

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

Université Blida 1  
Faculté des Sciences de la Nature et la Vie  
Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de  
Master en Science de la Nature et de la Vie  
Option : Phytothérapie et Santé

## THEME

**Etude de quelques activités biologiques (Anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne) de l'armoise rouge (*Artemisia campestris L.*) récolté dans la région de Djelfa**

Présenté par

Dzanouni Sara

Mellouli Hafsa

Date de Soutenance  
25/09/2016 à 09:00 h

Devant le jury composé de :

Mme Takarli S.	MAA	Université Blida 1	Présidente
Mr. Rouibi A.	MCA	Université Blida 1	Examineur
Mme Cherif H.S	MCA	Université Blida 1	Promotrice
Mme Ben Mansour N.	MCB	Université Blida 1	Co-Promotrice
Mme Azine K.	DES	C.R.D El Harrach	Co-promotrice

🌀 Promotion: 2015-2016 🌀

# Remerciement

*Nous remercions avant tout ALLAH- le tout puissant- de nous avoir guidées durant toute notre formation.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à Mme Cherif, enseignante à la faculté de science de nature et de la vie, Université de Blida 1 pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordée pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier Mme Ben Mansour, pour ses orientations sa patience et ses conseils extraordinaires qui ont permis l'achèvement de cette étude.*

*Nous remercions Madame Takarli de nous avoir honoré de présider notre jury de soutenance.*

*Nous remercions Monsieur Rouibi, qui a bien voulu examiner ce manuscrit et pour sa présence parmi les jurys.*

*Nous tenons à remercier Mme Azine, Mme Oucenna ainsi que l'ensemble du personnel du Laboratoire de pharmaco-toxicologie de centre de recherche et de développement, pour leur convivialité, et disponibilité.*

*Nous tenons à remercier Mr Smail, Mme Ayachi ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie de centre de recherche et de développement, pour leur convivialité, et disponibilité.*

*Nous tenons à remercier Mme Iziti Amel ,pharmacienne coordinatrice ,responsable du département de toxicologie criminalistique ;laboratoire central de la police scientifique et thechnique et ainssi Mme Abdelaziz Radia comptable hôpital de la sûreté national pour nous avoir aidé énormément.*

*Nous tenons particulièrement à exprimer notre gratitude à Mme Akacem Fatoum et Mr Hazzit Mohamed , pour leur précieuse aide.*

*Nos remerciements iront également à nos très chers amis, Amrouche Hassen, Kebal Leila et Ferrane Amel.*

## *Dédicace*

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

*Je tiens à dédier ce modeste travail à :*

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

*A ma mère Fatma zohra qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de ma profonde gratitude*

*Mon père Abdelhamid, qui peut être très fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans ma vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent provenant de toi.*

*Ma chère sœur Nawel.*

*Mes frères, Imad et Ayoub.*

*Mon cher petit et adorable neveu Iyad.*

*A ma grand-mère qu'Allah la garde*

*A mes tantes et oncles*

*Ceux qui m'ont toujours aimés, encouragés, aidés et soutenus tout le long de ma vie.*

*A ma binôme Mellouli Hafsa, ainsi qu'à toute sa famille.*

*A tous mes amis(e) qui ont été toujours près de moi dans les moments de peine et les moments de joie : Notamment :Asma, Leila, Amel, Imane, Zohra, Hadjira, kikina, Hassen, Lyes, Amine, Abdellah, Zinou....*

*A toutes les personnes que j'ai connues.*

*A tous mes enseignants et enseignantes du Département de biologie.*

*Sara*



## *Dédicace*

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

*A ma grand- mère Aicha qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie ainsi qu'à la mémoire de mon grand-père adoré Messaoud.*

*À tous mes frères et sœurs, surtout Soumia et khadidja*

*A mes tantes Hassina , Saliha , Samira , Zouhra , Naima, Fatiha et Ratiba*

*A mon fiancé Ahmed et à toute sa famille*

*A mes oncles et leurs femmes Nawel , Radia, Nabila Imen et Meriem*

*A ma binôme Sara, qui m'a donnée la force et l'encouragement pour terminer ce travail , ainsi qu'à toute sa famille.*

*À mes cousines Hafsa , Fareh , Ikrem et Houda*

*A tous mes amis sans exception en particulier Amel et Leila*

*Hafsa*



## Listes des tableaux

**Tableau 1** : Systématique de la plante.

**Tableau 2** : Teneur en polyphénols, de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.*

**Tableau 3** : Principaux flavonoïdes rencontrés chez *Artemisia campestris L.*

**Tableau 4** : Etude ethnopharmacologique d'*Artemisia campestris L.* (selon la médecine traditionnelle).

**Tableau 5** : Les souches ATCC utilisées dans l'étude antimicrobienne.

**Tableau 6** : Propriétés organoleptiques d'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.*

**Tableau 7** : Caractères organoleptiques des huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.*

**Tableau 8** : Résultats de screening phytochimique.

**Tableau 9** : Diamètres des zones d'inhibition obtenues par HE et les deux extraits (aqueux et éthanolique) d'*Artemisia campestris L.*

**Tableau 10** : Moyennes des pattes gauches et droites des 3 lots de souris.

**Tableau 11**: pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des 3 lots de souris.

**Tableau 10** : Moyennes des pattes gauches et droites des 3 lots de souris.

**Tableau 11**: pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des 3 lots de souris.

**Tableau 12** : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de vitamine C.

**Tableau 13** : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.*



## Listes des figures

- Figure 1 :** Touffe d'*Artemisia campestris L.* Station Djelfa
- Figure 2 :** Les différentes parties d'*Artemisia campestris L.*
- Figure 3 :** Séchage de l'armoise rouge.
- Figure 4 :** Dispositif Soxhlet.
- Figure 5 :** Montage de l'appareil de distillation Clevenger.
- Figure 6 :** Gavage gastrique de l'extrait aqueux de la poudre d'*A.compestris L.*
- Figure 7 :** Forme libre et réduite du DPPH.
- Figure 8 :** Préparation des dilutions.
- Figure 9 :** Préparation des suspensions microbiennes.
- Figure 10 :** Illustration de la méthode de l'aromatogramme.
- Figure 11 :** Histogramme : moyennes des pattes gauches et droites des 3 lots de souris.
- Figure 12 :** Histogramme : pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des 3 lots de souris.
- Figure 13 :** Graphe : variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de vitamine C.
- Figure 14:** Graph : variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.*
- Figure 15 :** Etapes de préparation de l'extrait aqueux « infusé ».
- Figure 16 :** Identification de quelques composés chimiques.
- Figure 17 :** Etapes de déroulement de l'activité anti- inflammatoire.
- Figure 18 :** Etapes de déroulement de l'activité anti- oxydant.
- Figure 19 :** Etapes de déroulement de l'activité anti-bactérienne.

# TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

## Chapitre I : *Rappel bibliographique*

I.1 Généralités.....3

I.2 Description botanique.....4

I.3 Systématique de la plante.....5

I.4 Etymologie .....6

I.5 Origine et distribution.....6

I.6 Composition chimique.....7

I.7 Utilisation traditionnelle d'*Artemisa campestris*L.....8

I.8 Les activités biologiques.....10

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....13

II.1.1 Matériel non biologique .....13

II.1.2 Matériel biologique.....13

IV.2 Méthodes .....15

IV.2.1 Séchage et broyage.....15

IV.2.2 Etude phytochimique .....16

A. Préparation des extraits .....16

A.1 Extrait aqueux.....16

A.2 Extrait éthanolique .....16

A.3 Extraction de l'huile essentielle.....	18
B. Screening chimique.....	20
II.2.3 Evaluation des activités biologiques .....	22
A. Activité anti inflammatoire .....	22
B. Evaluation de l'activité antioxydante .....	24
C. Evaluation de l'activité anti-microbienne .....	27
 <b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1 Extraction et rendement.....	30
III.1.1 Rendement de l'extrait éthanolique.....	30
III.1.2 Propriété organoliptiques et rendement de huile essentielle extraite.....	30
III.2 Résultats de l'étude phytochimique .....	31
III.3 Détermination des activités biologiques.....	33
III.3.1 Activité anti-inflammatoire .....	33
III.3.2 Activité antioxydante .....	35
III.3.3 Activité antimicrobienne.....	37
 <b>Conclusion.....</b>	 40
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>42</b>
<b>Annexes</b>	

## **Résumé**

Notre travail vise l'étude phytochimique et l'étude des activités biologiques (anti-inflammatoire, antioxydante et antimicrobienne), d'extraction aqueuse, éthanolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* récoltée au mois de septembre (2015) dans la région de Hadd Shari (wilaya de Djelfa).

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée sur la matière sèche de la partie aérienne de la plante étudiée par la méthode d'hydrodistillation au moyen d'un appareil de type Clevenger et a donné un rendement de **2,9%**.

L'étude phytochimique de l'extrait aqueux de la plante a révélé la présence de certains principes actifs tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides qui pourraient être à l'origine des effets anti-inflammatoire, anti-oxydantes et antimicrobiennes.

L'infusé de la plante (**772 mg/kg**) présente une activité anti-inflammatoire (pourcentage de réduction de l'œdème **63.69%** en comparaison avec **73,98%** chez le lot de référence) sur des souris albinos.

L'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl picrylhrazine jaune coloré avec un IC50 de **0,280 µg /ml.** Il inhibe une action antioxydant importante, cependant elle est inférieure à celle de la vitamine C (**0,165 µg/ml**).

L'activité antimicrobienne a révélé que les bactéries Gram + et surtout *Staphylococcus aureus* se montrent fortement sensibles à l'encontre d'extrait éthanolique au **DI= 25,5 mm** et d'huile essentielle au **DI= 27,5 mm** par rapport au Gram – qui révèlent légèrement sensible vis-à-vis des 2 extraits et d'huile essentielle.

**Mots clés :** *Artemisia campestris L.*, huile essentielle, extrait éthanolique, extrait aqueux activités biologiques (Anti inflammatoire, anti-oxydante, antimicrobienne).

## ملخص

عملنا هو دراسة التركيب الكيميائي للنبات ودراسة النشاطات البيولوجية (المضادة للالتهابات، ومضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات)، والاستخلاص المائي، والإيثانولي و استخلاص الزيت الاساسي لنبات الشيح الاحمر المقطوف في سبتمبر (2015) من منطقة الحد السحاري ولاية الجلفة.

تم إجراء استخراج الزيت الاساسي من المادة الجافة للجزء العلوي للنبتة المدروسة بطريقة التقطير بالبخار و ذلك باستخدام جهاز نوع Clevenger الذي اعطى عائد بنسبة %2.9

كشفت دراسة التركيب الكيميائي للمستخلص المائي للنبات وجود بعض المكونات النشطة مثل الفلافونويد ، السابونين التي يمكن أن .الخصائص المضادة للالتهابات، والمضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات.

مغلي النبات (772 ملغ / كلغ) لديه نشاط مضاد للالتهابات (تخفيض نسبة الادمة %63.69 مقارنة مع %73.98 للحيوانات المرجعية) على فئران التجارب البيضاء.

المستخلص الايثانولي للنبات يمكن أن تقلل من نسبة الجذور الحرة و جعلها مستقرة الا انه اقل نجاعة من النشاط المضاد للاكسدة الموجود في الفيتامين س

وكشف النشاط المضاد للميكروبات ان البكتيريا ذات غرام + وخاصة المكورات العنقودية هي الاكثر هشاشة و حساسية امام المستخلص الايثانولي للنبات مقارنة بالغرام - التي اظهرت حساسية طفيفة مقابل الزيت الاساسي و المستخلصين المائي و الايثانولي

كلمات البحث :

الشيح الاحمر، الزيت الاساسي، المستخلص المائي، المستخلص الايثانولي، النشاطات البيولوجية (المضادة للالتهابات، ومضادات الأكسدة، المضادة للميكروبات).

## ***Abstract***

Our work aim at the study of phytochemical and the study of biological activity (anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial), aqueous extraction, ethanolic and the essential oil of *Artemisia campestris L.* harvested in September (2015) area Hadd Shari (province of Djelfa).

The extraction of the essential oil was performed on the dry matter of the aerial part of the plant studied by the method of steam distillation using a Clevenger type apparatus and a yield of 2.9%.

The phytochemical study of aqueous extract of the plant revealed the presence of some active principles such as flavonoids, tannins, saponoside that could cause anti-inflammatory antioxidant and antimicrobial effects.

The plant infusion (772 mg / kg) has an anti-inflammatory activity (percentage reduction of edema 63.69% compared with 73.98% for the reference batch ) on albino mice.

The *Artemisia campestris L.* ethanol extract could reduce the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in diphenyl colored yellow picrylhrazine with an IC<sub>50</sub> of 0.280 g / ml. It inhibits a substantial antioxidant action, however it is inferior to those of vitamin C (0.165 mcg / ml).

The antimicrobial activity revealed that Gram (+) and especially *Staphylococcus aureus* show they are highly sensitive against the ethanol extract DI = 25.5 mm and essential oil in DI = 27.5 mm from the Gram (-) reveal they are slightly sensitive with regard to the two extracts and essential oil.

**Keywords:** *Artemisia campestris L.*, essential oil, ethanol extract, aqueous extract biological activities (Anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial).

### 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 métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et dans des cellules spécifiques de la plante (**Maurice, 1997**).

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 (**Teixeira da Silva, 2004**).

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 L.* Cette plante est largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. Elle constitue le sujet de plusieurs études qui ont déterminé leurs compositions chimiques (**De Pascual et al .,1984 ; Rauter et al ., 1989 ; Joa et al .,1998 ; Akrouit et al., 2001**), ainsi que les propriétés biologiques (**Memmi et al ., 2007 ; Sefi et al., 2010 ; Akrouit et al., 2011**).

Notre travail a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, l'activité anti oxydante et l'activité antimicrobienne des parties aériennes d'*Artemisia campestris L.*

Il s'articule autour de :

- Extraction de l'huile essentielle par la méthode hydrodistillation et l'extrait éthanolique de la plante par la méthode Soxhlet.
- Déterminer le screening phytochimique de l'*Artemisia campestris L.*

- Et evaluer l'activité anti-inflammatoire, anti oxydante et antimicrobienne de différents extraits (aqueux et ethanolique) et de l'huile essentielle de différent parties aériennes *d'Artemisia campestris L.*

*Artemisia campestris L.*

### I.1 Généralités

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

Le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, 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**). Parmi ces espèces on a : *Artemisia herba alba*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia judaica*, *Artemisia annua* , *Artemisia campestris* etc....

L'espèce *Artemisia campestris* L. (Figure 1) ou l'armoise rouge est une plante des hauts plateaux. Elle est répartie dans les montagnes du Sahara central, en altitude (assez répandues au Hoggar, plus rare au Tefedest et au Tassili des Ajjer) (**Ozenda, 1977**), mais elle est plus rare dans la région présaharienne. Sa résistance à la sécheresse lui permet de vivre dans des régions où il y a peu d'eau (**Ali-Delille ,2010**).

De nombreuses études phytochimiques de cette espèce (**De Pascual et al. , 1984 ; Rauter et al., 1989 ; Joa et al .,1998 ; Akrouit et al., 2001**), ont révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins, les huiles essentielles; ce qui confère à cette plante de nombreuses propriétés biologiques (**Akrouit et al., 2011**).



**Figure 1** : Touffe d'*Artemisia campestris* L. Station Djelfa (Saihi, 2009)

### **I.2 Description botanique**

*Artemisia campestris* est un arbuste aromatique qui peut atteindre une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède une racine longue, ligneuse et fibreuse (**Figure 2.a**), les tiges sont ligneuses à la base striée, ascendantes à rameaux rougeâtres (**Figure 2.c**). Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur vert foncé, les inférieures 2-pinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées (**Figure 2.b**), des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre (**Figure 2.c**) (**David et Hervé., 1994 ; Ozenda, 1983 ; Quezel et Santa, 1962 ; Ali-Delille, 2010**) (**Figure 2**).



**Figure 2** : Différentes parties d'*Artemisia campestris* L.

a : la racine ; b : les feuilles ; c : Tige et des capitules.

### I.3 Systématique de la plante

Selon APG III (2009), la plante *Artemisia campestris* L. est classée comme suit:

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Classe</b>	Equisetopsida
<b>Sous-classe</b>	Magnoliidae
<b>Super-ordre</b>	Asteranae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	Artemisia
<b>Espèce</b>	<i>Artemisia campestris</i> L.

### I.4 Etymologie

Le nom armoise dérive du latin « **Artemisia** », emprunté au grec Artemis : un des noms de Diane, à qui la plante était consacrée. **Campestris**: Des champs. De « campus »: champ (**Gentil, 1923**).

Les noms vernaculaires de *l'Artemisia campestris L.* sont :

- ❖ **Nom arabe** : Degouft, Allal, Chaal, tagouft, tiredjeli.
- ❖ **Nom français** : Armoise champêtre, Armoise de champs (**Tela botanica, 2015**).  
Aurore, Aurore des champs (**Ali-Delille, 2010**).
- ❖ **Nom anglais** : Field Wormwood (**Tela botanica, 2015**).

### I.5 Origine et distribution

- **Dans le monde**

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère Nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et dans le bassin méditerranéen, et elles s'étendent jusqu'à l'Himalaya (**Vernin et al, 1995**), dans l'hémisphère sud. Elles sont trouvées en Afrique du sud, en Australie et en Amérique du sud. D'après Kyeong (2007), *Artemisia campestris* est originaire d'Asie.

- **En Algérie**

*Artemisia campestris* est une plante des hauts plateaux, plus rare dans la région présaharienne, elle manque au Sahara septentrional, mais elle réapparaît dans les montagnes du Sahara central, et en altitude (assez répandues au Hoggar, plus rare au Tefedest et au Tassili des Ajjer) (**Ozenda, 1977**).

### I.6 Composition chimique

L'utilisation des solvants à polarités différentes, suivie par des étapes de fractionnements et l'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de plantes.

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chymotype considéré (**Bruneton, 1999**), elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante (**Jerkovic et al., 2003**).

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les huiles essentielles (**Joa et al., 1998 ; Juteau et al., 2002**).

Plusieurs études (**Akrout et al., 2001 ; Juteau et al., 2002**) ont rapporté la composition des huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.*, l'huile essentielle est analysée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), **Juteau et al (2002)** ont identifié dans une espèce de Camargue (Marseille, France) 51 composés dont les plus abondants sont :  $\gamma$ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugenol, p-cymène et  $\beta$ -pinène.

D'après **Akrout et al (2001)** les constituants les plus abondants d'une espèce de Tunisie sont :  $\beta$ -pinène (24,2-27,9 %), p-cymène (17.4–22.3%) et  $\alpha$ -pinène (4.1–11.0%), ces constituants représentent plus de 45 % de l'huile totale.

Le contenu phénolique total, les flavonoïdes, les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydrox benzoïques de l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques (**Tableau 1**).

Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestrisL.* sont: flavone (apéginie), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (**Tableau 2**) (**Valant et al., 2003**).

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

**Tableau 2** : Teneur en polyphénols, de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* L. (Djeridane et al., 2007).

Plante	Phénols totaux a	Flavonoïdes b	Dérivés hydrox cinnamiques c	Dérivés hydrox benzoïques d
<i>Artemisia campestris</i>	103.4	5	95	0

a: mg EAG/g ps, b : EQ mg/g ps, c : EAC mg/g ps , d : EAG mg/g ps .

**Tableau 3** : Principaux flavonoïdes rencontrés chez *Artemisia campestris* L.

Flavonoïdes	Références
- <b>Flavanone:</b> 5, 8, 4'-trihydroxyflavanone.	-Rauter et al., 1989.
- <b>Acétophénone:</b> 3-acetyl-4-hydroxyacétophénone.	- Hurabielle et al., 1982.
- <b>Flavones:</b> 5, 7-dihydroxy-3, 4'-diméthoxyflavone.	- Ferchichi et al., 2006.
- <b>Flavonol:</b> Kaempférol-7méthyl.	-Valant-V et al., 2003.
- <b>Dihydroflavonol:</b> 7-méthyl aromadendrin.	- Hurabielle et al., 1982.

### I.7 Utilisation traditionnelle d'*Artemisa campestris* L.

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

En usage local *Artemisia campestris* L. est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, l'infusion des sommités fleuries est recommandée en cas de douleurs menstruelles (Dob et al., 2005). Elle est également utilisée dans le traitement du diabète (Sefi et al., 2010).

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**).

*L'Artemisia campestris L.* est utilisée beaucoup dans la médecine traditionnelle et est indiqué dans plusieurs traitements (tableau 3).

**Tableau 4 :** Etude ethnopharmacologique d'*Artemisia campestris L.* (selon la médecine traditionnelle).

<b>Indications</b>	<b>Partie utilisées</b>	<b>Mode d'utilisation</b>	<b>Références</b>
Emménagogue, vermifuge, vulnéraire, Règles douloureuses, Cicatrisante,  Maux d'estomac, Bronchites.	Les feuilles et les sommités	Infusion, décoction, macération, cataplasme	<b>Ould el hadj et al., 2003.</b>
Toniques Stomacales Antiphlogi- stiques Antiseptiq- ues  teintures appliquées pour soulager les rhumatismes Antivenin,	Les feuilles et les sommités	Infusion, décoction, macération, cataplasme	<b>Mucciarelli et Maffei, 2002.</b>
Anti-inflammatoire, Antirhumatismal et Antimicrobien	Les feuilles	Décoction	<b>Akrout et al., 2001.</b>

### I.8 Activités biologiques

#### a- Activité anti oxydante

La partie aérienne *d'Artemisia campestris L.* possède des activités anti-oxydantes significatives. En effet, cette plante est riche en composés dotés d'activité anti-oxydante notamment : les flavonoides, les polyphénols et les tannins, ces différents constituants exercent ces actions anti-oxydantes 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 réalisée par **Aniya et al., (2000)**, l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux *d'Artemisia campestris L.* a été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité anti-oxydante élevée.

**Akrout et al., (2011)**, ont étudié l'activité anti-oxydante de trois extraits de la partie aérienne *d'Artemisia campestris L.* ( huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique (50%)) en utilisant trois méthodes différents : la méthode de DPPH, la technique de décoloration du  $\beta$ -carotène et la méthode d'ABTS ( 2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acide), ils ont montré que l'huile *d'Artemisia campestris* possède une faible activité anti-oxydante, alors que l'extrait aqueux et éthanoliques montrent une activité anti-oxydante marquée.

#### b- Activité antibactérienne

*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 L.*, ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*).

**Ben Sassi et al (2007)** ont étudié l'activité antibactérienne de quatre extraits organiques (méthanol, acétate éthyle, acétone, chloroforme) de 23 plantes médicinales dont *Artemisia campestris L.* contre 14 bactéries gram positif et gram négatif. Les résultats ont montré que

l'extrait d'acétone est le seul qui montre une action inhibitrice contre trois types de bactéries: *S. epidermidis*, et *S. saprophiticus*, *S. aureus*.

En outre, l'*Artemisia campestris* L. possède des propriétés antifongiques. En effet, Kyeong et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'effet antifongique de l'extrait aqueux des racines d'*Artemisia campestris* sur des champignons de mycorhize (*Amanita muscaria* et *Cortinarius triumphans*), 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 par ailleurs 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).

### c- Effets insecticide

Une étude récente a été réalisée par Pavela (2009), où l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* L. 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 le malaria.

### d- Propriétés allélopathiques

Les plantes présentes dans une parcelle interfèrent entre elles de différentes manières. Outre la compétition classique pour l'eau, les nutriments et la lumière, il a été mis en évidence ces dernières années une influence induite par les molécules chimiques, appelée allélopathie. En effet, de nombreuses espèces végétales synthétisent des molécules capables d'inhiber la germination et la croissance des plantes voisines. Plusieurs espèces (*Artemisia annua*, *Bromus tectorum*, *Hordeum murinum*, *Origanum vulgare*) ont réduit de façon très importante la croissance des mauvaises herbes. Dans le cas d'*Artemisia campestris* L., l'implication de la molécule artémisinine, synthétisée par la plante, a pu être mise en évidence. Cette approche est particulièrement bienvenue dans le cadre de la production intégrée et de l'agriculture

biologique, les alternatives aux traitements chimiques contre les mauvaises herbes étant actuellement peu nombreuses et très coûteuses (**Delabays Nicolas et Mermillod G, 2002**).

### **e- Activité hypoglycémiante**

**Sefi et al (2010)** ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia campestris L.*, 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 glucose s'accompagne d'une part d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faibles densité (LDL), et d'autre part d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète.

### **f- Effets antipoison**

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

Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 6 mois, de janvier à juin 2016. Les différentes expérimentations ont été effectuées au niveau des structures suivantes :

- Laboratoire de chimie de l'École Nationale des Sciences Agronomiques (**ENSA**) : pour l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et l'extrait éthanolique par soxhlet.
- Centre de recherche et de développement SAIDAL (CRD) :
  - Laboratoire physicochimique pour évaluer les activités anti-inflammatoire et anti oxydante.
  - Laboratoire de microbiologie pour évaluer l'activité anti-microbienne.
  - Laboratoire analytique pour déterminer le screening phytochimique.

### II.1. Matériel

#### II.1.1 Matériel non biologique :

Le matériel utilisé durant notre expérimentation à savoir la Verrerie, Réactifs et les appareils sont renvoyés en Annexe I.

#### II.1.2 Matériel biologique :

##### A. Matériel végétal :

Les Touffes d'*Artemisia campestris L.* ont été récoltées au mois de septembre 2015 dans la région de Hadd Shari (**Wilaya de Djelfa**).

La partie aérienne de la plante (feuilles et tiges) a été séchée à l'ombre avant utilisation.

L'identification botanique de l'espèce a été faite au niveau du département d'Agronomie (Université de Blida) et par les herboristes de la ville de Djelfa.

##### B. Matériel animal

Nous avons testé l'activité anti inflammatoire de l'Armoise rouge sur des souris issues de l'élevage de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du CRD SAIDAL (El Harrach).

Ces souris présentent les caractères suivants :

- Souris Albinos de race NMRI (Naval Medical Research Institute).

- Sexe : mâle, femelle
- Nombre : 18
- Poids : 18g à 22,6g
- Alimentation : Granulés « O.N.A.B »
- Boisson : Eau de robinet.

### Conditions d'hébergement

Les souris sont placées dans un local contrôlé. La température est comprise entre 20 et 24°C, la photopériode est de 10 heures par jour, le taux d'humidité de l'ordre de 50%.

### C. Microorganismes de référence

On a utilisé quelques souches de la collection du CRD-SAIDAL pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle (American type culture collection) (Tableau 5).

**Tableau 5** : Souches ATCC utilisées dans l'étude antimicrobienne :

La souche		famille	Référence	Milieu de culture	
<b>Bactéries</b>	gram +	<i>Staphylococcus Aureus</i>	Micrococcaceae	25923 ATCC	
		<i>Bacillus Subtilis</i>	Bacillaceae	6633 ATCC	
	gram -	<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	25922 ATCC	Muller Hinton
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Enterobacteriaceae	27853 ATCC	
<b>Levures</b>	<i>Candida albicans</i>		Cryptococcaceae	10231 ATCC	Sabouraud
	<i>Saccharomyces cerivisea</i>		Saccharomycetaceae	9763 ATCC	

(\*)ATCC: American Type Culture Collection.

### II.2 Méthodes :

#### II.2.1 Séchage et broyage

Le séchage de la plante (feuilles- tiges) a été effectué naturellement à l'abri de la lumière sur du papier blanc dans un endroit bien aéré durant 15 jours afin d'éviter la photo-oxydation des substances (**Guignard, 2000 ; Ali-Delille, 2010**) (**Figure 3**).

Après séchage, une quantité notable de feuille et de tiges a été conservée pour l'extraction des huiles essentielles.

Une autre quantité des feuilles a été broyée à l'aide d'un moulin à café pour l'obtention d'une poudre fine, qui a subi un tamisage afin de séparer les particules trop grosses (**Le hir, 1983**). Cette dernière est conservée dans un flacon en verre ombré hermétique et conservée pour une utilisation ultérieure.



**Figure 3:** Séchage de l'armoise rouge (**Originale, 2015**).

### II.2.2 Etude phytochimique

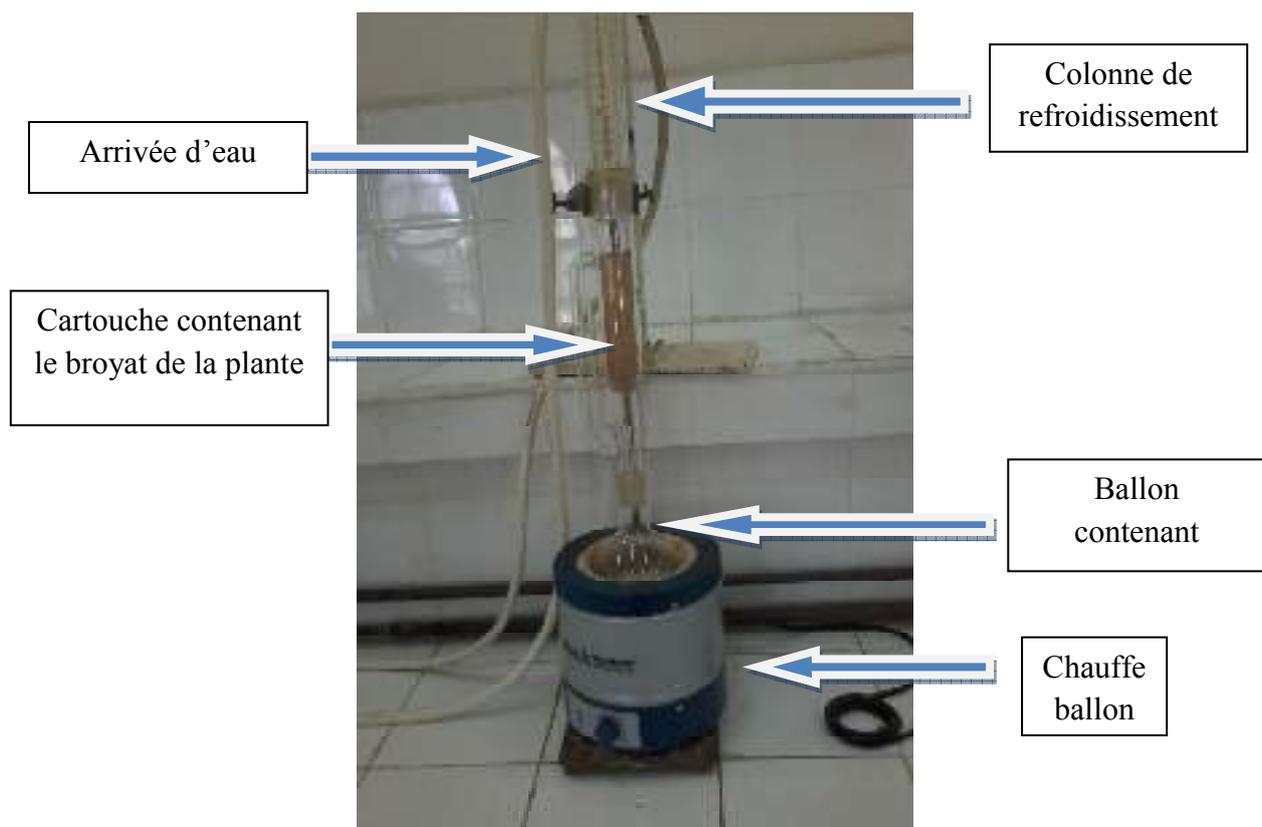
#### A. Préparation des extraits :

##### A.1 Extrait aqueux

L'extrait aqueux à 15% d'*Artemisia campestris L.* a été obtenu par infusion de 15g de broyat de la partie aérienne de la plante (tiges et feuilles) dans 100ml d'eau distillée bouillie pendant 1/2 heure sous agitation magnétique, la solution est laissée reposer 15 minutes, le mélange est d'abord filtré sur papier Whatman, l'extrait obtenu est conservé au réfrigérateur.

##### A.2 Extrait éthanolique :

L'extrait éthanolique a été obtenu en utilisant la méthode de Soxhlet (extraction solide-liquide) au niveau du laboratoire de chimie de l'École Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA).



**Figure 4 : Dispositif Soxhlet (originale,2016).**

### Mode opératoire :

- Après avoir été séchée, la partie aérienne de la plante (feuilles + tiges) a été broyée et réduite en poudre fine, par un broyeur électrique à couteaux.
- 15 g du broyat (poudre végétale) ont été introduits dans une cartouche en cellulose.
- Un ballon de 250 ml pesant  $P_0$  (poids du ballon vide) a été rempli de 120 ml du solvant d'extraction (éthanol absolu).
- Lancer l'extraction au moyen de Soxlet siphonnant à 100 ml et de réfrigérant à reflux, jusqu'à épuisement (pendant 4 heures) ;
- Après l'extraction, le solvant chargé en substances extraites a été récupéré dans le ballon pour être évaporé sous vide dans un Rotavapor pendant environ une heure à une température de 65 °C.
- L'extrait ainsi récupéré a été placé dans un dessiccateur, puis il a été pesé :  $P_1$  (poids du ballon contenant l'extrait), et il est enfin conservé entre 4-6°C.

### Calcul du taux d'extraction :

Le taux d'extraction de chaque extrait des espèces étudiées est calculé selon la formule suivante :

$$TE\% = [(P_1 - P_0) / E] * 100$$

### Avec :

- **TE** : taux d'extraction (%).
- **P<sub>1</sub>** : poids du ballon après évaporation du solvant.
- **P<sub>0</sub>** : Poids du ballon vide (g).
- **E** : Poids de la matière végétale utilisée (broyat) (g).

### A.3 Extraction de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée sur la matière sèche de la partie aérienne de la plante étudiée au laboratoire de chimie de l'École Nationale des Sciences Agronomiques par la méthode d'hydrodistillation au moyen d'un appareil de type Clevenger. L'extraction est réalisée suivant la méthode conforme à la pharmacopée européenne (Pharmacopée européenne, 2008).

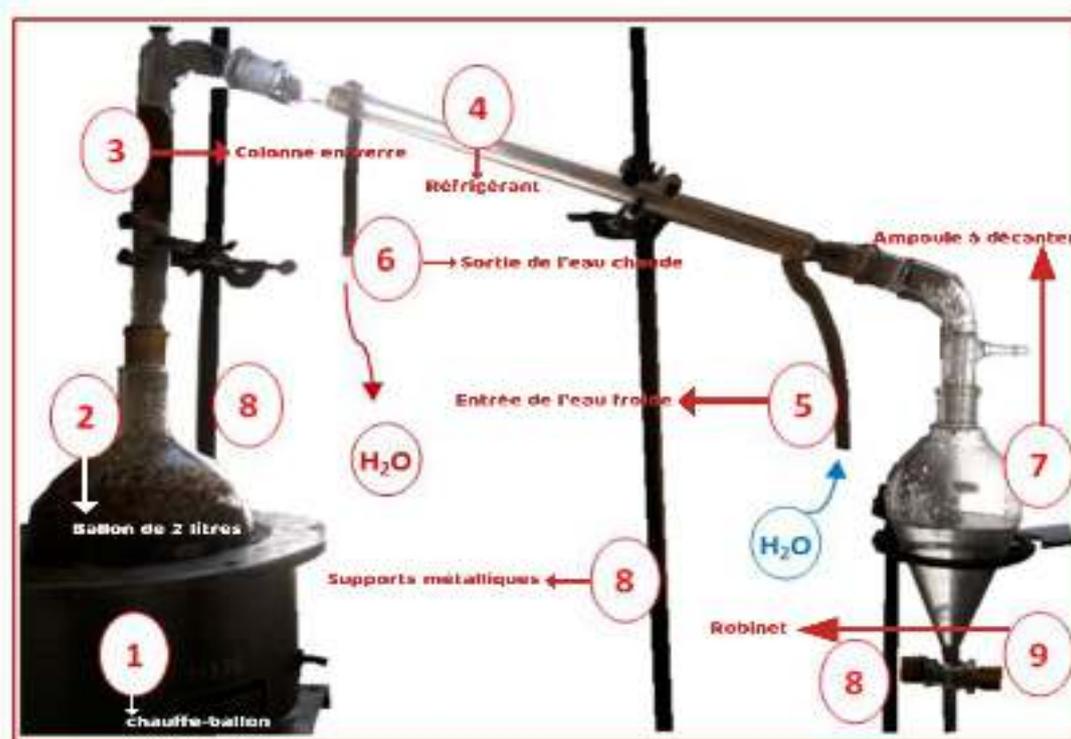


Figure 5 : Montage de l'appareil d'hydrodistillation (Photo personnelle, 2016)

### **Mode opératoire :**

- Après avoir été séchés, les échantillons de la plante constitués par la partie aérienne (feuilles et tiges) ont été fragmentés en petits débris.
- Pour chaque échantillon, 450 g du matériel végétal sont introduits dans un ballon de 2 litres, qui sera rempli avec de l'eau aux deux tiers (2/3) de son volume.
- Le ballon contenant le matériel végétal et l'eau est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon jusqu'à l'ébullition. À ce moment, la vapeur chargée de produits volatils monte dans la colonne de récupération vers le réfrigérant à circulation d'eau.
- Cette vapeur se condense au contact du réfrigérant. Le condensât est recueilli dans une ampoule à décanter qui par différence de densité sépare la phase aqueuse (plus lourde) en bas, de la phase organique (phase supérieure) en haut constituant l'H.E.
- L'H.E est conservée au réfrigérateur à une température de 0 à 6 °C dans un flacon en verre brun hermétiquement fermé jusqu'au moment de l'utilisation afin d'éviter tout changement de composition.

### **Rendement d'extraction :**

Selon **AFNOR., 1986**, Le rendement en huile essentielle (**RHE**), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (**M'**) et la masse de la matière végétale utilisée (**M**). Il est donné par la formule suivante:

$$\mathbf{RHE = (M'/M) * 100}$$

Avec:

**RHE** : rendement en huile essentielle de la plante (%).

**M'** : masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

**M** : masse de plante utilisée en gramme.

### B. Screening chimique

#### But

Le but de Screening est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires.

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques simple permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques **(Girre, 1980)**.

Les tests phytochimique sont des réactions de coloration, turbidité, et de précipitation réalisée sur la drogue elle-même ou sur un extrait rapidement préparé, elles sont nombreuses et effectuées en tube **(Paris et Hurabielle, 1981)**.

D'après **Ghrib. (1988)** ; **Treasz et Evans , (1987)** ; et **Okmu. (2005)** ces tests sont réalisés soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé.

Les résultats sont classées en : réaction très riche (+++), réaction moyennement riche (++) , réaction louche (+), faiblement présente (-) **(Ponce et al ., 2003)**.

#### 1. Phénols

Mettre 10g de poudre sèche dans 150ml d'HCl concentré (37%) dilué a 1% pendant 24 h, filtrer et procéder au test suivant : prendre 10ml du filtrat (le macérat) et ajouter 5ml du NH<sub>4</sub>OH concentré (30%) (Le milieu devient basique).

Si le résultat est positif on aura l'apparition d'un anneau de couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai **(Okmu, 2005)**.

#### 2. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 5 ml de l'extrait aqueux, et 1 à 2 gouttes d'une solution de FeCl<sub>3</sub> diluée. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence des tanins **(Trease et Evans, 1987)**

#### 3. Anthocyanine

La détection des anthocyanes est réalisé par l'addition de quelques gouttes de HCl à 5 ml d'extrait aqueux. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge **(Debrayb et al, 1971 ; Paris et al., 1969)**.

### 4. Les coumarines

Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique, 15 min puis filtré, à 5 ml du filtrat rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique KOH à 10% et quelques gouttes d'HCL à 10%, la formation d'un trouble indique la présence des coumarines. **(Rizk, 1982).**

### 5. Saponosides

Prendre 2ml d'extrait de 10% et ajouter 2ml d'une solution d'acétate de plomb. La précipitation du dépôt blanc indique la présence des saponosides **(Ghrib, 1988).**

### 6. Alcaloïdes

A 15 ml de l'infusé on a ajoute Ajouter 5 ml du HCL (1 N) et quelque gouttes du réactif de Dragendroff, puis chauffer au bain marie pendant quelques minutes. La formation d'un précipité rouge orangé indique la présence des alcaloïdes **(Paris et al, 1969).**

### II.2.3 Evaluation des activités biologiques

#### A. Activité anti inflammatoire :

La mise en évidence de l'effet anti inflammatoire a été réalisée selon la méthode de **Levey. (1969)**.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire (voir Annexe II Figure 17).

Pour comparer la réaction de l'œdème plantaire, nous avons utilisé un extrait aqueux de la plante *Artemisia campestris L.*

#### A.1 Préparation des souris à l'inflammation

Après une mise à jeun pendant 18heures, nous avons constitué 3 lots de 6 souris chacun :

- **Lot témoin (T)** : composé de 6 souris femelles et mâles où chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de **0.5ml** de l'eau physiologique .
- **Lot de référence (R)** : composé de 6 souris femelles et mâles où chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de 0.5ml de Diclofenac à la dose de **500mg/kg** -notons que le Diclofenac est un dérivé arylacétique. C'est un produit qui est classé parmi les médicaments des AINS (anti inflammatoires non stéroïdiens).
- **Lot d'essai (E)** : composé de 6 souris femelles et mâles où chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de 0.5ml de l'extrait aqueux de la poudre de l'armoise rouge **772mg/kg**. (Figure 6).



**Figure 6 :** Gavage gastrique de l'extrait aqueux de la poudre d'*A.campestris L.*

Une demi-heure après l'administration du traitement, nous avons injecté 0.025ml de carraghénine à 1% dans l'eau physiologique aux différents lots de souris.

L'injection a été réalisée sous l'aponévrose plantaire des pattes arrière gauches de souris.

Après 4 heures de l'injection de la carraghénine, nous avons sacrifié toutes les souris.

Les pattes postérieures ont été coupées à hauteur de l'articulation pesées sur une balance analytique.

- **Taux de réduction d'œdème en % :**

Selon Levey, (1969). Cité par Berkan et al. (1989), le calcul du pourcentage de l'augmentation ou de l'œdème se fait selon la formule suivante :

$$\% \text{ œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} \times 100.$$

- **Pourcentage de réduction de l'œdème en % :**

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins se fait par la formule suivante :

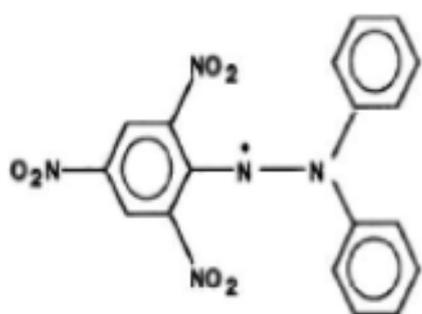
$$\% \text{ œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essaie}}{\% \text{ œdème témoin}} \times 100.$$

## B. Activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Artemisia campestris* L. nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **Sanchez-Moreno *et al.*, 1998**.

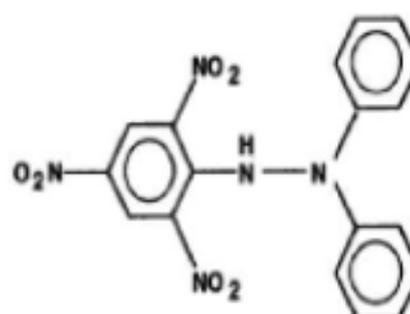
### ➤ Principe

Dans ce test, les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Molyneux, 2004**).



**a:** Diphenylpicrylhydrazyl

(radical libre)



**b:** Diphenylpicrylhydrazine

(non radicalaire)

**Figure 7 :** Forme libre et réduite du DPPH (**Molyneux p, 2004**).

### ➤ Préparation de la solution DPPH :

Une solution de DPPH est préparée en ajoutant 100ml du méthanol à 4 mg de poudre de DPPH, la solution obtenue est de couleur violette.

### ➤ Préparation des dilutions

On a préparé 5 tubes on réaliser 5 dilutions successive.

D'abord on a prélevé 1 ml de solution mère (extrait éthanolique *d'Artemisia campestris* L.) à laquelle nous avons rajouté 9 ml de méthanol dans le 1er tube, puis on a prélevé 1ml du 1er tube auquel on a rajouté 9ml de méthanol dans le 2ème tube, on a fait de même pour constituer la dilution du 3ème tube et ainsi de suite jusqu'au 5ème tube (Figure 8).

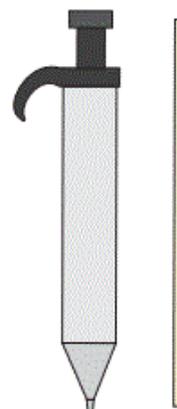
Le matériel :



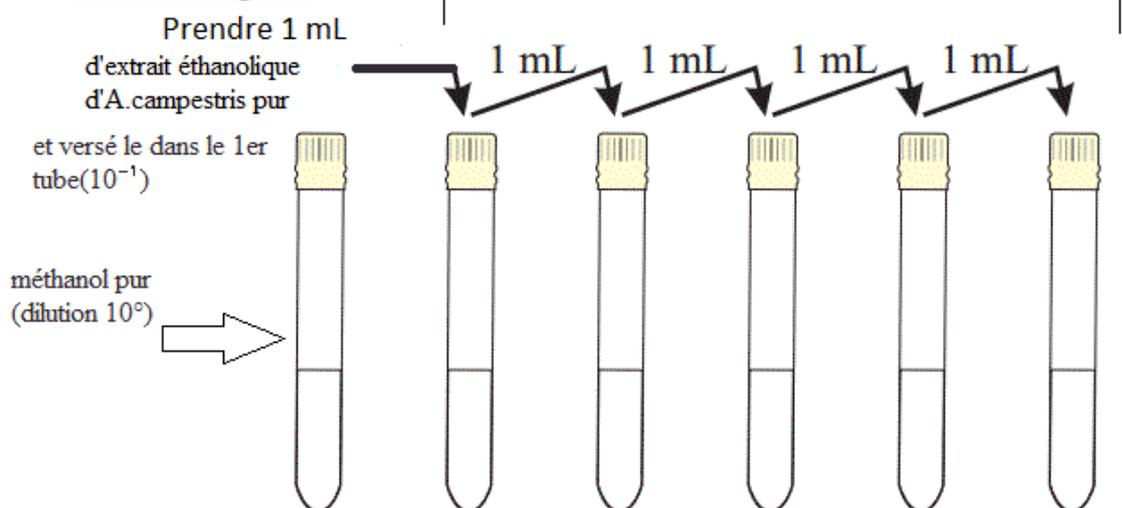
Tubes de dilution  
(méthanol) de 9



Pipette graduée ou pipette paille de 1mL



La technique :



Dilution :	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Facteur de dilution :	1	10	100	1000	10000	100000

**Figure 8** : Préparation des dilutions (personnel)

➤ **Mode opératoire**

Dans des tubes à essais, nous avons introduit 10µl de chaque dilution et 2 ml de la solution méthanolique de DPPH (4mg/100ml). En parallèle, deux témoins sont préparés, un témoin négatif de 10µl de méthanol+ 2 ml de la solution de DPPH et un témoin positif de 3mg de poudre d'acide ascorbique dissous dans 1 ml de méthanol. A partir de cette solution 5

dilutions sont préparées en prélevant à chaque fois 1ml du tube précédant. Les tubes sont placés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

- **Expression des résultats :**

La concentration d'inhibition des radicaux libre(I) exprimé en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$I\% = (Abs\ c - Abs\ d) / Abs\ c \times 100$$

Avec :

**Abs c** : Absorbance du contrôle.

**Abs d** : Absorbance pour chaque dilution.

- **Calcul des IC50**

L'IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, c'est la concentration de l'échantillon testée qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Ces IC50 sont déterminées graphiquement à partir des graphes tracés, dont l'abscisse représente la concentration des fractions testés et l'ordonnée représente l'activité antioxydant en pourcentage.

### C. Activité anti-microbienne

#### C.1 Etude de l'effet inhibiteur (analyse qualitative) :

L'objectif de l'étude de l'activité antimicrobienne et antifongique est de déterminer le taux d'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et levures) sous l'effet de notre huile essentielle (H.E. d'*Artemisia campestris L.*) et extraits (aqueux et éthanolique) et ceci par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. C'est une technique microbiologique, très récente, qui permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes à différentes extraits et l'huile essentielle.

##### ➤ **Principe:**

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne et antifongique ou les deux en même temps, en les mettant en présence des germes testés, dont leur DO= 0,5 (la concentration est variée de  $10^7$  à  $10^8$  germes /ml).

Des disques de 9 mm de diamètre avec une capacité d'absorption de la quantité précise (20µl pour l'huile essentiel) sont déposés sur la géloseensemencée en nappe à partir des souches à tester. La diffusion de l'HE et des extraits, dans la gélose va permettre l'inhibition de la croissance des germes, tout au tour des disques. Dans le cas d'une éventuelle activité antimicrobienne positive qui se traduira après incubation par une auréole claire et distincte autour du disque appelée Halo ou zone d'inhibition.

La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition pour chacune des souches à l'aide du pied à coulisse. (La méthode est validée par le laboratoire microbiologique de CRD-SAIDAL).

#### **Protocole expérimental :**

##### **a) Préparation de la première couche du milieu :**

- Faire fondre les milieux Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures dans un bain-marie réglé à 95 °C.
- Verser aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boîtes de Pétrie de 90 mm de diamètre à raison de 15 ml par boîte.
- Laisser refroidir jusqu'à solidification sur paillasse.

##### **b) Préparation de l'inoculum :**

À partir de jeunes cultures (18 h à 24 h pour les bactéries et 48 h pour les levures) :

- Réaliser des suspensions microbiennes qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile (**Figure 9**).
- Agiter au vortex.



**Figure 9** : préparation des suspensions microbiennes.

### **c) Préparation de la deuxième couche du milieu :**

- faire fondre les deux milieux MH et SAB.
- Laisser refroidir jusqu'à une température de 45 °C.
- Mettre dans des flacons de 50 ml le milieu correspondant pour chacune des souches.
- Ensemencer les milieux avec 200 µl de la suspension.
- Agiter manuellement puis déposer rapidement 4 ml de chaque milieu ensemencé sur la surface de la première couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme.
- Laisser solidifié sur la paillasse.

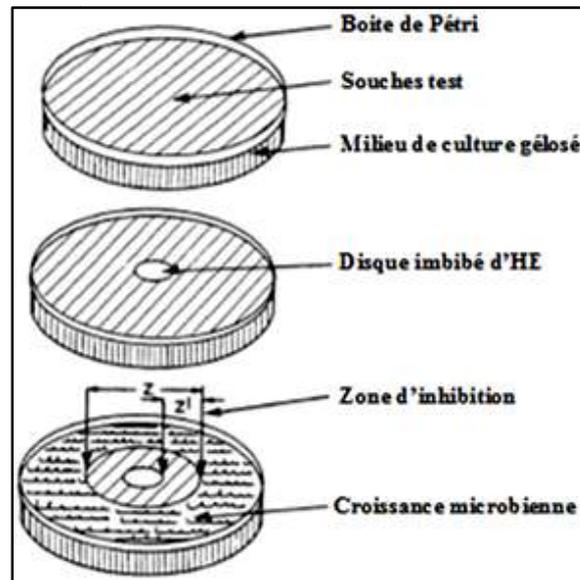
### **d) Dépôt des disques :**

- A l'aide d'une pince stérile, prélever à chaque fois un disque stérile .Ce disque est imbibé avec l'échantillon à tester en mettant en contact l'HE à tester avec uniquement le bout des disques qui vont être absorbé progressivement jusqu'à leur totale imprégnation.
- Disposer les disques sur la surface de la gélose.

\*on dépose le disque imbibé de l'HE dans une seule boîte au milieu et on a divisé la boîte en deux pour l'extrait aqueux et l'autre pour l'extrait éthanolique.

- Laisser diffuser pendant 30 min.

- Incuber à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 48 h pour les levures.



**Figure 10 :** Illustration de la méthode de l'aromatogramme (Zaika, 1988)

### e) Lecture :

- ✓ Présence de zone claire autour du disque → présence d'activité inhibitrice.
- ✓ Absence de zone claire autour du disque → absence d'activité inhibitrice.

### III.1. Extraction et rendement

#### III.1.1 Rendement de l'extrait éthanolique :

La préparation d'extrait d'éthanol à partir de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* a été effectuée par solvant à polarité croissante. Cette extraction a permis d'obtenir l'extrait éthanolique brut.

Le rendement de l'extrait éthanolique en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante séchée est de **(7.5 %)**. Les propriétés organoleptiques de l'extrait obtenu sont mentionnées dans le tableau 6.

Il est important de souligner que la méthode utilisée (choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (à chaud ou à froid), affectent le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee et al., 2003).

**Tableau 6:** Propriétés organoleptiques d'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.*

Caratères	Aspect	couleur	Rendement %
Extrait			
Extrait éthanolique	Pâte collante	Vert foncé	7,5%

#### III.1.2 Propriétés organoleptiques et rendement de l'huile essentielle extraite :

##### A. Propriétés organoleptiques

L'examen organoleptique de cette huile (tableau 07) consiste en un essai olfactif; toutefois, il est nécessaire de décrire l'aspect de ces huiles essentielles et de leurs saveurs

**Tableau 7 :**Caractères organoleptiques des huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.*

Caractères	Couleur	Aspect	Odeur
HE			
<i>Artemisia campestris</i> (obtenu au laboratoire)	Jaune pâle	Liquide	camphrée

L'huile essentielle extraite d'*Artemisia campestris L.* a un aspect liquide, de couleur jaune pâle avec une odeur camphrée.

### B. Rendement en huile essentielle

Le résultat de calcul de rendement obtenu lors de l'hydrodistillation à partir de la plante sèche est calculé à partir de :

- La quantité de la biomasse en (g) : **450**
- La quantité d'huile essentielle en (g) : **1,3**
- Rendement en (%) : **0,29**.

Le rendement obtenu en HE extraite d'*Artemisia campestris L.* étudiée est de l'ordre de **0,29%**. Ce taux est similaire à celui trouvé par **Cherrak, (2001)**.

La comparaison des rendements en HE de *Artemisia campestris L.* de la région Djelfa avec une autre espèce de la même famille de *Artemisia campestris L.* *Artemisia herba alba*. nous révèle que le taux est très bas à celui des HE extraites de différentes espèces récoltées dans la région de Matmata en Tunisie (**0,65%**) (**Akrout, 2001**) et de Biskra (**0,95%**) (**Bezza et al, 2010**) et de M'sila (**1,02%**) (**DOB et al., 2005**). Cette différence dans le rendement en huile essentielle entre les deux espèces différentes peut être expliquée par les conditions climatiques, période de collecte, par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

### III.2. Résultats de l'étude phytochimique :

Les résultats de l'analyse phytochimique sont représentés dans le tableau 8 (voir Annexe II Figure 16).

**Tableau 8..** Résultats de screening phytochimique.

Métabolites secondaires	Résultats des réactions	Observation
Polyohéno	Coloration jaune	Présence
Tannins	Coloration bleue-noir	Présence
Anthocyanine	Coloration rouge	Etat de trace
Saponoside	précipitation blanc	Présence
Coumarines	Trouble	Présence
Alcaloïdes	précipité rouge orangé	Présence

Les résultats du tableau révèlent la présence de la majorité des métabolites secondaires testés. Nous constatons que la plante *A.campestris L.*, est riche en polyphénol et en tanins, elle contient aussi des saponosides, des alcaloïdes et coumarines, alors que les anthocyanine sont à l'état de trace.

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne *d'Artemisia campestris L.* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles (**Juteau et al., 2002**).

Nos résultats sont en accord avec **Khadem et Robin, (2011)** et **Baba Aissa, (1999)** qui révèlent l'existence des tanins et les flavonoïdes en quantité importante.

Et **Naili et al. ( 2010)** qui montrent l'existence des alcaloïdes et des saponosides. De plus **Kundan et Anupam (2010)** confirme que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols.

Les flavonoïdes, les coumarines et les tanins sont des composés phénoliques. Ces métabolites secondaires sont très intéressants de point de vue botanique et pharmaceutique (**Zheng et al., 2001**). Ils sont doués d'un pouvoir antioxydant, antimicrobien et représentent une bonne alternative aux antibiotiques et aux conservant chimiques (**Ernandez et al., 1996**)

Les flavonoïdes ont également des propriétés cliniques intéressantes telles que Anti-inflammatoires, antiallergiques, antivirales, anti-diabétique, antibactériennes et anti tumorales (**Middleton, 1998; Prasenjit et al., 2009**).

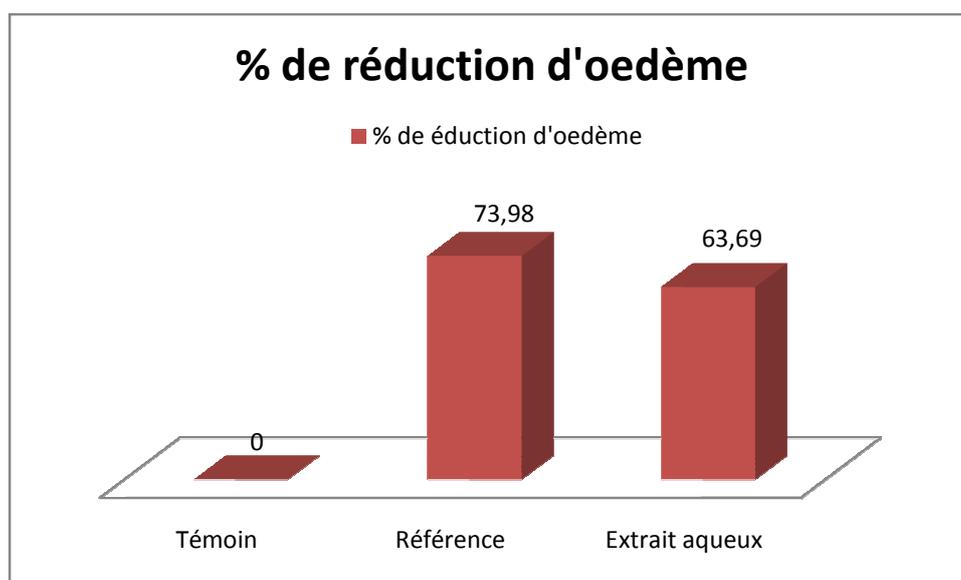
### III.3 Détermination des activités biologiques

#### III.3.1 Activité anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire est exprimée en fonction du pourcentage de réduction de l'œdème des pattes gauches postérieures des souris par l'extrait aqueux *d'Artemisia campestris L.* par rapport au lot témoin et lot de référence, et par les moyennes des poids des pattes gauches et droit des souris (Voir Annexe III tableau 10).

#### Taux et réduction de l'œdème :

Le lot de souris, ayant reçu par voie orale l'extrait aqueux *d'Artemisia campestris L.* ont réagi globalement d'une manière semblable à ceux traitées par l'anti-inflammatoire Diclofénac de sodium. On constate que l'effet observé chez le lot de souris traité par l'extrait aqueux *d'Artemisia campestris* avec un pourcentage de réduction **63.69%** est quasi similaire au lot de souris ayant reçu le standard anti-inflammatoire Diclofénac avec **73.98%** (Figure 12).



**Figure 12:** pourcentage de réduction d'œdème des 3 lots de souris.

Le pourcentage de la réduction de l'œdème chez le lot de référence et lot traité par l'extrait de la plante présente des différences significatives ( $P > 0.01$ ) comparativement au lot témoin.

L'extrait aqueux a présenté un effet anti-inflammatoire statistiquement similaire ( $P > 0.05$ ) à celui du produit référence.

Le pouvoir anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la partie aérienne *d'Artemisia campestris L.* à la dose de (**772 mg/ kg**) peut être expliqué par la présence des tanins, des flavonoïdes et des Saponosides qui ont été révélés par le screening phytochimique.

Il a été rapporté que les flavonoïdes, antioxydants naturels, joueraient un rôle très important dans le traitement des inflammations, des tumeurs et des affections bactériennes (**Ezeja et al., 2011; Duru et al., 2013**).

Les tanins sont impliqués dans l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine et des leucotriènes qui sont des intermédiaires dans la réaction inflammatoire (**Da Silva et al., 2008**).

A ce jour et d'après la littérature scientifique, il n'existe aucun rapport ou publication scientifique rapportant l'action anti-inflammatoire de l'extrait aqueux *d'Artemisia campestris L.* cependant des études élaborées par **Elkredim, (2011)** sur la même espèce où il obtient une inhibition de 51% par l'extrait aqueux des flavonoïdes à la dose de 200 mg/kg pendant 6 heures. Et cela confirme le pouvoir anti inflammatoire de l'extrait aqueux de notre plante.

### III.3.2 Activité antioxydante

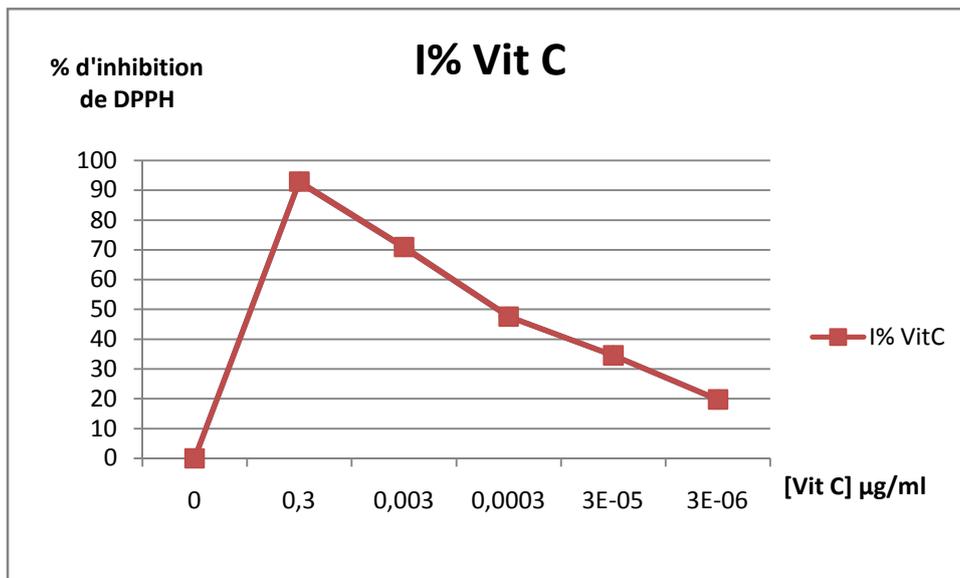
L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (**Bortolomeazzi et al., 2007**). L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration d'extrait utilisés et du témoin VitC (antioxydant de référence) (voir Annexe III Tableaux 12 et 13).

L'activité antioxydante d'extrait et de standard est exprimée en CI<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdulmajed et al., 2005; Ahmad et al., 2012**), il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH (changement de couleur violet vers le jaune)(voir Annexe II Figure 18). Ces CI<sub>50</sub> sont déterminées à partir des graphes ci-dessous (Figures 13 et 14) dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. Elle est de **0,280 µg/ml** pour l'extrait éthanolique, et celle de Vit C est de **0,165 µg/ml**.

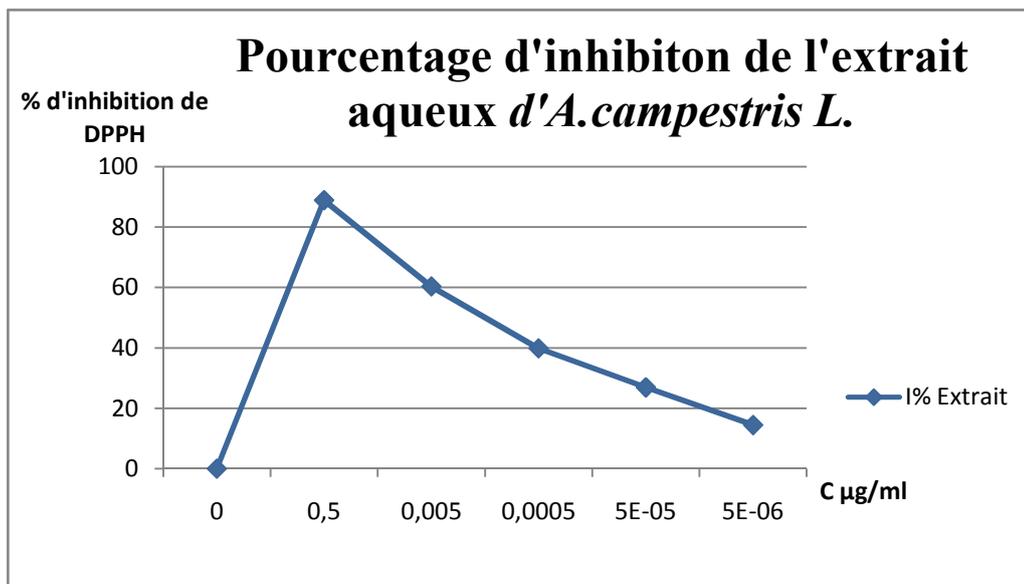
En outre, en comparant l'IC<sub>50</sub> de notre extrait éthanolique (0.280 µg/ml), elle est inférieure à celle de l'extrait ethanol (50%) réalisée par **Akrout et al (2,053 mg/ml)**

Selon **Guinebert (2005)**, plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant; en conséquence notre extrait éthanolique possède un pouvoir antioxydant plus important par rapport à celui d'**Akrouit et al (2010)**.

On peut expliquer l'action antioxydante important de notre extrait par la présence des molécules polaires douées d'activité antiradicalaire élevée déjà signalée **Kang et al (2003)**.



**Figure 13 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de vitamine C.



**Figure 14:** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris L.*

### III.3.3 Détermination de la'activité antimicrobienne

Les activités antibactériennes et antifongiques des extraits (aqueux et éthanolique) et l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* sont estimées par le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques, exprimée en mm.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 9 (voir Annexe II Figures 20).

**Tableau 9:**Diamètres des zones d'inhibition obtenues par l'huile essentielle et les deux extraits (aqueux et éthanolique) d'*Artemisia campestris* L.:

<i>souches</i>	Diamètre des zones d'inhibition en millimètre		
	Extrait aqueux (E.A)	Extrait éthanolique (E.E)	Huile essentiel (HE)
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922 (E.coli)	10.5mm	11mm	10mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 (P.S)	10.5mm	11mm	9.5mm
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633 (B.S)	13mm	17.5mm	20.5mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (Staph)	13.5mm	25.5mm	27.5mm
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	10.mm	11mm	14mm
<i>Saccharomyces cervisea</i> ATCC9763	10mm	11mm	13.5mm

En comparant nos résultats des 2 extraits (aqueux et éthanolique) et d'huile essentielle avec ceux donnés par **Mutai et al., (2009)**.

Très fortement inhibitrice :  $D \geq 30$  mm

Fortement inhibitrice :  $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$  mm

Modérément inhibitrice :  $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$  mm

Légèrement inhibitrice :  $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$  mm

Non inhibitrice :  $D \leq 10$  mm

On remarque que nos extraits et notre huile essentielle inhibent légèrement les bactéries Gram (-) et les levures, exception faite pour *P. aeruginosa* (DI= 9,5mm) et pour les levures (DI=10mm) qui se montrent résistant respectivement vis à vis de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux.

En ce qui concerne les bactéries Gram (+), l'extrait aqueux inhibe modérément les *B.subtilis* (DI=13mm) et les *S. aureus* (DI=13,5); en revanche les *B.subtilis* se montrent sensibles vis à vis de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle (DI=17,5mm; DI=20,5mm), tandis que les *S. aureus* se révèlent fortement sensibles à l'action de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle (DI=25,5mm; DI=27,5mm) ( voir photo 1).

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes (**Salamci et al., 2007**), le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques.

Très peu de recherches se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne d'*Artemisia campestris* L. surtout celles d'huile essentielle (**Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010**).

Selon **Naili et al (2010)**, ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* L.. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

De même **Ben Sassi et al (2007)**, ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de la partie aérienne de 23 plantes médicinales dont *A. campestris* L., ils ont trouvé que seul l'extrait d'acétone exerce un effet inhibiteur parmi les trois extraits (acétone, hexane, méthanol).

Dans le cas de *S. aureus*, nos résultats sont conformes à ceux publiés par **Zouali et al. (2010)** qui ont également trouvé que l'huile de romarin riche en camphre présentait une action modérée contre cette bactérie. Les huiles essentielles de camphre en tant que composant majeur présente une action modérée sur *S. aureus* (**Jordan et al., 2013**). Plusieurs composés majoritaires sont plus puissants que l'action seule du premier composé majoritaire (**Daroui, 2012**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*A. campestris* L. contre *S. aureus* et *B. subtilis* peut être attribué à la combinaison des différents composants présents dans cette

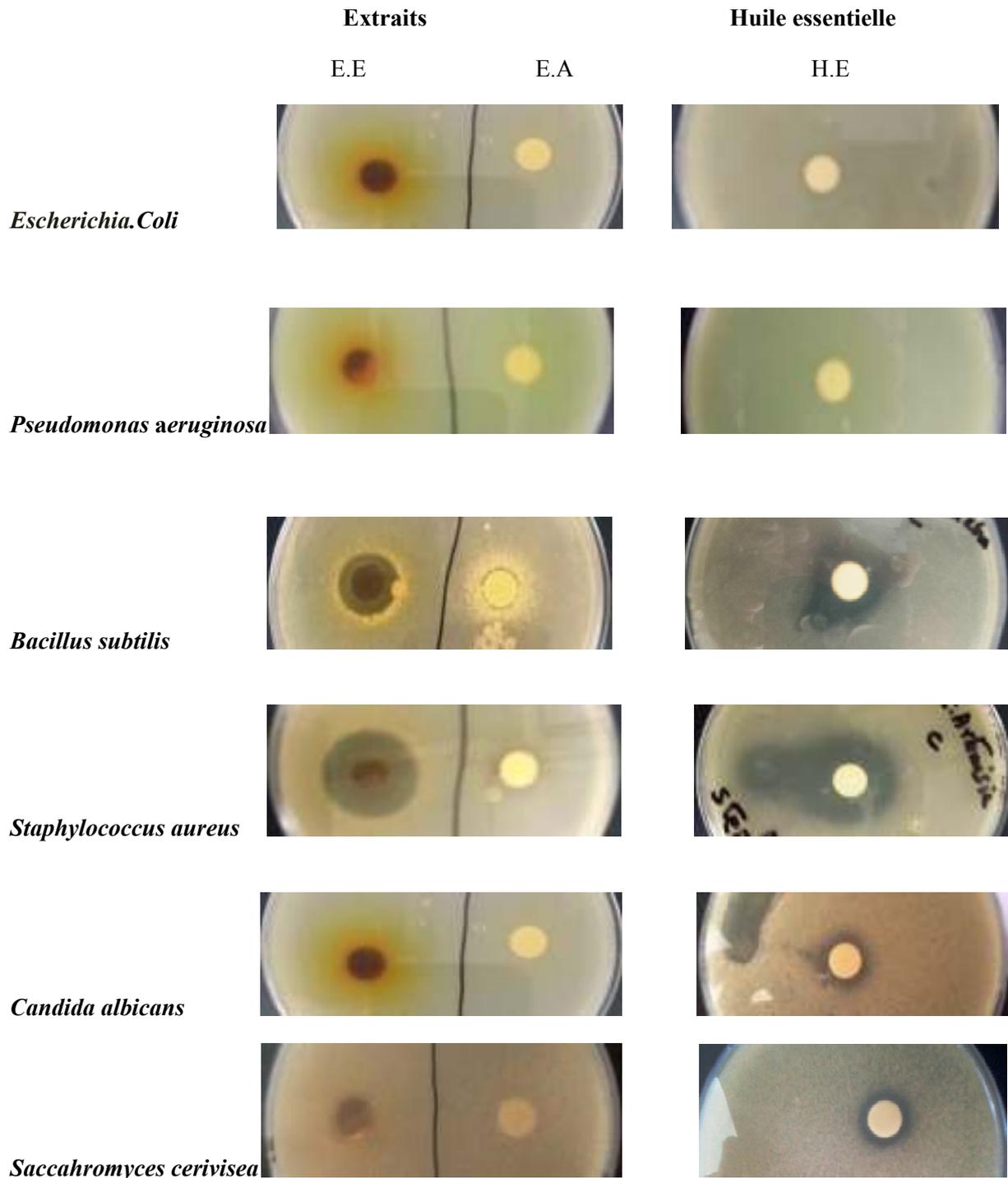
huile, qui agissent en synergie pour affaiblir le métabolisme microbien et inhiber ou ralentir son adaptation (**Jordan et al., 2013**).

Cette activité est liée à leur configuration structurale, les groupes fonctionnels, les proportions dans lesquelles ils sont présents et les interactions synergiques possibles entre eux (**Dorman et deans, 2002; Akrouit et al., 2010; Jordan et al., 2013**).

Les monoterpènes oxygénés comme (camphre, le bornéol) ont un large spectre d'activité antimicrobienne (**Salamci et al., 2007**). La présence d'une fonction d'oxygène augmente les propriétés antimicrobiennes des terpénoïdes (cétone) (**Dorman et Deans, 2002**). A la suite de leur caractère lipophile, les monoterpènes cycliques influent sur la perméabilité des membranes cellulaires (**Cox et al., 2000; Zouari et al., 2010**).

Il a été rapporté aussi que les monoterpènes provoquent une inhibition du métabolisme énergétique mitochondriale, notamment les oxydations phosphorylantes. Ce qui entraîne des perturbations dans les processus physiologique et biochimiques dans la cellule (**Daroui, 2012**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganisme. Il est connu que les bactéries expriment différents degrés de résistance à la présence des huiles essentielles. En raison de leur nature hydrophobe, les huiles essentielles ont tendance à affecter un plus grand nombre de bactéries à Gram positif, suivi par les bactéries à Gram négatif (**Dussaut et al., 2014**). La membrane extérieure des bactéries à Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux des bactéries à Gram positif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les composés hydrophobes d'y adhérer (**Cox et al., 2000; Calsamiglia et al., 2007; Akrouit et al., 2010; Khebri, 2011; Daroui, 2012**). Néanmoins, certaines molécules de bas poids moléculaires peuvent adhérer au bactérie à Gram négatif par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre aussi la membrane intérieure (**Calsamiglia et al., 2007; Daroui, 2012**).



**Photo 1** : Résultats de l'activité antimicrobienne.

E.E: Extrait éthanolique; E.A: Extrait aqueux; HE: Huile essentielle

### Conclusion

Dans le présent travail, différents aspects d'*Artemisia campestris L.* ont été étudiés: les propriétés phytochimique et activités anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes des extraits (aqueux et éthanolique) et d'huile essentielle.

L'essence de la plante *Artemisia campestris L.*, extraite par hydrodistillation est obtenue avec un rendement de 0,29%.

L'activité anti-inflammatoire souligne que la dose (**772 mg/kg**) de l'extrait aqueux possède un pouvoir anti-inflammatoire appréciable sur des souris albinos, chez les quelles on a provoqué une inflammation par la carraghénine. Le pourcentage de réduction de l'œdème a atteint (**63,69 %**).

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité. Donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

L'activité antimicrobienne vis-à-vis de 4 bactéries et 2 levures, selon la méthode de diffusion des disques les résultats ont montré que les extraits et l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* ont une action remarquable sur tous les espèces bactériennes testées sauf la souche *Pseudomonas aeruginosa* qui a manifeste une résistance pour tous les extraits et l'huile essentielle . En revanche leur action inhibitrice vis-à-vis les levures s'est montre faible.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent à être exploitées par des recherches ; à cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif aux médicaments synthétiques.

- Et développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes douées d'une activité antioxydante.

### Références

- ❖ **Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M.** Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.* 2005; 39: 491-498.
- ❖ **Adjioui A.** (1996). Encyclopedie des plantes médicinales et aromatiques. Tome 1, Ed Atlas. Egypte p 487.
- ❖ **Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A.** DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health.* 2012.
- ❖ **Akrout A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M.** (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* **16**: 337–339.
- ❖ **Akrout A., El-Janil H., Amouri S. et Neffati M., 2010:** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *thymus capitatus* Hoff. and *Link* Growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech* 2: 29-39.
- ❖ **Ali-Delille, L. (2010).** Les plantes Médicinales d'Algérie. 2ème Edition Berti. Alger.
- ❖ **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.
- ❖ **Baba Aissa, F.** (2011). Encyclopédie des plantes utiles, flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale), substance végétale d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition ElMaarifa, Alger.
- ❖ **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.
- ❖ **BERKAN T., OSTUNES I., LERMIOLU F., OSER A., (1989).** Anti-inflammatory analysis and anti-pyretic effects of an aqueous extract of *neute planta medica*. pp357-358.
- ❖ **Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., HadjMinaglon F. et Kaloustian J., 2010:** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba alba* from the region of Biskra (Algeria). *Phytotherapy* , 8: 277-281.
- ❖ **Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. and Pizzariello A.** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin

- bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* 2007; 100: 1481-1489.
- ❖ **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed.
  - ❖ **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. and Ferret A., 2007:** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Dairy Sci* ; 90: 2580-2595.
  - ❖ **CHERRAK, M.,** "Extraction, identification, pouvoir antibactérien et antifongique l'HE de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* )", Mémoire d'ingénieur d'état en biologie, Djelfa, p 86. **2001.**
  - ❖ **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 2000:** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170–175.
  - ❖ **Da Silva, S.I., Calgarotto, A.k., Chaar, J.S., Marangoni, S.** (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia Sylvestris* bark aqueous extract with anti inflammatory activity. *Toxicon*, (52), pp : 655-666.
  - ❖ **Daroui M.H., 2012:** Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (*Myrtaceae*), *Smyrniololus atratum* (*Apiaceae*), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (*Asteraceae*). Thèse de doctorat. Université de Annaba.
  - ❖ **David A., Hervé M. (1994).** Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse. 428p.
  - ❖ **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.
  - ❖ **Djeridane A ., Yousfi M ., Najemi B ., Vidal N ., Lesgards JF ., 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.
  - ❖ **Donrop A.M., Day N.P.** (2007). The treatment of severe malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **101**: 633-634.
  - ❖ **Dorman H.J.D. and Deans S.G., 2000:** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*; 88: 308-316.

- ❖ **Duru M. E., Cakir a., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S. and Hirata T., 2003:** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species. *Fitoterapia*; 74: 170-176.
- ❖ **Dussault D., Dang V.K., Lacroix M., 2014 :** In vitro evaluation of antimicrobial activities of various commercial essential oils, oleoresin and pure compounds against food pathogens and application in ham. *Meat science*; 96: 514-520.
- ❖ **Dworkin MM and Falkow S, 2006.** Proteobacteria : Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, p. 1248.
- ❖ **Ernandez, M.A., Garcia M.D., Saenz M.T. (1996).** Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *sclophularia frutescens* and *sclophularia sambucifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(1), pp: 11-14.
- ❖ **Ezeja, M. I., Ezeigbo, I. I, Madubuike, K. G. (2011).**Analgesic activity of the methanolic seed extract of *Buchholzia coriacea*. *ResearchJournal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2, pp: 187-193.
- ❖ **Ferchichi L., Merza J., Landreau A., Le Ray A.M., Legseir B., Seraphin D., and Richomme P. (2006).** Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris L. subsp. campestris*. *Biochem Syst. and Ecol.* **34**: 829-832.
- ❖ **Gentil A., 1923,** Dictionnaire étymologique de la flore française, Le chevalier P., Paris. P21.
- ❖ **Ghrib,(1988).**travaux pratiques de chimie thérapeutique ,p40-50.
- ❖ **Girre,L .(1980).** Les plantes et les médicaments , l'origine végétale de nos médicament. Delachaux Et Niestlé SA ,Paris .
- ❖ **Guignard J.L. (2000).** Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp.177-185.
- ❖ **Hurabielle M., and Eberle J. (1982).** Flavonoids of *Artemisia campestris ssp. glutinosa*. *Planta Med.* **46** (2):124–125.
- ❖ **Jerkovic J., Mastelic M. Milos., Juteau F., Masotti V and VianoJ. (2003).**
- ❖ **Joa O.M., Vasconcelos.,Artur M.S.S and Jose A.S.C. (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestrisSubspMaritima*. *Phytochemistry.* **49** (5): 1421-1424
- ❖ **Jordan J.M., Lax V., Rota M.C., Loran S. and Sotomayor J.A., 2013:** Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis L.* *Food control*; 30: 436-468.

- ❖ **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.
- ❖ **Khadem S et Robin J. Marles.,** (2011). Chromone and Flavonoid Alkaloids: Occurrence and Bioactivity. *Molécules* N°ISSN 1420-3049. Canda. P 195.
- ❖ **Khebri S.,** 2011: Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia*. Mémoire de Magister. Université de Batna.
- ❖ **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.
- ❖ **Le hir A,** (1983). Pharmacie galénique. Vol 1. France, Paris. Masson. P 76.
- ❖ **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y.** (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 7292-7295.
- ❖ **LEVY Y .,** (1969) carrageenan paw oedema in the mouse .life sciences .8,pp.217-235.
- ❖ **Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviano C. S. and Kolodziejczyk P.P.** (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry.* **69**:1732-1738.
- ❖ **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.
- ❖ **Middleton, J.E.** (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol* 439, pp : 175–82.
- ❖ **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. OilRes.* **19** : 326–329
- ❖ **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.
- ❖ **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.

- ❖ **Okmu, D.E(2005)**.Phytochemocal, Vitamine and minerals contents of two Nigerian medicinal plants.Int- J MolAdvSci :1(4)p375-381.
- ❖ **OULD EL HADJ M. DIDI, HADJ-MAHAMMED M., ZABEIROU H.** « Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouaragla ». Courrier du savoir- N 03, PP. 47-51, Janvier 2003.
- ❖ **OZENDA P., 1977.** - Flore du Sahara. Paris, C.N.R.S., 622 p.
- ❖ **Paris M et Hurabielle.** (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- ❖ **Paris, R .Hurabielle, M. (1981).** Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Tom I, Masson , Paris .
- ❖ **Pavela R.** (2009). Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culexquinquefasciatus*Say larvae (Diptera: Culicidae). *J. Parasitol Res.***105**: 887–892.
- ❖ **Pharmacopée Européenne,** (1986). Reactifs 2eme Editions, Maisonneuve S.A, France.
- ❖ **Ponce,A.G.Fritz,R .Del valle ,C. Roura, S.I.(2003).** Antimicrobial activitys of essential oils in the native microflora of organic swiss chad. *Lebensmittel.Wissenshaft and technologic*,36,679-684.
- ❖ **Prasenjit, M., Mahua, S., Parames., C.S.** (2009). Protective role of arjunolic acid in response to streptozotocin-induced type-I diabetes via the mitochondrial dependent and independent pathways. *Toxicology* 257, pp : 53–63.
- ❖ **Quezel et Santa.** (1962). Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p.
- ❖ **Rauter A.P., Branco I., TostaoZ ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B.** (1989).Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry.* **28 (8)**: 2173-2175
- ❖ **Rauter A.P., Branco I., TostaoZ ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B.** (1989).Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry.* **28 (8)**: 2173-2175
- ❖ **RIZK A.M.,** 1982- Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia, Elsevier B.V. Amsterdam* 52 (2) : 35-42.
- ❖ **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

- ❖ **Salamci E., Kordali S., Kotan R., Carin A. et Kaya Y., 2007:** Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* Var. *chiliophyllum*. *Biochemical systematic and ecology*; 35: 569-581.
- ❖ **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* **8**: 121-137.
- ❖ **Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* **48**: 1986–1993.
- ❖ **Shihi, H. Pickwell, G.V, Quattrochi, L.C. (2003)** Differential effects of flavonoid: compounds on tumor promoter-induced activation of the human CYP1A2 enhancer. *Archi: Biochem. Biophys.* 373,287-294
- ❖ **Tela Botanica, (2015).** [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org).
- ❖ **Trease, E. Evans, W.C. (1987).** *Pharmacognosy Billiaire*. Tindall. London.
- ❖ **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.
- ❖ **Valnet J. (1984)** - Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- ❖ **Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M. and Parkanyi C. (1995).** GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. *Dev. Food Sci.* **37A**: 147-205
- ❖ **Zaouali Y., Bouzaine T. et Boussaid M., 2010:** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology* 48: 3144-3152.
- ❖ **Zheng W.F., Tan R.X., Yang L., and Liu Z.L. (1996).** Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta. Med.* **62**: 160-162.
- ❖ **Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., Aydi M.A. et Neffatil M., 2010:** Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research* 4: 871-880.

## ANNEXE (I)

### Appareillage, Verrerie et réactifs

Appareillage	Verrerie	Réactifs et autres produit
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agitateur</li> <li>- Bain marie</li> <li>- Etuves bactériologiques (25°C)</li> <li>- Incubateur</li> <li>- Plaque chauffante.</li> <li>- Centrifugeuses</li> <li>- Sonde œsophagique pour souris</li> <li>- Portoir de tubes à essai</li> <li>- Réfrigérateur</li> <li>- Balance de précision</li> <li>- Balance pour animaux</li> <li>- Microtome</li> <li>- Portoir pour tubes et cuves</li> <li>- Spectrophotomètre</li> <li>- Bec benzène</li> <li>- Hotte</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- béchers</li> <li>- fiole</li> <li>- entonnoir</li> <li>- Pipettes Pasteurs</li> <li>- Tubes à essai stériles</li> <li>- cuves</li> <li>- cloche à éther</li> <li>- béchers</li> <li>- pipettes graduées</li> <li>-</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- alcool éthylique</li> <li>- solution alcoolique KOH à 10%</li> <li>- d'acétate de plomb</li> <li>- Dragendroff,</li> <li>- FeCl<sub>3</sub> diluée</li> <li>- NH<sub>4</sub>OH concentré (30%)</li> <li>- Acide Chlorhydrique (HCL) à 10%</li> <li>- methanol</li> <li>- Eau physiologique</li> <li>- Ether « Rectapur ».</li> <li>- Carragénine</li> <li>- d'éclofenac</li> <li>- glibenclamide</li> <li>- Chloroforme</li> <li>- Eau distillée</li> <li>- seringues, embouts.</li> <li>- Compresses, coton, sparadrap, gants.</li> </ul>



**Balance de précision**



**Plaque chauffante**



**Clevenger**



**Etuve**



**Bain Marie**



**rotavapeur**



**Spectrophotomètre**

---

**ANNEXE (II)**

---

**Étapes de déroulement de l'étude.**

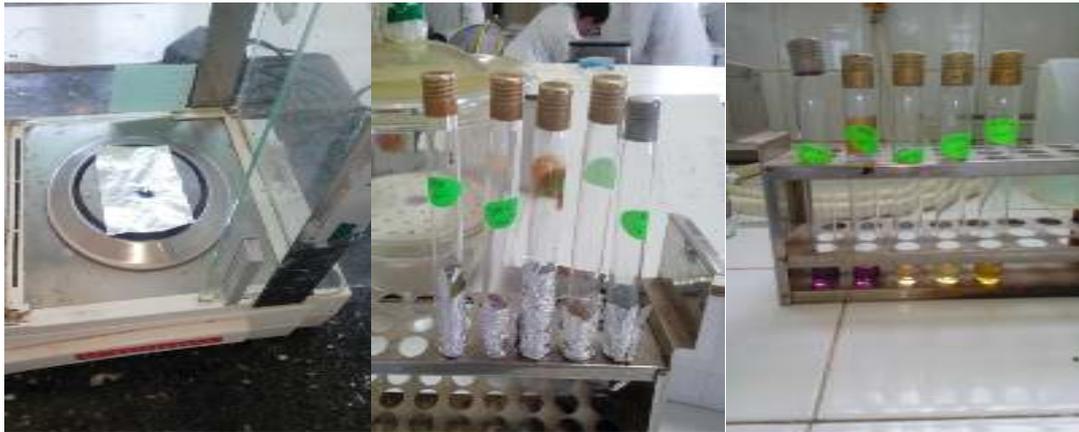
**Figure 15 :** Etapes de préparation de l'extrait aqueux « infusé » (Originale, 2016).



**Figure 16 :** Identification de quelques composés chimiques (Originale, 2016).



**Figure 17 :** Etapes de déroulement de l'activité anti- inflammatoire (Originale, 2016).



**Figure 18 :** Etapes de déroulement de l'activité anti- oxydant (Originale, 2016).



**Figure 19 :** Etapes de déroulement de l'activité anti-bactérienne (Originale, 2016).

## ANNEXE (III)

**Tableau 10 :** Moyennes des pattes gauches et droites des 3 lots de souris

lots	Témoin		référence		Extrait aqueux	
	D	G	D	G	D	G
1	0.122	0.195	0.170	0.173	0.136	0.144
2	0.134	0.172	0.151	0.164	0.104	0.120
3	0.121	0.190	0.131	0.149	0.110	0.142
4	0.111	0.164	0.150	0.169	0.129	0.138
5	0.125	0.157	0.138	0.163	0.123	0.143
6	0.114	0.151	0.121	0.147	0.121	0.146
<b>MOYENNE</b>	<b>0.121</b>	<b>0.171</b>	<b>0.1435</b>	<b>0.1608</b>	<b>0.120</b>	<b>0.138</b>

**Tableau 11:** pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des 3 lots de souris

	Poids pattes (g)		% d'œdème	% de réduction d'œdème
	Gauches	Droites		
Témoin	0.171±0.017	0.121±0.008	41.32	00
référence	0.1608±0.010	0.1435±0.017	10.75	73.98
Extrait aqueux	0.138±0.009	0.120±0.0118	15	63.69

**Tableau 12 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de vitamine C.

Concentration $\mu\text{g/ml}$	D.O de Vit C	I% de VitC
0	0	0
0,3	0,066	92,8338762
0,003	0,268	70,9011944
0,0003	0,483	47,5570033
0,00003	0,603	34,5276687
0,000003	0,739	19,7611292

**Tableau 13 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait éthanolique *d'Artemisia campestris*.

Concentration $\mu\text{g/ml}$	D.O E.E <i>d'A.campestris</i>	I% de E.E <i>d'A.campestris</i>
0	0	0
0,5	0,102	88,9250814
0,005	0,365	60,369164
0,0005	0,554	39,8479913
0,00005	0,673	26,927253
0,000005	0,788	14,4408252