSSG (Bouzid, 2014).

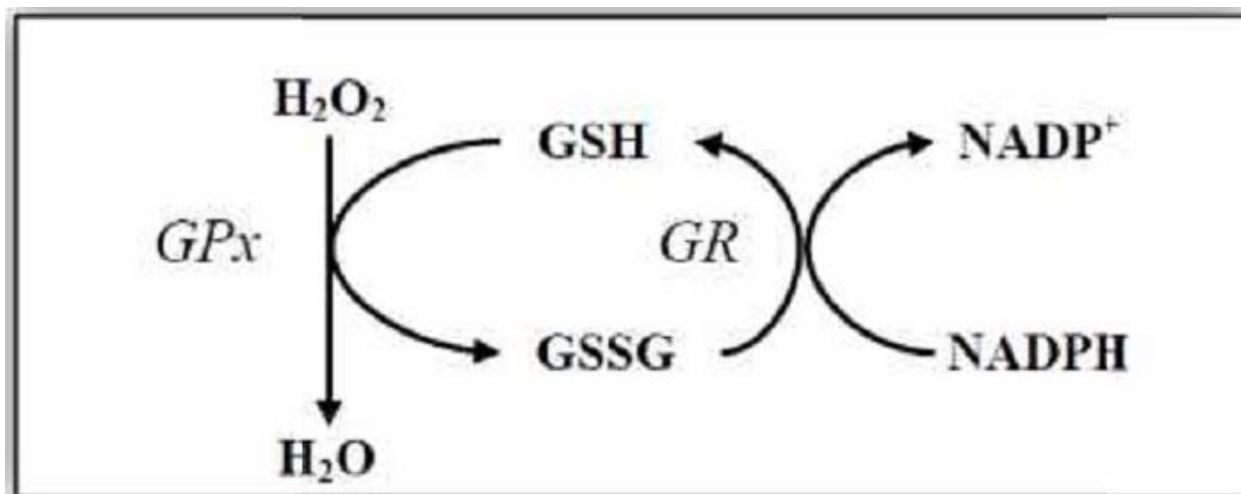


Figure n° 13: Elimination du H₂O₂ par les réactions enzymatiques combinées de la GPX et la GR

I.2. Antioxydants non enzymatiques

- **Le glutathion réduit**

Le GSH peut agir directement avec les RL mais il est essentiellement utilisé comme substrat par la GPX pour l'élimination des H₂O₂. Lors d'un stress oxydant, le taux de GSH généralement diminue. Pour cela, il est important d'évaluer le glutathion oxydé (GSSG) et le rapport GSH/GSSG afin d'avoir une idée plus précise sur le fonctionnement de cet antioxydant. En effet, une diminution du ratio GSH/GSSG est en faveur d'une réaction des défenses antioxydantes pour l'élimination des RL (Bouzid, 2014).

- **L'acide urique**

C'est un produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate in vivo peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les EOA appelé l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (Haleng *et al.*, 2007). En cas de stress oxydant, la concentration de l'acide urique augmente, en particulier lors du phénomène d'ischémie-reperfusion, et les xanthines oxydases formées lors de ce

phénomène produisent des RL et provoquent une transformation des hypoxanthines, en xanthine et acide urique (**Johnson et al., 2009**).

II. Activité antibactérienne

II.1. Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et Vildé, 2005**). L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme (**Benkherara et al., 2011; Hammoudi, 2009**).

II.2. L'aromatogramme

C'est l'équivalent d'antibiogramme (technique utilisée en bactériologie médicale où les antibiotiques sont remplacés par les extraits) ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Ce dernier sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques (**Benkherara et al., 2011; Hammoudi, 2009**). Cette méthode a l'avantage d'être une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, par l'application du très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Hammoudi, 2009**). L'action d'un antibiotique ou d'un extrait sur une souche bactérienne aboutit à deux états possibles:

- L'arrêt de l'augmentation de la population c'est l'effet bactériostatique.
- La destruction des bactéries: c'est l'effet bactéricide qui aboutit à la lyses bactérienne (**Boulahbal, 1993**).

Partie

Expérimentale

Chapitre I

Matériel et

Méthodes

I. Matériel et Méthodes

L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de biochimie, Université Abbés Iaghour-Khenchela- à partir le 1 avril 2018 jusqu'à 1 juin 2018.

Elle comporte deux parties :

1^{ère} partie : Préparation de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante médicinale *Artemisia campestris*, analyse phytochimique qualitative et dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes.

2^{ème} partie : Etude de l'activité antioxydant de cet extrait par la technique de piégeage du radical libre DPPH ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide et la détermination des concentrations minimales inhibitrices.

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Il est constitué des feuilles de la plante *Artemisia campestris*, récoltée le vendredi 9 février 2018 de la région de Mashta zouahr (Baghai), wilaya de khenchela (**Photo n°2**). La plante fraîchement récoltée est séchée à l'ombre pendant un mois dans un endroit sec et aéré, après son séchage, la plante a été broyée à l'aide d'un Mortier pour l'obtention d'une poudre, cette dernière est conservée dans un flacon en verre bien hermétique jusqu'à son utilisation.



Photo n° 2 : Vue générale de la plante d'*Artemisia campestris* prise à partir du site d'étude

I.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits : Eau distillée, eau physiologie, folin-ciocalteu, trichlorure de fer (FeCl_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Méthanol, n-butanol, chloroforme, Acide sulfurique, ammoniac, tampon phosphate, acide ascorbique, Acide chlorique, Wagner (2g de Iodure de potassium et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100ml d'eau distillée). Et des plaques CCM.

Parmi l'appareillage utilisé : étuve, Spectrophotomètre UV vis à double faisceau 1200 avec accessoires (UNICO 1200 UV/VIS), chambre d'observation UV (VILBER COURMAT), balance, balance analytique avec chambre de pesée (Aventurer), vortex,

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait aqueux

La préparation de cet extrait a été faite selon la méthode par **Guédé-Guina et al., (1996)**, qui consiste à macérer 80 g de poudre végétale dans 2L d'eau distillée. Le macérât est homogénéisé pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique de type IKAMAG-RCT. L'homogénat est filtré successivement 2 fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrât obtenu est évaporé à l'aide d'une étuve de type Med Center Venticell, à 50°C pour donner une poudre noire qui constitue l'extrait total aqueux (ETA).

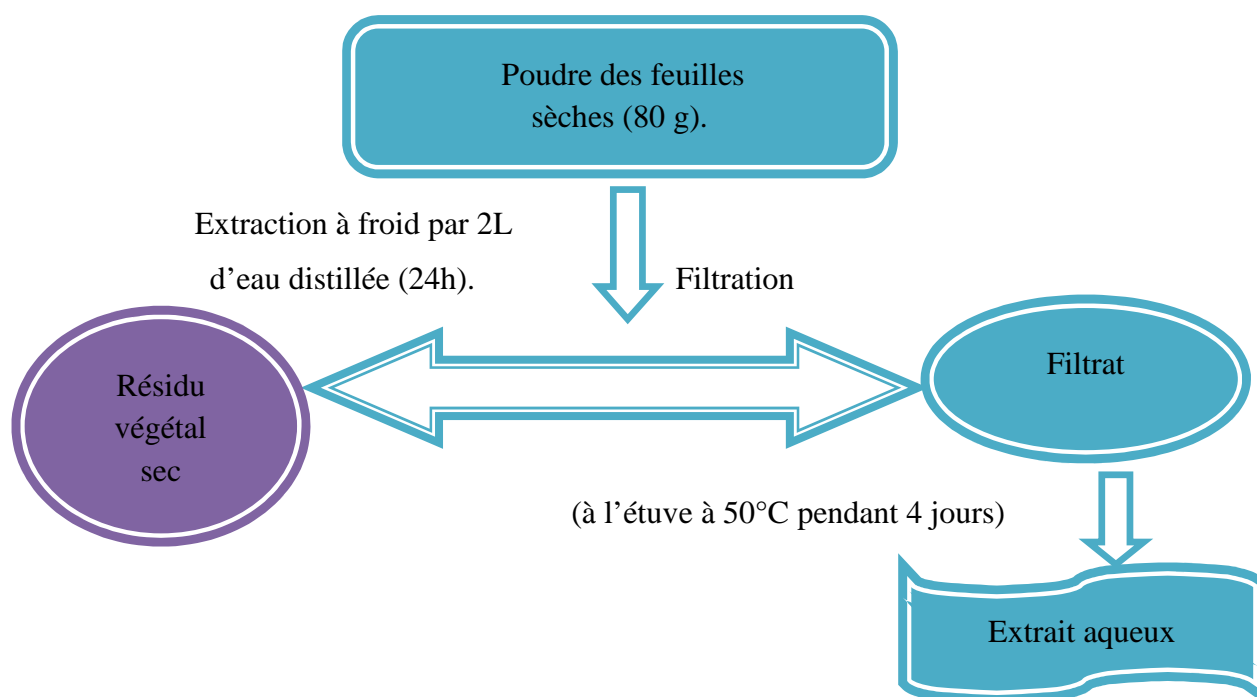


Figure n° 14: Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux.

II.2. Détermination du rendement d'extraction

Le résidu ou la poudre obtenus d'extrait aqueux est pesé pour la détermination du rendement selon la formule suivante :

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

Où :

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

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

II.3. Analyse qualitative de l'extrait aqueux des feuilles de *l'Artemisia campestris*.

II.3.1. Screening phytochimique

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence ou l'absence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

➤ Test des composés phénoliques

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl_3 y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (Rosine et Momo, 2009).

➤ Recherche des flavonoïdes

5ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d' AlCl_3 (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Benmehdi, 2001).

➤ Recherche des coumarines

L'extrait sec est dissous dans l'eau distillée par chauffage, après refroidissement, la solution obtenue été répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05ml de

NH₄OH 10% dans le 2^{ème} tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (Ciulei, 1982 ; Wagner et Blatt, 1996).

➤ **Recherche des composés réducteurs**

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5ml d'acide acétique contenant des fragments de FeCl₃ sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmé par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (Yrjönen, 2004).

➤ **Recherche des alcaloïdes**

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffer dans un bain marie. Après la filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels (Mohammedi, 2006).

➤ **Recherche des tanins**

1. Caractérisation des tanins condensés

L'ajout de trichlorure du fer (FeCl₃)1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence des tanins galliques, et au bleu verdâtre en présence des tanins catéchiqes (tanins condensés) (Dohou et al., 2003).

➤ **Différentiation des tanins**

Pour identifier le type des tanins (tanins condensés, tanins hydrolysables), On procède la méthode suivante :

- Précipitation par le réactif de Stiasny A 15 ml de l'extrait, on ajoute 8ml de réactif de Stiasny (formaldéhyde à 30% ; 2 volumes + HCl concentré ; 1 volume), On chauffe le mélange au bain-marie à ébullition pendant 30min. On note la présence de précipités, donc la présence des tanins condensés. On filtre, puis au filtrat on ajoute l'acétate de sodium jusqu'à saturation. Ensuite on met quelques gouttes de FeCl₃ à 2%. On obtient une coloration bleu-noire, donc la présence des tanins hydrolysables (Mamadou, 2002).

➤ **Caractérisations des saponines**

Deux milligrammes de l'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée puis l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 ml de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15min de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (**Rosine et Momo, 2009**).

➤ **Détection des terpènes**

1. Détection des stéroïdes

Les stéroïdes sont révélés après addition de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait aqueux. 0,5 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés au mélange. Après agitation l'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (**Bruneton, 1999**).

➤ **Identification des polyuronides (pectines, mucilage et gencive)**

2 ml de l'extrait ont été ajouté goutte à goutte dans un tube à essai ou 10 ml d'acétone avaient déjà été placés, un précipité épais s'est formé indiquant la présence de polyuronides.

➤ **Test des mucilages**

La détection des mucilages est effectuée en introduisant 1ml d'infusé à 5% dans un tube à essai, et l'ajout de 5 ml d'éthanol pendant quelques minutes. Il apparait un précipité qui témoigne leur présence (**Études rwandaises, 1977**).

II.3.2. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

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

II.3.2.1. Dépôt de l'échantillon

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques à gel de silice, sur support rigide en aluminium.

L'échantillon à séparer est solubilisé dans le méthanol (50 mg/ml), il est déposé sur la plaque à l'aide d'une micropipette (10 μ l) d'une façon perpendiculaire et linéairement, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyse en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyse (Sine, 2003).

II.3.2.2. Phase mobile

Dix systèmes de solvants organiques à polarités différentes ont été essayés

- ✓ **Système 1** : Toluène/ Acétate d'éthyle/ Méthanol (5/3/1) (v/v/v).
- ✓ **Système 2** : Acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique glacials/eau (10/1,1/1,1/2,6) (v/v/v/v).
- ✓ **Système 3** : Chloroforme/ Méthanol / Eau (6.5/1.5/2) (v/v/v)
- ✓ **Système 4** : chloroforme/acétone/ammoniaque 10% (8/4/10) (v/v/v/).
- ✓ **Système 5** : Acétone/Eau (1/1) (v/v).
- ✓ **Système 6**: n-Butanol / Acide acétique / Eau (6/1.5/2.5) (v/v/v).
- ✓ **Système 7** : Acétate d'éthyle/ Méthanol/ Eau (7/2/1) (v/v/v).
- ✓ **Système 8** : Ether de pétrole/ Acétate d'éthyle (8/2) (v/v).
- ✓ **Système 9** : Chloroforme/acide acétique glacial/ méthanol/eau (16/8/3/2) (v/v/v/v).
- ✓ **Système 10** : Acétate d'éthyle/méthanol/eau (11/2/1) (v/v/v).

II.3.2.3. Développement des plaques

Dans la cuve recouverte et préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié ; Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée. La phase mobile entraîne par capillarité les échantillons à étudier vers le haut de la plaque (Sine, 2003).

II.3.2.4. Expression des résultats

Après développement, les plaques sont séchées, puis visualisées séparément par une révélation physique sous lampe UV à 254 nm et 365 nm. Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant sur la distance parcourue par le solvant et les rapports frontaux des spots, ainsi l'identification des constituants de différents extraits (Vuorela *et al.*, 2005).

Le Rf ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange (Neffar et al., 2013). On détermine pour chaque constituant, le Rapport frontal :

$$\text{RF} = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

II.4. Etude quantitative

II.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode de (Wong, 2006).

II.4.1.2. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin Ciocalteu .Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif Folin) dans une solution alcaline (Vuorela et al., 2005).

II.4.1.3. Réalisation de l'essai

Le réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée. Brièvement 200 µl de l'extrait ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu. La solution a été mélangée et incubée pendant 4 minutes. Après l'incubation 8 µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5g /l) a été ajoutée .Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance des extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

II.4.1.4. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard étalon l'acide gallique (5 - 200µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG mg).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par **(Djeridane, 2006)**, est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

II.4.2.1. Réalisation de l'essai

Le réactif trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est solubilisé dans du méthanol absolu pour avoir une solution de 2 g/ 100 ml.

1ml de l'extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol).Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 15 minutes d'incubation.

II.4.2.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire

($y = ax + b$) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75 40 $\mu\text{g ml}$) dans les mêmes conditions que l'échantillon .Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

II.5. Evaluation in vitro de l'activité antioxydant

L'activité antioxydant ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant et en pratique, plusieurs essais *in vitro* sont menés pour évaluer l'activité antioxydant avec les échantillons d'intérêt. Un test a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydants des extraits: le test de DPPH (2,2-diphényl-1 -picrylhydrazyl).

II.5.1. Test scavenger du radical libre DPPH

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par l'activité du balayage des radicaux libres en employant le radical libre stable DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants **(Bastos et al., 2007)**.

II.5.2. Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006). L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

II.5.3. Méthode

Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole appliqué par (Mansouri *et al.*, 2005). Et ses collaborateurs. Brièvement, 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 μ l de différentes dilutions des extraits de plante sont ajoutés à 975 μ l de solution méthanolique de DPPH. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Nous avons utilisé différentes concentrations (A partir d'une solution méthanolique mère de : $C_1 = 10$ mg/ml d'extrait aqueux est solubilisé dans le méthanol, les dilutions suivantes ont été préparées : $C_2 = 8$ mg/ml, $C_3 = 6$ mg/ml, $C_4 = 4$ mg/ml, $C_5 = 2$ mg/ml. En même temps que le contrôle positif acide ascorbique.

Le contrôle négatif est préparé de la même condition opératoire sauf que l'extrait est remplacé par le solvant (Méthanol).

II.5.4. L'expression des résultats

En présence d'un antioxydant, l'intensité d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (Bastos *et al.*, 2007). Les résultats sont exprimés en tant que l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante (Wang *et al.*, 2006) :

$$I\% = \frac{[\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon}]}{\text{Abs Control négatif}} \times 100$$

La valeur IC 50 est définie comme étant la concentration de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur), les valeurs IC 50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration

de l'extrait testé et l'ordonnée par l'activité antioxydante en pourcentage (Mensor *et al.*, 2001).

I.1.2. Activité antibactérienne

Pour les tests d'activité antibactérienne, nous avons choisi quatre souches microbiennes (ATCC : **American type culture collection**)

Tableau n°04 : Caractéristiques des espèces utilisées

Groupe	Souches utilisés	Type de Gram
Bactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram (-)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27893	
	<i>Listéria Monocytogène</i> ATCC 25923	Gram (+)
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11778	

I.1.3. Méthode

I.1.3.1. Préparation de solution

L'extrait a été repris avec le DMSO.

Mis en test :

✓ Préparation de l'inoculum microbien :

Les souches sont ensemencées en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées et incubées pendant 24 heures, on a choisi 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de solution d'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 (10^6 UFC/ml).

✓ L'ensemencement :

Des disques blancs de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre stérile ont été imprégnés de 10µl de l'extrait préparé (Reconstituée selon la concentration voulue) et placés

dans des boites de Pétri coulés avec de gélose Muller Hinton. Chaque boite a reçu des disques déposés sur un numéro d'identification apposé sur la face inférieure de la boite.

✓ **Lecture des résultats :**

Les boites sont disposées dans l'étuve à 35°C pendant 24h. La lecture se fait par la mesure en millimètre du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (**Choi et al., 2006; Doughari et al., 2007; Bssaibis et al., 2009; Hambaba et al., 2012**).

I.1.4. Détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

Les CMI sont déterminées par la méthode standardisée de micro-dilution en milieu liquide. L'étude est réalisée en microplaques en matière plastique comportant 96 puits à fond « U » (8 rangées de 12 puits numérotés de 1 à 12) en bouillon Mueller- Hinton, avec un inoculum bactérien final de 5.10^6 UFC/ml, selon les recommandations de la CA-SFM.

Les microplaques sont incubées 18h à 37°C en aérobiose.

Selon le protocole **Dramane, (2010)**, modifier :

Les dilutions d'extrait aqueux ont été réalisées dans le DMSO à 10%, la première concentration étant 8 mg/ml puis des dilutions en cascade jusqu'à la concentration 0,031 mg/ml.

La CMI correspond à la première dilution où la croissance est négative (pas de culture visible), la suspension de la cupule correspondant est inoculé sur gélose pour déterminer l'activité exercée par l'extrait aqueux sur les souches testées, où leurs croissance correspondant à l'activité bactériostatique, tandis que l'effet bactéricide est révélé par une gélose claire après incubation (**Dramane, 2010**).

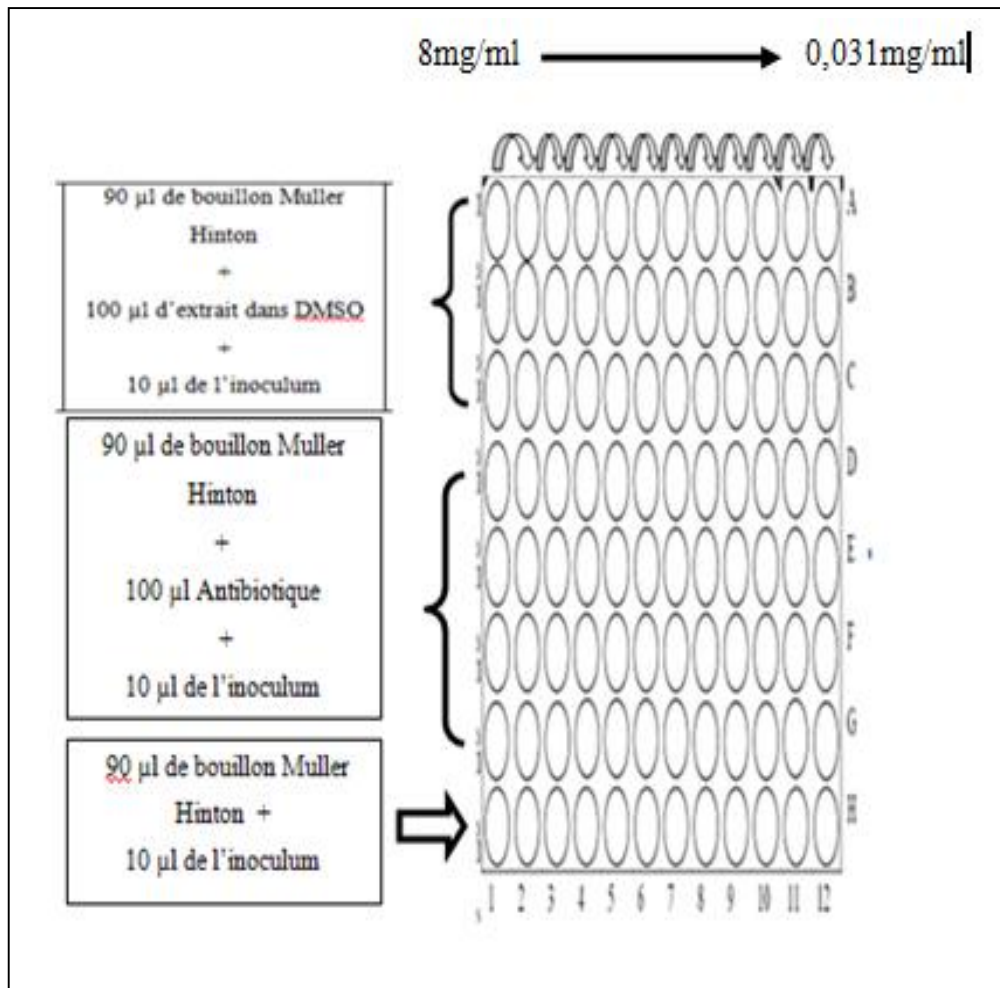


Figure n°15 : Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur microplaque

I.1.5. Etude statistique

Les résultats ont été présentés par la moyenne suivie de l'écart-type ($n = 3$) pour chaque cas. L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel Excel sur les valeurs obtenues.

Chapitre I I

Résultats et

Discussion

I. Résultats et discussion

Ce travail expérimental, ayant objet de l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne issues de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante médicinale «*Artemisia campestris L.*».

I.1. Détermination du rendement d'extraction

L'extrait aqueux (EQ) a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* en utilisant la méthode de macération dont le rendement est représenté dans le tableau suivant

Tableau n° 05 : Le rendement d'extrait aqueux (EQ) d'*Artemisia campestris*



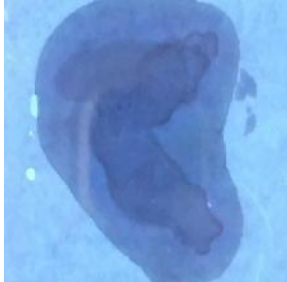


La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Abréviation d'extrait	Couleur et aspect d'extrait	Poids d'extraction en (g)	Rendement en (%)
<i>Artemisia campestris</i>	80	EQ	Marron foncé	16.585	20.731

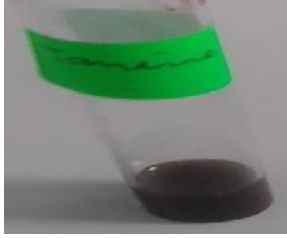


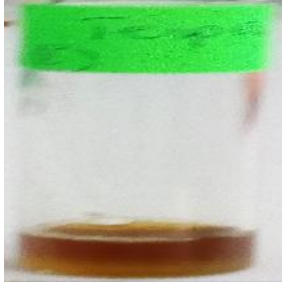

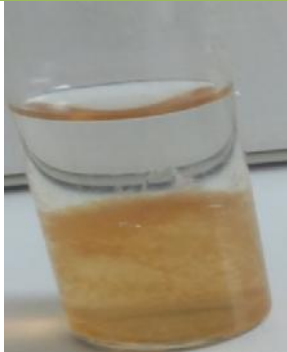
Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage (P/P).

D'après nos résultats l'extrait aqueux de l'*Artemisia campestris* a fourni un taux d'environ 20.731%, cette valeur est supérieure à ce que a trouvé **Berroune, (2005)**, qui a trouvé un rendement de 12,08% ; de manière générale, le rendement est relatif; il varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (**Mohammedi, 2006**).

I.2. Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques

L'analyse phytochimique réalisée sur les extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Tests phytochimiques		EQ	Observation	
Les composés phénoliques	FeCl ₃	Développement de la coloration verdâtre.		+++
Les flavonoïdes	AlCl ₃	Apparition d'une coloration jaune		+
Les coumarines	NH ₄ OH 10%	Présence d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV		-
Les composés réducteurs	- L'acide acétique - fragments de FeCl ₃	formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique)		+++
Les alcaloïdes	Wagner	Précipitation		-

Tanins condensés	FeCl ₃ (1%)	<ul style="list-style-type: none"> - Couleur vire au bleu noir - ou bleu verdâtre 		+++
Tanins hydrolysables	Réactif de Stiasny	La présence de précipités		+++
Les saponines	Test de la mousse	Formation d'une mousse persistante après 15 min		+++
Les stéroïdes	<ul style="list-style-type: none"> - Anhydride acétique - L'acide sulfurique 	Anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert		+
Polyuronides	Acétone	un précipité épais		+++
Les mucilages	Ethanol	L'apparait un précipité		+++

(+++): Présence très forte, (++): présence forte, (+): présence faible, (-): absence

Les résultats obtenus des tests phytochimiques, des extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* ont révélés la richesse de cette plante en polyphénols, tanins et en saponines. Par contre, les tests des alcaloïdes et des coumarines sont marqués négatif dans l'extrait.

I.3. Etude qualitative de la chromatographie sur couche mince par CCM issues de l'extrait aqueux

Le développement de la méthode pour la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais aussi le choix de la phase stationnaire, la technique de développement choisie, dimension de la chambre de développement et de l'espace vapeur ont un effet prononcé sur la séparation (Yrjönen, 2004).

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavoniques d'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia campestris*, l'identification des composés était basée sur la comparaison des Rfs et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur la plaque en utilisant plusieurs systèmes d'élution de polarité différente.

Les spots ont été visualisés sous une lampe UV à la longueur d'onde 365 nm, dont elle révèle les taches fluorescentes et visible et le **tableau n°06** résume les résultats du CCM.

I.3.1. Composés identifiés dans l'extrait aqueux

Le système solvant : Acéton/H₂O (1 : 1) a été utilisé comme phase mobile pour cet extrait ;

Tableau n°06 : Rapports frontaux(Rfs) des spots issus de la séparation de l'extrait Aqueux dans le système : Acéton/H₂O (1 : 1)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 nm	Rapport frontal (cm)	Type des flavonoïdes possible
Bleu Blanc fluorescent	0.21	Flavonols, flavones ,isoflavones, flavonones
Mauve	0.70	Anthocyanidine
Violet	0.77	Flavones

I.3.2. Composés identifiés dans l'extrait aqueux

Trois spots de dépôt de l'extrait aqueux ont été révélés par le système de solvant utilisé Acéton/eau (v/v) qui font partie des flavonols, flavonones, isoflavones, flavanones, anthocyanidine (**Figure n°16**).



Figure n°16 : Photo de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait aqueux d'A. Campestris par chromatographie sur gel de silice par le système solvant : Acéton/eau (révélation à l'UV), $\lambda = 365\text{nm}$

I.4. Résultats de l'étude quantitative

➤ Teneur en polyphénols et flavonoïdes

L'étude quantitative de l'extrait aqueux au moyen des dosages spectrophotométrique, avaient pour l'objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

Deux courbes d'étalonnage (**Figure n°17 et Figure n°18**) ont été tracées pour cette objectif, une réalisée par l'acide gallique et l'autre par la quercétine. La quantité de polyphénols et flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent de l'étalon.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme d'extrait (g GAE/mg d'extrait) et en microgramme d'équivalent de quercétine par un milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

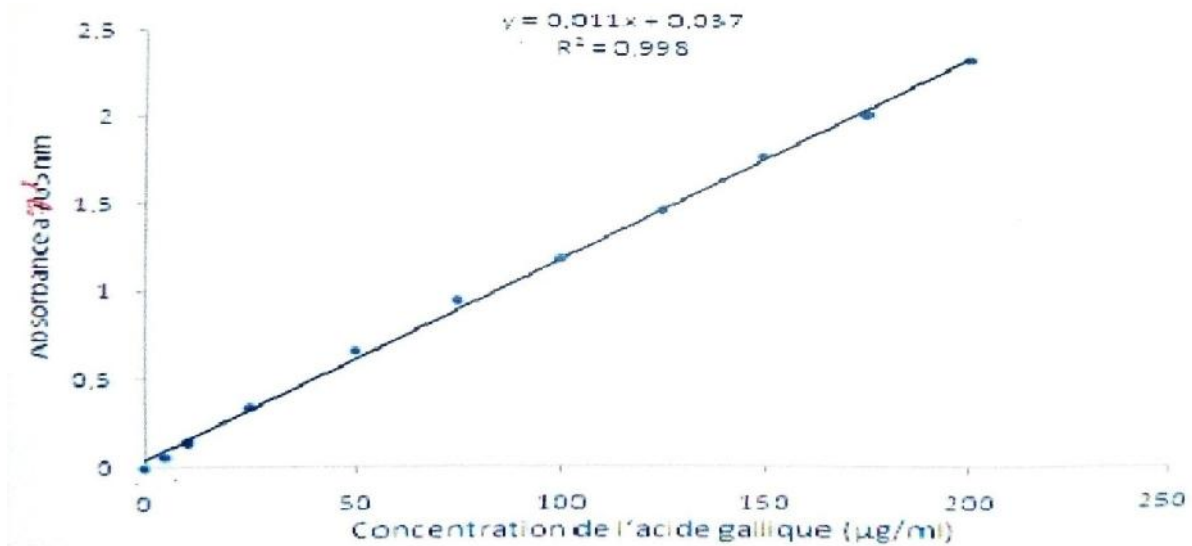


Figure n°17 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols (moyenne \pm SD de trois essais).

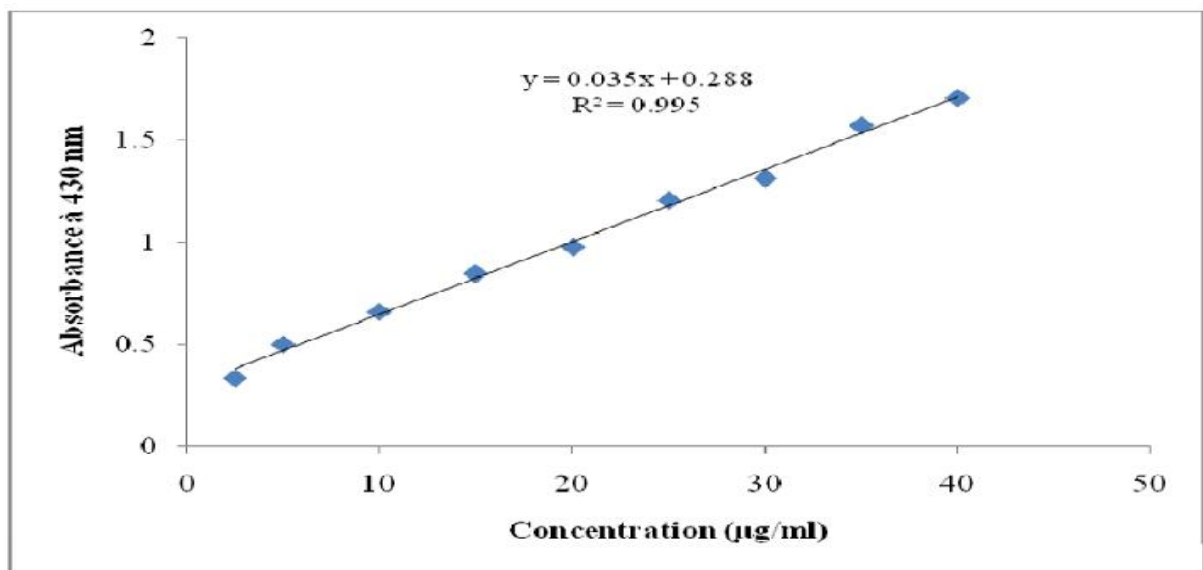


Figure n°18 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois essais).

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau n°07 : Teneur en Flavonoïde d'extrait d'*Artemisia campestris* L

Extrait	Teneur en polyphénols (ug EAG/mg d'extrait)	Teneur en flavonoïdes (ug EAG/mg d'extrait)
Aqueux	75.63 ± 0,244	10.25 ± 0.033

Les valeurs représentent la moyenne des trois mesures ± SD

Les résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. sont respectivement **75.636 ± 0,244 (ug EAG/mg d'extrait)** et **10.25 ± 0.033 (ug EAQ/mg d'extrait)**.

Nos valeurs sont proches des résultats de **Berroune, (2014)**, qui a trouvé des teneurs de 81.25 s (ug EAG/mg d'extrait) 13.64 s (ug EAQ/mg d'extrait) en polyphénols et en flavonoïde respectivement.

La teneur en polyphénols totaux des extraits d'A. *Campestris* sont relativement identiques à ceux trouvés par d'autres auteurs sur des plantes de le même genre obtenus par d'autres sites (Algérie et Tunisie). Alors que la teneur en flavonoïdes de l'espèce étudiée semble légèrement inférieure à celles trouvées par d'autres auteurs pour le même genre (**Saoudi et al., 2010 ; Akrouf et al., 2011**).

Cette différence peut être attribuée au :

-La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Fallehet et al., 2008**).

- La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (**Gomez et al., 2006**).

I.5. Activité antioxydante

Les résultats peuvent être exprimés en tant que :

- Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou en pourcentage de DPPH restant

- paramètre IC50, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause un éperde de 50% de l'activité de DPPH.

Nos résultats exprimés en tant que pourcentage et IC₅₀ pour l'extrait testé ainsi que l'acide ascorbique (Vit C) pris comme référence.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait sont portés sur la figure ci-dessous.

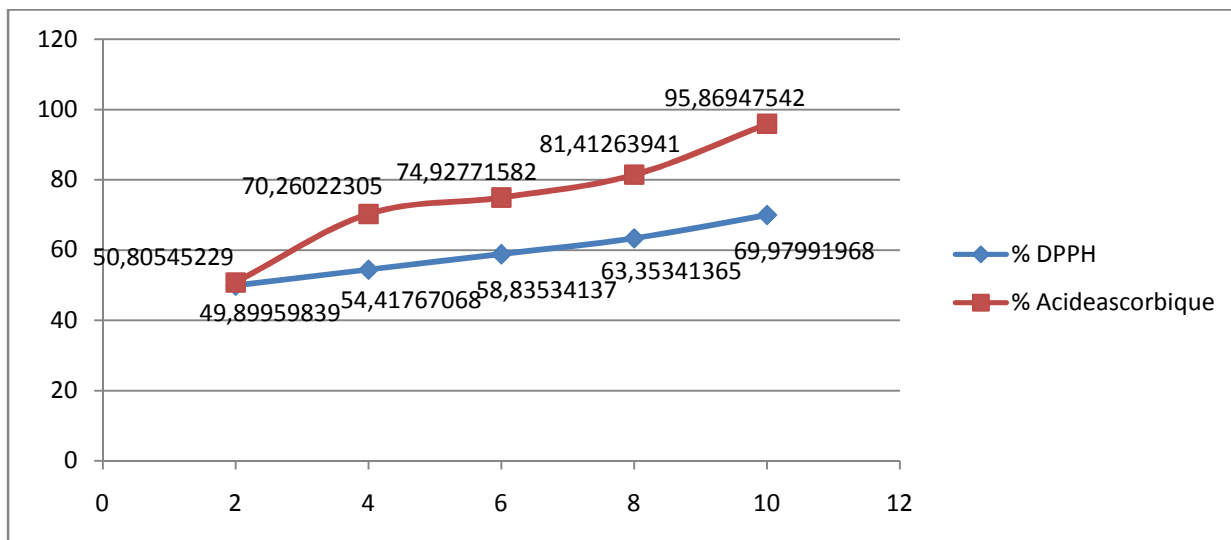


Figure n°19 : Deux courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations d'EQ et l'acide ascorbique.

D'après la figure ci-dessus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait testé dans le mélange réactionnel. Le taux d'inhibition du DPPH le plus fort est environ **69,97%**, obtenu avec la concentration **10mg/ml**.

I.5.1 Evaluation de l'IC₅₀

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (**Pokorny et al., 2001**).

Elle a été calculée par la régression linéaire de pourcentage d'inhibition calculé en fonction de différentes concentrations de l'extrait préparé.

Tableau n°08 : Représente la valeur d'IC₅₀ d'extrait et l'acide ascorbique

	L'extrait	Acide ascorbique
IC50	2.2 ± 0.192	1.130 ± 0.174

Nos résultats indiquent que l'extrait aqueux présente une activité moyenne vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC50 de 2.2 mg/ml. ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Berroune, (2014)**. Ce dernier a constaté que les extraits aqueux a une très faible activité avec IC50 191, 68mg/ml.

Lopes-Lutz et al., (2008), ont confirmé dans une étude faite sur quelques espèces d'*Artemisia* que l'activité antioxydante de ces plantes est faible.

Par ailleurs, (**Suhartono et al., 2012 ; Riahi et al., 2013**), affirment qu'une teneur élevée en phénols totaux et en flavonoïdes des espèces contribue à une activité antioxydante et antiradicalaire ; ces auteurs ont enregistré une corrélation significative entre la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits et l'activité antioxydante estimée par le radical DPPH ce qui a expliqué la faible activité antioxydante de l'extrait grâce à la faible teneur en polyphénols et en flavonoïdes .

I.6. L'activité antibactérienne

I.6.1. Evaluation des activités antibactérienne

Cette partie de notre étude a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne d'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* vis-à-vis quatre souches bactériennes de référence par la méthode de diffusion des disques sur milieu solides (Mueller Hinton), qui est une technique qualitative basée sur la mesure de diamètre de la zone d'inhibition, en millimètre (mm), qui apparaît autour du disque imprégné d'extrait de la plante.



Photo n°03 : Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez l'*E. coli* ATCC 25922 ,pour les trois essais.

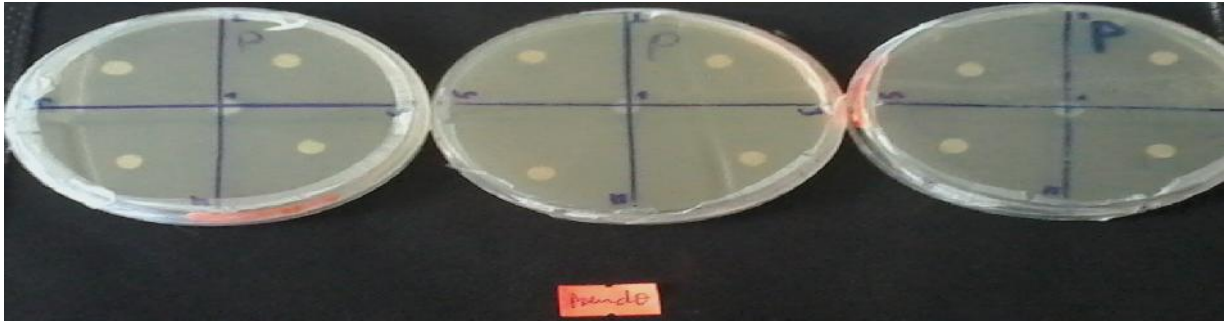


Photo n°04 : Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27893, pour les trois essais.

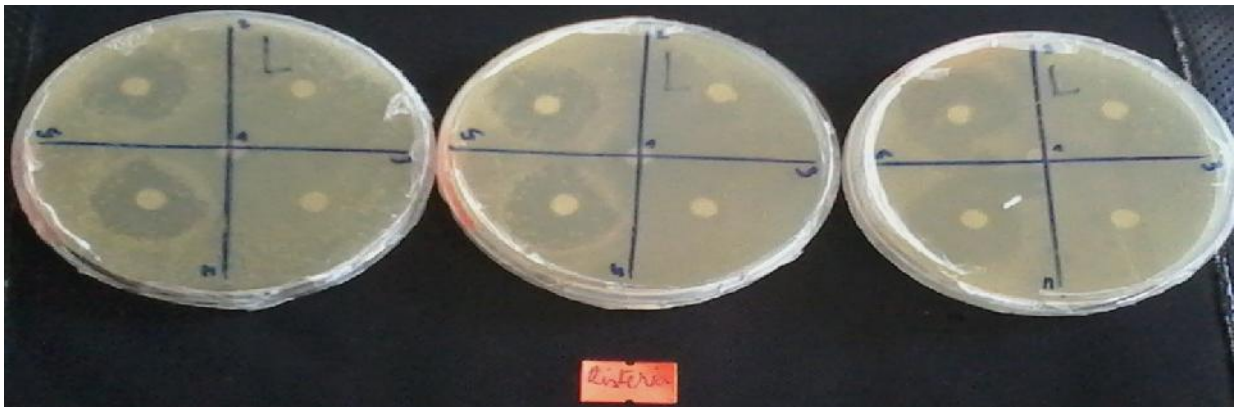


Photo n°05 : Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez *Listeria monocytogenes* ATCC11778, pour les trois essais.

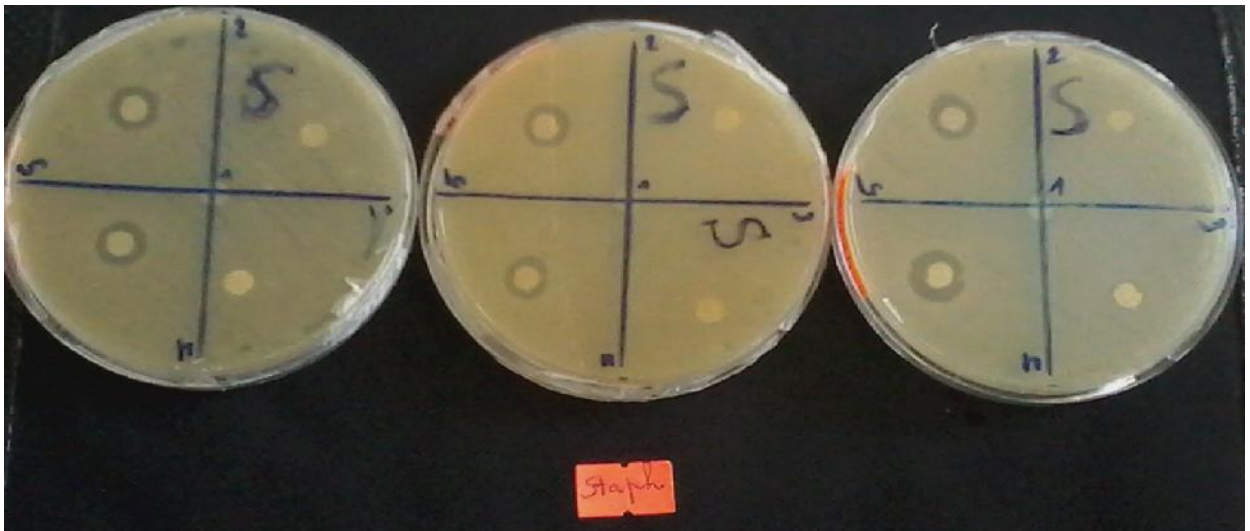


Photo n°06 : Représente la zone d'inhibition d'EQ autour du disque chez *Staphylococcus aureus* ATCC25923, pour les trois essais.

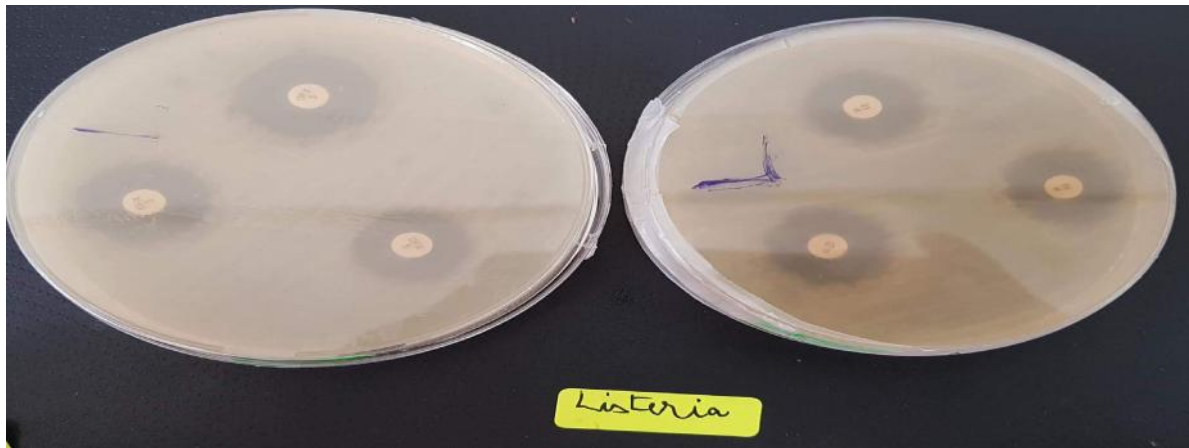


Photo n°07 : Représente la zone d'inhibition d'antibiotique (oflx à gauche et péni à droite) autour du disque chez *Listéria Monocytogène* ATCC11778, pour les trois essais.

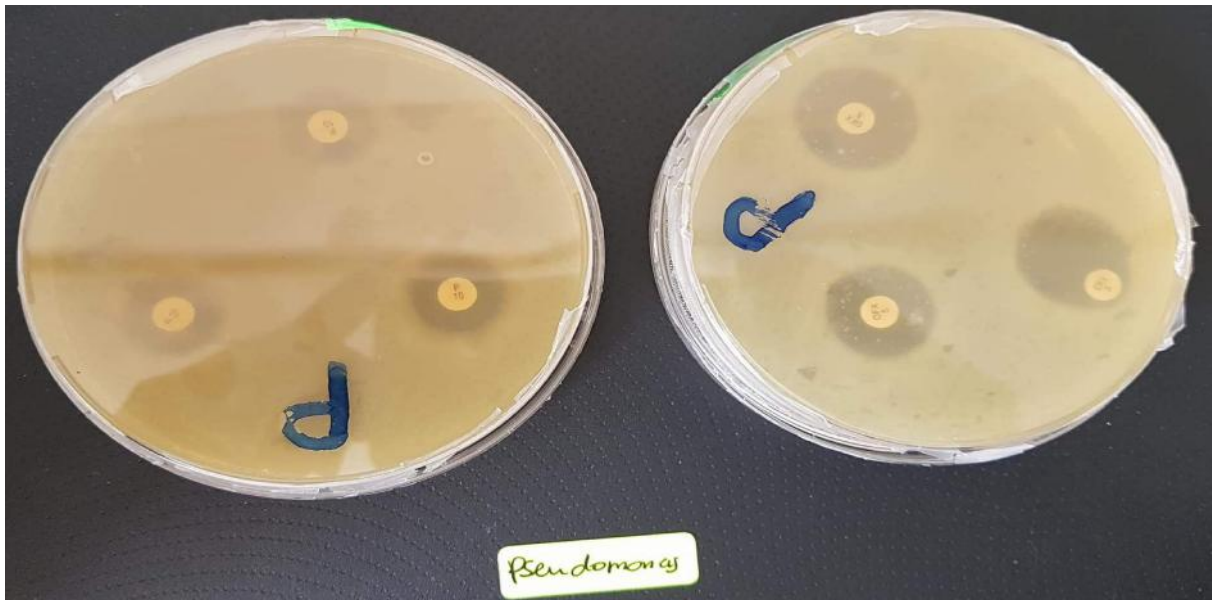


Photo n°08 : Représente la zone d'inhibition d'antibiotique (oflx à gauche et péni à droite) autour du disque chez *Pseudomanece eurogenoca* ATCC27893, pour les trois essais.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition d'extrait aqueux vis-à-vis des bactéries à gram négatif et positif sont illustrés dans **le tableau n°9**.

Tableau n°09 : Diamètres des zones d'inhibition d'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* vis-à-vis les bactéries testé

Les bactéries	Zone d'inhibition EQ (mm)	Zone d'inhibition d'antibiotique (mm)	
		Péni	Oflx
	EQ (4mg/ml)	Péni	Oflx
<i>E.Coli</i> ATCC 25922	0 ± 0	20 ± 0	24 ± 0
<i>Pseudomanece eurogenoca</i> ATCC 27893	0 ± 0	13,3± 0,05	19,3± 0.15
<i>Listéria Monocytogène</i> ATCC 11778	26,33 ± 1,52	20 ± 0	18,33 ± 2,88
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11 ± 1	17,33 ± 1,15	19,33 ± 1,15

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donner par **Mutai et al., (2009)**, ils sont classes les diamètres des zones d'inhibition D de la croissance microbienne en 5 classe :

- très fortement inhibitrice : **D** 30mm
- Fortement inhibitrices : 21mm **D** 29mm
- Modérément inhibitrice : 16mm **D** 20mm
- Largement inhibitrice : 11mm **D** 16mm
- Non inhibitrice : **D**<10mm

Nous remarquons que l'extrait aqueux ne possède aucune activité contre les bactéries gram négatif (*E.Coli*, *Pseudomanece eurogenoca*), par contre il possède une forte inhibition contre *Listéria Monocytogène* avec un diamètre supérieure à 20 mm. Cependant, il montre une large inhibition vis-à-vis *Staphylococcus aureus* avec un diamètre égal à 11 mm.

Tableau n°10 : La sensibilité d'extrait classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20mm (Piochon, 2003).

Souches bactérienne	Extrait aqueux
<i>E.Coli</i> ATCC 25922	-
<i>Pseudomaneca eurogenoca</i> ATCC 27893	-
<i>Listéria Monocytogène</i> ATCC 11778	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+

I.6.2. Résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de microdilution

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testés après 48 heures d'incubation (Wan et al., 1998 ; Canillac et Mourey., 2001).

Nous rapportons dans le **tableau n°11** les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait actif qui est obtenue par la méthode de microdilution en milieu gélosé. Les CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibition, obtenus avec la méthode de l'antibioaromatogramme.

Pour les bactéries, la CMI a été déterminée seulement pour l'extrait le plus actif constaté lors de l'étude en milieu solide (dont les diamètres d'inhibition sont ≥ 20 mm).

Donc on à fait la CMI de *Listéria Monocytogène* ATCC 11778.



Photo n°09 : Représente la préparation de CMI de *Listéria Monocytogène* ATCC 11778.

Les résultats du lecteur de la microplaque sont résumés dans le **tableau n°11** suivant :

Tableau n°11 : Représente les résultats le la lecteur de la microplaque du : EQ et les antibiotiques (Péniciline (Péni) et Ofloxacine (Oflx)).

La bactérie	Les concentrations	½	1/8	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
		4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0,031
<i>Listéria Monocytogène</i> ATCC 11778	EQ	-	-	+	+	+	+	+	+
	ATB. Péni	-	-	-	+	+	+	+	+
	ATB. Oflx	-	-	-	+	+	+	+	+

I.6.3 Détermination de la CMI

Tableau n°12 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI exprimée en mg/ml) de l'extrait aqueux (dont les diamètres des zones d'inhibitions sont 20mm) relatives aux bactéries testées.

Souche bactérienne	CMI de l'extrait (mg/ml)	CMI de l'antibiotique (mg/ml)
<i>Listéria Monocytogène</i> ATCC 11778	2	1

On constate une moyenne inhibition de l'extrait aqueux d'*A. Campestris* par rapport à celle d'antibiotique sur la souche étudié.

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne d'*Artimisia Campestris* (**Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010**).

L'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de la plante du quelle il est issu et de la souche testée (**Klervi, 2005**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactérie Gram (+) par rapport aux Gram(-) (**Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007 ; Shan et al., 2007 ; koné et al., 2004**), ceci peut s'attribuer à la différence dans la couches externe des bactéries Gram(-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle la membrane externe, qui se compose des phospholipide, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence de porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en-dessous de 600 Da. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram

(-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que basse valeurs de PH et concentration accrues en NaCl (**Georgantelis et al., 2007**).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* se révèlent les plus résistantes, cela est liée à sa grande capacité de développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, d'où son implication fréquente dans les infections hospitalières (**Mann et al., 2000**).

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi les résultats (**Natarajan et al., 2005** et **Fazeli et al., 2007**), ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques de *Euphorbia fusiformis* et *Hydro-ethanoliques* de *Rhus coriaria* et *Zatia multifora*, qui la méthode de diffusion en milieu gélosé.

La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, **Rasooli et ses collaborateurs, (2008)**, ont remarqué que l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus parasiticus* est forte lorsque le disque est plus chargé en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et *Trachyspermum Copticum*.

Conclusion

Et perspectives

Conclusion et perspective

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants et les antimicrobiennes.

Dans le présent travail on a effectué l'extraction aqueuse et l'évaluation phytochimique des métabolites secondaires et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne d'*Artemisia campestris* qui est une plante médicinale arbuste aromatique, vivace. Appartenant à la famille des *Asteraceae*, largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle est originaire de la région méditerranéenne. L'estimation quantitative des métabolites secondaires par le screening phytochimique a mis en évidence la présence des composés suivants ; Flavonoïdes, Tanins, Saponosides et Polyphénols.

L'extraction par macération des parties aériennes de cette plante permet l'obtention d'un rendement égale à 20.731 %.

S'agissant des réactions de caractérisation, nous avons révélé la présence des tanins condensés, des saponines. Cependant, les alcaloïdes sont absents dans l'extrait.

L'analyse quantitative d'extraits d'*Artemisia campestris* est représentée par un dosage spectral des polyphénols et des flavonoïdes déterminée par le réactif du Folin – Ciocalcu et par l' AlCl_3 respectivement. La teneur de polyphénols est $75,636 \pm 0,244 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait aqueux, pour les flavonoïdes la teneur est $10,25 \pm 0,033 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait aqueux.

L'analyse de l'extrait par CCM en utilisant le système solvant (Acétone/ eau distillée) (v/v) à permis la séparation des composants d'extrait, qui donne plusieurs types des flavonoïdes (flavonols , flavones , isoflavones , flavonones , anthocyanidine).

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* a été évaluée in vitro par la méthode de réduction de radical libre DPPH, il montre une moyenne activité avec un IC_{50} égale à $(2,208 \pm 0.192 \text{ mg/ml})$ comparable à celle du contrôle positif : acide ascorbique $(1,130 \pm 0.117 \text{ mg/ml})$.

L'évaluation de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) vis-à-vis des 4 bactéries pathogènes :

La meilleure activité antibactérienne a été enregistré contre les bactéries Gram (+) pour une concentration de 2 mg / ml .par ailleurs l'extraits s'est révélés inactifs vis-à-vis les 2 souches bactériennes de Gram (-).

En perspectives, on peut prévoir de réaliser :

- une étude phytochimique approfondie qui consiste en: la purification, l'identification, caractérisation des composés actifs par des techniques chromatographiques et spectrales.
- une étude quantitative pour déterminer les quantités de chaque métabolite secondaire existé dans les plantes.
- Isoler les molécules bioactives responsables des différentes activités biologiques.

Références

Bibliographiques

-A-

Akroum S., 2011 ; Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. 125p.

Akroum A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M., 2001 ; Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* **16**: 337–339.

Akroum A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C., 2011 ; Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* **49**: 342–347.

Amara N., Melouk F.Z., 2016 ; Activité Antimicrobienne des Extraits des Feuilles de la Vigne Sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*). Algerian journal of Natural Products, *4*(3): 358-366.

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

Antwerpe P.V., 2006 ; Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique Ciblage du système Meyloperoxydase / Peroxyde d'hydrogène / Chlorure. Thèse de doctorat. Université libre de Bruxelles. Pp 3-5.

Ayad R., 2008 ; Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.

-B-

Badiaga M., 2011 ; Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

Bakchich B., Gherib A., Aazza S., Gago C., Graça Miguel M., 2013 ; Antioxidant activities of eight Algerian plant extract and tow essential oils, *Industrial Crops and Products*, vol46, p-p 85-96.

Bastos D. H., Saldanha L.A., Catharino R.R., Sawaya A., Cunha I.B., Carvalho P.O., and Eberlin M.N., 2007 ; Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilexparaguariensis*) and green tea (*Cameliasinensis*) extracts. *Molecules.* **12**(3):423-432.

Belbache H., 2003 ; Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora Desf*, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.

Ben Rhouma-Martin G., 2013 ; Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires.

Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M., 2007 ; Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. J. Pharmaco. Bio. 45 (5): 421–428.

Benaissa O., 2011 ; Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.

Benkherara S., Bordjiba O., Boutlelis Djahra A., 2011 ; Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la *Sauge officinale* sur quelques entérobactéries pathogènes. Université Badji Mokhtar, BP12, Annaba 23000, Revue Synthèse (23). 107p.

Benmehdi A., 2001 ; Identification des principes actifs des extraits des plantes médicinales. Phytochimie. 6: 11 -27.

Berroune A., 2014 ; Etude de l'effet protecteur de l'extrait d'*Artemisia Campestris* sur le stress oxydant induit chez le rat tétrachlorure de carbone (CCL₄), mémoire de magister en sciences Agronomiques. Ecole Nationale supérieurs Agronomique El-Harrach-Alger. pp87-90.

Bidri M., Choay P., 2017 ; Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux aux multiples propriétés. Phytothérapie, 15(2): 91 -103.

Boizot N., Charpentier J., 2006 ; Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008); 79-82.

Botineau M., 2010 ; Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Tec et Doc / Lavoisier 1336 p.

Boulahbal F., 1993 ; Microbiologie clinique .Ed .Ben-aknoun O P U.169p.

Boutakiout A., 2015 ; Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (*Opuntia ficusindica* et *Opuntia megacantha*).Ingénierie des aliments. Université d'Angers; Université Sultan Moulay Slimane (Maroc).

Bouzghaia B., 2013 ; Etude phytochimique de la plante *Bassia muricata*, mémoire de magister, Université Hadj Lakhdar, Batna, 95p.

Bouزيد M.A., 2014 ; Exercice physique, marqueurs antioxydants et peroxydation lipidique: effets de l'âge et du niveau d'aptitude physique. Thèse de doctorat en physiologie, université de Lille 2, Lille.

Brunet S., 2008 ; Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse (Dr. Pathologie et Nutrition), Toulouse : Université Paul Sabatier, 246 p.

Bruneton J., 2009 ; Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p.

Bruneton J., 1999 ; Pharmacognosie, Phytochimie Plantes médicinales 3 ème Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

Bssaibis F., Gmira N., Meziane M., 2009 ; Activité Antibactérienne de *Dittrichia viscoa* (L.). W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*. 3: 44-45.

-C-

Canillac N., and Mourey A., 2001 ; Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol*. 18: pp. 261-268.

Carange J., 2010 ; Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Mémoire présenté à l'université du Québec à troisrivières comme exigence partielle de la maîtrise en biophysique et biologie cellulaires.

Caratini R.,1971 ; Bordasencyclopedia. Ed Bodas. Belgique. 23: 137-195.

Chahine N., 2014 ; Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse en cotutelle de Docteur en physiopathologie, Université de Reims Champagne-Ardenne et l'Université Libanaise.

Cehma A., 2006 ; Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ed. Dar Elhouda Ain M'lila. ISBN : 9947-0-1312-X. P : 14 – 20 – 109.

Cheurfa M., Allem R., Zabel K., Aichouni W., Medjkane M., 2017 ; Étude des effets des extraits des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et *Ziziphus lotus* L. sur quelques bactéries pathogènes de l'Homme. *Phytothérapie*, p 1 -7.

Cheurfa M., Allem R., 2016 ; Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloisia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3): 181 -187.

Choi Y., Noh D., Cho S., 2006 ; Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT - Food Science and Technology*. 39: 756–61.

Ciulei I., 1982 ; Praticalmanuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants, Methodology for analysis of vegetable drugs Ed, ministry of Chemical industry, Bucharest. 67p.

Corona G., 2011 ; Seaweed polyphenols: bioavailability and Healthy benefits. Bioactive from Seaweed, and Innovative Ingredients in Salt Reduction, p 5.

-D-

De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R and Bellid I.S., 1984 ; Phenolic derivatives from *Artemisia campestris Subsp Glutinosa*. *Phytochemistry*. 23 (8): 1819-1821.

Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont- Rousselot D., 2005 ; Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris : La voisier, 45-80.

Diharce J., 2014 ; Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes. Autre. Université Nice Sophia Antipolis.

Djemoui D., 2012 ; Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée. 53p.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., and Vidal N., 2006 ; Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. 97(4):654-660.

Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Vidal N., Lesgards J.F., and Stocker P., 2007 ; Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity .*Eur. Food Res. Technol.* 224: 801 – 809.

Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C., 2005 ; Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514.

Dohou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A ., G mira N., 2003 ; Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides*.*Bull.Soc, Pharm.Bordeaux.142:61 -78.*

Donrop A.M., Day N.P., 2007 ; The treatment of severe malaria.*trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*101: 633-634.

Doughari J., Pukuma M., De N ; 2007. Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*. *African Journal of biotechnology*. 6: 2212 – 2215.

Dramane S., et al ., 2010 ; Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire ; *Euro Journal of Scientific Research* 40 (2) ; p: 307-317.

Dröge W ., 2002 ; Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. 82(1): 47-95.

Dupont F., Guignard J.L ., 2012 ; Botanique: Les familles des plantes. Elsevier Masson, 15^{ème} édition, 336 p.

-E-

Elbahri et al., 1997 ; *Artemisia campestris* L : a poisonous plant of north africa. *Vethumantoxicol* 39.

-F-

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., 2008 ; Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C.R.Biologies*.331:372-379.

Fang Y.Z., Yang S., Wu G., 2002 ; Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18: 872–879.

Favier A ; 2003 ; Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*. 108-13.

Fazeli M.R., Amin G., Ahmadian-Attari M.M., Ashtiani H., Jamalifar H., Samadi N., 2007 ; Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control*.

Floss H.G., 1997 ; Natural products derived from unusual variants of the Shikimate pathway. *Natural Product Repts.*, 14 : 433-434.

-G-

Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., Georgakis S.A., 2007 ; Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. Pp172-181.

Ghnimi W., 2015 ; Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acetylcholinestérase. Université de Lorraine.

Gomez-Caravaca A. M., Gomez-Romero M., Arr_Éez-Rom_Én D., Segura-Carretero A., and Fern_Éndez-Guti_Ñrrez A., 2006 ; Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharm. Biomed. Anal* ; 41: 1220-1234.

Guédé-Guina F., Vangah-Manda M., Harounad D., Bahi C., 1996 ; Potencies of MISCA a plant source concentrate against fungi *J. of Ethnopharmacol* . 14(2): 45-53.

-H-

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P., 2007 ; Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10): 628-38.

Halliwell B., 2013 ; The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol.* 75(3):637-44.

Halliwell B., 1997 ; Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev.* 55: 44-49.

Halliwell B., and Wiseman H., 1996 ; Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal.* 313(1) :17.

Hambaba L., Boudjellal K., Abdeddaim M., Aberkane M., Boudiaf K., 2012 ; Étude *in vitro* des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia L.* *Phytothérapie.* 10 : 350-356.

Hammoudi R., 2009 ; Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la région Tamanrasset. Diplôme de magister .Université d'Ouargla. 130 p.

Harrar A., 2012 ; Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* mémoire de magister en Biochimie et physiologie expérimentale.

Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi., M., 2007 ; The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts. *Food Chem.* (in press).

Heinonen M., 2005 ; Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53(15) :5922-5931.

Herbert R.B., 1989 ; The Biosynthesis of secondary metabolites. 2ème édition Chapman and Halle p 2, 11-115.

Hierso R., 2015 ; Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drepanocytose : crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge. Mémoire de doctorat en sciences de la vie, université des Antilles et de la Guyane.

Howes R.M., 2006 ; The free radical fantasy: a panoply of paradoxes. Ann NY Acad Sci. 1067: 22-6.

Humblet M.F., Godeau J.M., 2005 ; L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine, Ann. Méd. Vét., 2005, 149, 20-33.

Humblet M.F., Godeau J.M., 2005 ; L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine, Ann. Méd. Vét. 149: 20-33.

-J-

Joa O., Vasconcelos., Artur M and Jose A.. 1998 ; Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp Maritima. Phytochemistry. 49 (5):p1421-1424.

Johnson R.J., & Sautin Y.Y., & Oliver W.J., & Roncal C., & Mu W., & Gabriela Sanchez Lozada L., & Rodriguez-Iturbe B., & Nakagawa T., & Benner S.A., 2009 ; Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? J Comp Physiol B. : 179:67-76.

Juteau F., Masotti V., Bessière J.M., Viano J., 2002 ; Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. Bioch. Syst. Ecol. (30): 1065-1070.

-K-

Kanoun K., 2011 ; Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magistère en Biologie. Université de Tlemcen.

Kehili N., Saka S., Aouacheri O., 2017 ; L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. Phytothérapie, p 1 -10.

Khanbabae K and Ree T.R., 2001; Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Khenaka K., 2011 ; Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine. p19, 24.

Klervi L.L., 2005 ; Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différentes espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). 210p.

Knight T.R., Kurtz A., Bajt M.L., Hinson J.A., Jaeschke H., 2001 ; Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen-induced liver injury: role of mitochondrial oxidant stress. *Toxicol Sci.* 62: 212–220.

Koné W.M., Kamanzi Atindehou K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D., Dosso M., 2004 ; Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for

Krief S., 2003 ; Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

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

Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K., 2007 ; Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361.

-L-

Lobstein A. 2010 ; Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3- 25.

Lopes-Lutz D., Alviano D. S., Alviano C. S., and Kolodziejczyk P. P., 2008 ; Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry.* 69(8):1732-1738.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K and Biro L., 2003 ; The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. zegediensis.* 47 (1-4):119-125.

-M-

Maataoui B.S., and Hmyene A., et Hilali S., 2006 ; Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie *Opuntia ficus indica*. *Lebanese Science Journal*, 7(1) :3-8.

Malbert Y., 2014 ; Flavonoïde glucodiversification with engineered sucrose-active enzymes. *Biotechnology.*

Malecky M., 2005 ; Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.

Mamadou B., 2002 ; Actions pharmacologiques des tanins .Thèse de doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar.53p.

Mann C.M., Cox S.D., Markham J.L., 2000 ; The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to the essential oil of *Mela-leuca alternifolia* (tea tree oil). Lett Appl Microbiol 30 :294.

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., 2005 ; Phenolic profile and antioxydante activity of the Algerian ripe date palm fruit (phoeniex dactylifera).Food Chem, 89(3) ; p : 411-420.

Marfak A., 2003 ; Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation *de* depsides (doctoral dissertation, cea saclay).

Martin S., Andriantsitohaina R., 2002 ; Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51** : 304–315.

Mauro N.M., 2006 ; Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

Mebarki N., 2010 ; Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application a la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara Boumerdes. 11p.

Memmi A., Sansa G., Rjeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z., and Fekhih A., 2007 ; Use of medicinal plants against *scorpionic* and *ophidian*venoms.*Arch. Inst. Pasteur.Tunis*. 84 (1-4): 49-55.

Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reis A.S., Santos T.C., Coube C.S., and Leitão S.G., 2001 ; Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*. 15(2):127-130.

Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reis A.S., Santos T.C., Coube C.S., and Leitão S.G., 2001 ; Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*. 15(2):127-130.

Merabet C., & Menaifi H., 2015 ; Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce: *Myrtus communis* L.

Mirjalili M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli A., 2007 ; Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 19 : 326–329.

Mohammedi Z., 2006 ; Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 105p.

Moussaoui B., 2010 ; Etude de l'effet de l'extrait de la plante médicinale *Artemisia campestris* sur les cellules tumorales et son rôle dans la protection du stress oxydatif induit par le cisplatine. Laboratoire de biologie et environnement ; Université de Constantine.

Mucciarelli M., and Maffei M., 2002 ; *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.

Muhammad D., 2013 ; Étude phytochimique et biologique des trois *Alphitonia* (*Rhamnaceae*) endémiques à la Nouvelle-Calédonie. Mémoire de doctorat en pharmacie. Université de Reims Champagne, Ardenne.

Mutai C., Bii C., Vagias C., Abatis D., Roussis V., 2009 ; « Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupanetripenes »; *Journal of Ethnopharmacology*.

-N-

Nacz M., Shahidi F., 2004 ; Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054 : 95–111.

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

Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C., Perumal G., 2005 ; Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. J Ethnopharmacol.

Neffar F., and Benabderahmane Z., 2013 ; Quantification des Huiles Essentielles dans deux Espèces de Romarin (*Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus tournefortii*) au niveau de Djebel Metlili (Batna). *Revue Agriculture*. 05 : 19 – 23.

-O-

Ozenda P., 1977: Flore du sahara. - Editions du CNRS. France. 622 p.

-P-

Pavela R., 2009 ; Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). J. Parasitol Res.105: 887 892.

Pessel F., 2013 ; Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisées par le glucose comme antioxydants potentiels. Autre. Université Paris Sud - Paris XI.

Pincemail j., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne j.O., 2002 ; Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. Nutrition clinique et métabolisme. 16: 233 – 239.

-R-

Rakotonanahary M., 2012 ; Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., Rezaei M.B., 2008 ;

Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M.S., Gonzalez A.G., and Bermejo J.B., 1998 ; Flavonoids from *Artemisia campestris* Sub sp Maritima. *Phytochemistry*. 28(8) :2173-2175.

Renault-Roger C., & Philogene B.J.R., & Vincent C., 2002 ; Biopesticides d'origine végétale. Edition Tec & doc, p.337.

Riahi L., Chogran H., Elferchichi M., Zaouali Y., Zoghلامي N., Mliki A., 2013 ; Variation In tunisia Wormwood Essential Oil Profiles And Phenolic contents Between Leaves And

Flowers And Their Effects On Antioxydant Activities. *Industrial crops and Product* ,n° 46,p-p 290-296.

Romero M.R., Efferth T., Serrano M.A., Castano B., Macias R.I., Briz O ., and Marin J., 2005 ; Effect of artemisininartesanate as inhibitors of hepatitis B virus production in an in vitro system. *antivir Res.* 68: 75-83.

Rosine C., Momo D., 2009 ; Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*acalyphamma hirtum* (melastomatacees). Université de Dschang – Master en biochimie clinique et pharmacologie.

-S-

Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A., 2010 ; Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephaluslagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.*62:601–605.

Sefi M., Fetoui H., MakniM., and Najiba Zeghal N., 2010 ; Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.*48: 1986–1993.

Shan B., Cai Y.Z., Brooks J.D., Corke H., 2007 ; The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology.* 117: 112-119.

Sine J.P., 2003 ; Séparation et analyse des biomolécules: méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses editions marketing, pp 99-101.

Suhartono E., Viani E., Apriyansa Rahmadhan M., Syahuri Gultom I., Rakhman M.F., Indrawardhana D., 2012 ; Total Flavonoid and antioxydant Activity Of Some selected medicinal Plants In South Kalimantan Of Indonesian. *APCBEE Procedia* , vol 4,p-p 235-239.

-T-

Tabuti J.R.S., Lye K.A. & Dhillion S.S., 2003 ; Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacology* 88: 19-44.

Tapieroh T., Nguyen B., and Mathé G., 2002; Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies Biomed.pharmacother (cited in Djemai Zoueglache S, 2008). 56: 200-207.

Temani., 2005 ; In el Watan quotidien national du 10.070.2005.

Tirichine H ., 2010 ; Etude ethnobotanique, activité antioxydant et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) du Sud-Est algérien. Mémoire de master en Ecophysiologie végétale, Université d'Oran, p : 14.

Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., Polat G., 2007 ; Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. 12:484-496.

-V-

Valant-Vetschera K.M., Fischer R., and Wollenweber E., 2003 ; Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (*Asteraceae-Anthemideae*): new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* 31: 487-498.

Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M.M., and Mazur M., 2006 ; Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 160(1) :1-40.

Vuorela S., Kreander K., Karonen M., Nieminen R., Hämäläinen M., Galkin A., Laitinen L., Salminen J., Moilanen E., Pihlaja K., Vuorela H., Vuorela P., and Wagner H., Bladt S., 1996 ; Plant druganalysis: athinlayer chromatography atlas. Springer Science and Business Media. 384p.

Vuorela S., Kreander K., Karonen M., Nieminen R., Hämäläinen M., Galkin A., Laitinen L., Salminen J., Moilanen E., Pihlaja K., Vuorela H., Vuorela P., and Heinonen M., 2005 ; Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine barkphenolics for health related effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(15) :5922-5931.

-W-

Wagner H., Bladt S., 1996 ; Plant druganalysis: athinlayer chromatography atlas. Springer Science and Business Media. 384p.

Wan J., Wilcock A., and Coventry M.J., 1998 ; The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: pp. 152.

Wiernsperger N.F., 2003 ; Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab.* 29: 579-85.

Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., and Chen F. 2006 ; Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *12* :120-130.

-x-

Xie D., Dixon R., 2005 ; Proanthocyanidins biosynthesis-still more question than answers. *Photochemistry.* 66:p 2127-2144.

-y-

Yezza S., & Bouchama S., 2013 ; Index des métabolites secondaires végétaux.

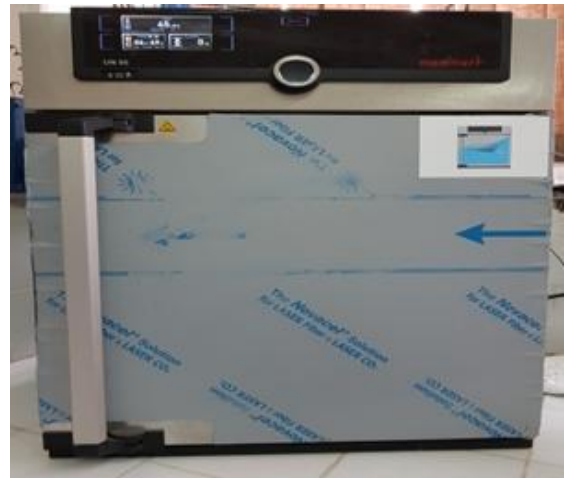
Yrjönen T., 2004 ; Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products. *Dissertationes, Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis.* Pp 32-64.

Annexe

Annexe 01 :



Vortex



Etuve

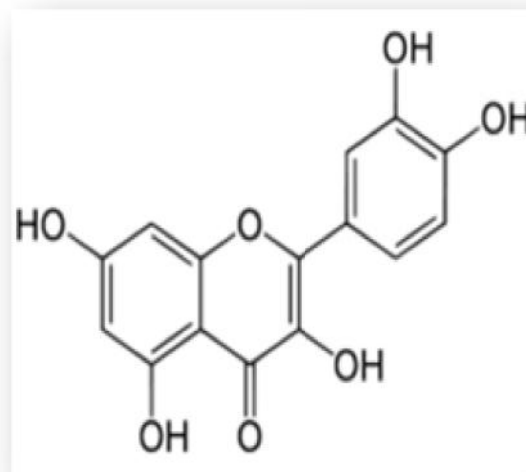


Spectrophotomètre

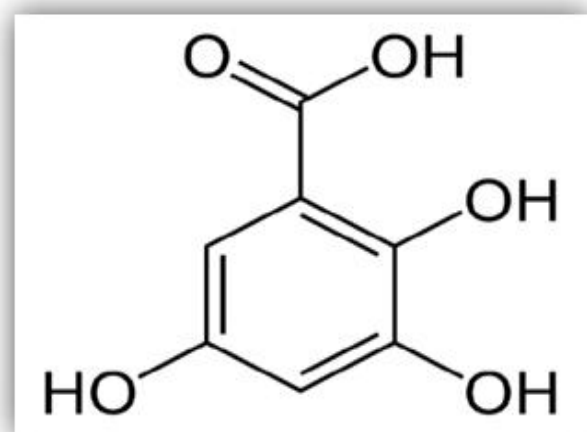


Chambre UV

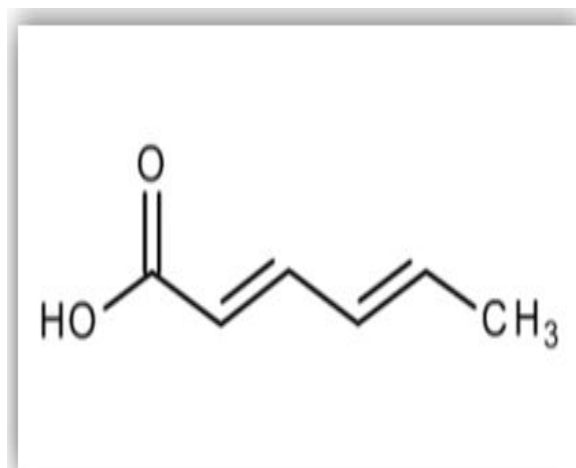
Annexe 02 :



Structure chimique de Quercétine

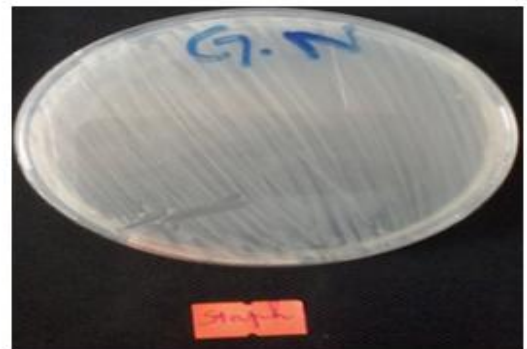
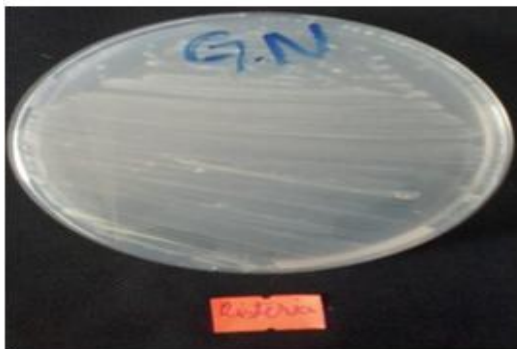
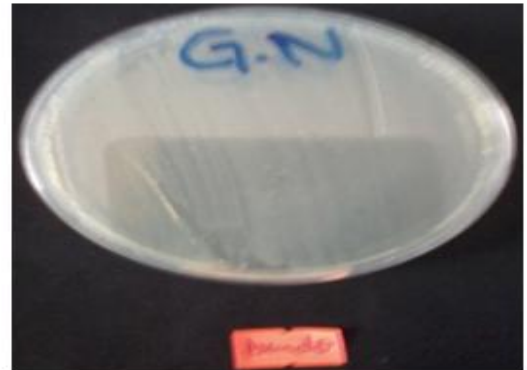
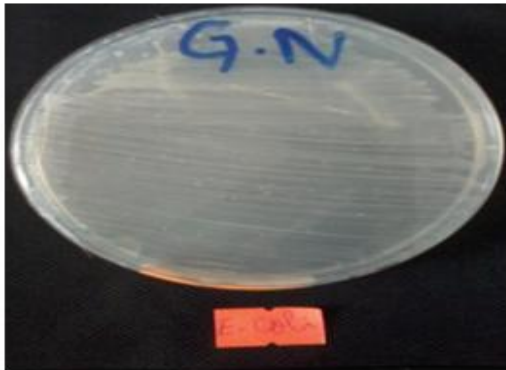


Structure chimique de l'acide gallique

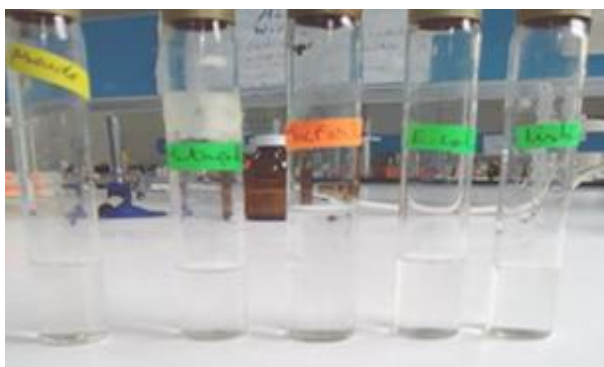


Structure chimique de l'acide ascorbique

Annexe 03 :



Repiquage des bactéries dans des boîtes de pétri contenant Gélose Nutritive (GN).



Comparaison de MC Farlan Avec Les Suspensions

Noms et prénoms :

M^{me} .MEZIANI KARIMA
M^{lle} .BOUSSAÂDA LOUBNA

Soutenu le : 21 JUIN 2018

Master: Biochimie Appliquée

Thème

**Etude phytochimique et activité biologique de la plante médicinale
(*Artemisia campestris L*)**

Résumé

Artemisia campestris est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracée*, cette espèce connue sous le nom de « Tgouft », est très répandue dans le sud algérien. L'extraction aqueuse des parties aériennes de cette plante par macération permet à l'obtention d'un rendement égal à 20,731 %.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par les réactifs du Folin-Ciocalciu et trichlorure d'aluminium respectivement. La teneur en polyphénols et en flavonoïdes est de $75,636 \pm 0,244$ µg EAG/mg d'extrait aqueux, $10,25 \pm 0,033$ µg EQ/mg d'extrait aqueux respectivement.

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

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH est efficacement inhibée par l'extrait aqueux IC₅₀ égale à ($2,208 \pm 0,192$ mg/ml) comparable à celle du contrôle positif : acide ascorbique ($1,130 \pm 0,117$ mg/ml).

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par l'extrait aqueux sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Listéria monocytogène* ATCC 11778 est de 2 mg/ml. L'extrait aqueux a un effet sur les bactéries testées sauf sur *E.colie* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893.

Mots clés : Activité antibactérienne, Activité antioxydante, *Artemisia campestris*,
Extrait aqueux, Flavonoïdes, Polyphénols,