

**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 de la Vie**  
**Département de Biologie des Populations et des Organismes**  
**Mémoire de Fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de**  
**Master en Biologie**  
**Option : Phytothérapie et Santé**

**THEME**

**Etudes comparatif des activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux d'*Atrtemisia campestris* L. récoltée dans deux régions : Djelfa et Tamanrasset.**

**Présenté par :**

**Rouabeh Hadda**

**Soutenues le : 21/09/2017**

**Devant le Jury composé de :**

**M<sup>me</sup> : Cherif H.**

**MCB**

**UB1 Présidente**

**M<sup>me</sup> : Amedjkouh H.**

**MAA**

**UB1 Examinatrice**

**Mme : Benmanssour N.**

**MCB**

**UB1 Promotrice**

**Promotion : 2016 - 2017**

## *Remerciements*

En premier lieu et avant tout nous remercions DIEU « ALLAH » le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force de réaliser ce projet de fin d'étude.

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos profonds remerciements à notre promotrice **M<sup>me</sup> BENMANSOUR N.** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous accordé nous a permet de réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à **M<sup>me</sup> CHERIF H.** d'avoir accepté de présider le jury.

Nous tenons à remercier **M<sup>me</sup> Amedjkouh H.** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à l'ensemble du personnel du laboratoire de bactériologie médicale de laboratoire d'Hygiène de Blida, laboratoire d'analyse physico chimique et laboratoire toxicologique du groupe CRD.

Nous remercions tous nos collègues et amis, pour les conseils, les services et plus particulièrement pour l'amitié qu'ils nous ont témoignées. Nous vous souhaitons à tous bonheur, réussite et tout le bien que vous méritez.

## *Dedicace*

Pour tes mains qui ont tant travaillé,  
Pour ton sourire qui m'a tant réchauffé et qui me manque terriblement,  
Pour tes yeux qui m'ont vu grandir,  
Pour toi m'a tant aimé.

### **....A toi mon cher papa**

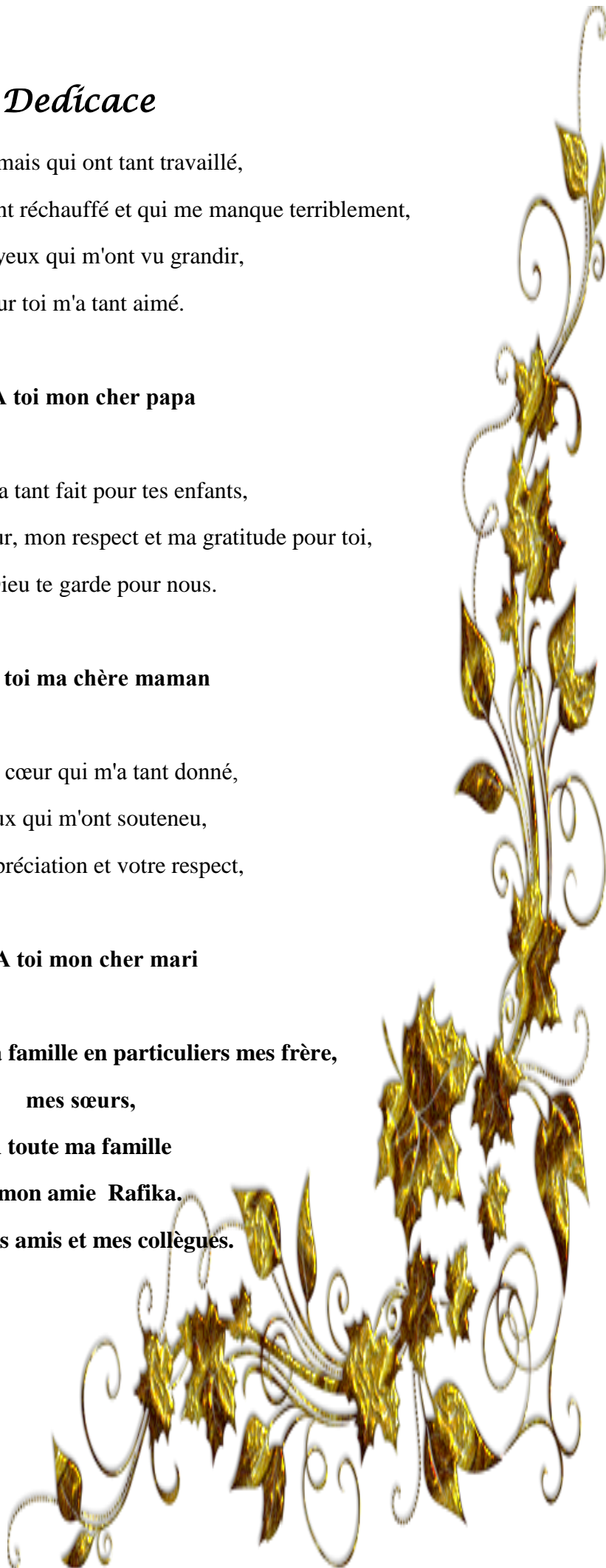
A toi qui a tant fait pour tes enfants,  
Sois sure de mon amour, mon respect et ma gratitude pour toi,  
Que Dieu te garde pour nous.

### **.....A toi ma chère maman**

Pour ton cœur qui m'a tant donné,  
A ceux qui m'ont soutenu,  
Votre appréciation et votre respect,

### **.....A toi mon cher mari**

**Je dédie à tout ma famille en particuliers mes frère,  
mes sœurs,  
À toute ma famille  
À mon amie Rafika.  
À mes amis et mes collègues.**



## Table de matière

<b>Résumé</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b> .....	1

### 1<sup>er</sup> Partie : Partie Bibliographique

#### **Chapitre I : Généralité sur *Artemisia campestris L.***

I -1-Généralités.....	3
I -2- Description botanique.....	3
I -3- Systématique de la plante.....	3
I -4- Origine et distribution .....	4
I -5-Composition chimique.....	4
I-6-L'utilisation traditionnelle d' <i>Artemisa campestris</i> .....	5
I -7- Activités biologiques.....	6
A- Activité antioxydant.....	6
B- Activité antibactérienne.....	6
C- Activité anti-inflammatoire.....	7
D-Activité antispasmodique.....	8
E- Effets insecticide.....	9
F-Propriété allélopathiques.....	9
G-Activité hypoglycémiant.....	10
H-Effets antipoison.....	10

### 2<sup>émé</sup> Partie : Partie pratique

#### **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

I-1-Présentation de la zone d'étude.....	11
I-1- A- Situation géographique de la wilaya de Djelfa.....	11
I-1- B- Situation géographique de la wilaya de Tamanrasset.....	12
I-2- Matériel utilisé.....	14
I-2-2- Matériel biologique.....	14
I-A-Matériel végétal.....	14
I-B- Animaux.....	14
I-C-Bactéries.....	14
I-3- Méthodes.....	16

I-3-1-Prélèvement des échantillons.....	16
I-3-2-Préparation de l'extrait aqueux <i>Artémisia campestris</i> .....	16
I-3-3-Screening phytochimique.....	16
I-3-4- Extraction des huiles essentielles (HE) par la méthode d'hydrodistillation.....	18
I-3-5- Etude de la toxicité aiguë .....	19
A-Préparations des doses et des lots de souris.....	19
B-Observation des troubles symptomatiques.....	19
C- Evaluation des paramètres toxicologiques.....	21
I-3-6-Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo.....	21
I-3-6-1-Activité antioxydant ( <i>in vitro</i> ).....	21
I-3-6-2- Activité anti-inflammatoire ( <i>in vivo</i> ).....	23
I-3-6-3- Activité antispasmodique ( <i>in vivo</i> ) .....	25
I-3-6-4-Activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide.....	27
A-Méthode de Microatmosphère.....	27
B- Méthode de diffusion par disque.....	27
D- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice .....	29

## **Chapitre II : Résultat et discussion**

II-1-Détermination des caractéristiques organoleptiques.....	31
II-2-Screening Phytochimique.....	32
II-3-Extraction des huiles essentielles par Hydro distillation.....	33
II-4- Etude de la toxicité aiguë d'extrait aqueux.....	34
II-5-Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo.....	37
II-5-1-Activité antioxydante ( <i>in vitro</i> ).....	37
II-5-2-Activité anti-inflammatoire ( <i>in vivo</i> ).....	41
II-5-3-Activité antispasmodique ( <i>in vivo</i> ).....	43
II-5-4-Activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide ( <i>in vivo</i> ).....	45
II-5-4-1-Méthode d'Antibiose.....	46
II-5-4-2-Méthode CMI et CMB.....	48
<b>Conclusion</b> .....	52
<b>Références bibliographiques</b> .....	54
<b>Annexes</b>	

## Résumé

L'objectif assigné à ce travail est de tester les activités biologiques (antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et antispasmodiques) des extraits aqueux et des huiles essentielles d'*Artémisia campestris* L récoltée en (2017) dans la station de Tamanrasset et dans la station de Djelfa en (2016) .

Le rendement en huile essentielle varie en fonction de la masse de la matière végétale, par méthode hydrodistillation avec d'environ 0.30% pour *Artémisia campestris* de Djelfa et 0.25% pour *Artémisia campestris* de Tamanrasset .

L'examen phytochimique réalisé sur la partie aérienne d'*Artemisia campestris* L. a révélé la présence en quantité importante des polyphénols et des saponosides et des alcaloïdes dans les deux stations, et l'absence total des glucosides.

L'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. des deux régions, administré à des doses allant de 30 à 150 mg/kg, a provoqué la mort des souris. Les deux extraits sont modérément toxiques chez les souris.

Les extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la région de Djelfa et de Tamanrasset pouvaient ramener le radical libre stable (DPPH) avec des IC50 respectifs de 0.60 µg/ml et 0.43 ug/ml.

L'œdème du lot traité par la dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. de Tamanrasset réduit l'inflammation avec un pourcentage plus important par rapport à celui de l'extrait aqueux de Djelfa.

La dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Tamanrasset réduit le nombre de spasmes avec un pourcentage de protection plus important par rapport à celui de l'extrait aqueux de la station de Djelfa.

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L de Tamanrasset présente une action antibactérienne importante contre les bactéries Gram-: *Proteus* sp avec ZI (20mm), et surtout vis-à-vis des *Staphylocoques aureus* (23 mm). Par contre l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L de Djelfa présente une faible action antibactérienne contre les bactéries Gram-: *Proteus* sp avec ZI (09mm), et les *Staphylocoques aureus* (11 mm).

Les rapports CMB/CMI de l'HE d'*Artemisia campestris* L de Tamanrasset sont égaux à 1. L'HE de Tamanrasset étudiée semble donc exercer à la fois une action bactériostatique et une action bactéricide contre les bactéries Grams+.

**Mots clés:** *Artémisia campestris* L., huile essentielle, Toxicité aigüe, activité antibactérienne, activité anti-inflammatoire, activité antispasmodique, activité antioxydante.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو تجربة الانشطة البيولوجية ( مضادات الميكروبات، مضادات الاكسدة، المضادة للالتهاب و مضاد للتشنج) من المستخلصات المائية و الزيوت الاساسية من *Artémisia campestris L.* التي حصدت في فيفري 2017 من منطقة تمنغاست و في نوفمبر 2016 من منطقة الجلفة.

المردودية من الزيت الاساسي يختلف وفقا للمادة النباتية بطريقة التقطير بالماء مع حوالي % 0.3 ل *Artémisia campestris L* لمنطقة الجلفة و % 0.25 ل *Artémisia campestris L* لتمنغاست .

فحص الكيمياء التي اجريت على الجزء العلوي من *Artémisia campestris L* كشف وجود البوليفينول، و الصبونيزيدات و الالكالويدات في المنطقتين و غياب الكلي للغلوكوزيد.

المستخلص المائي من *Artémisia campestris L* للمنطقتين تدار في جرعات تتراوح من 30 الى 150ملغ/كغ، تسبب ب وفاة الفئران، المستخلصين تعد سمية معتدلة عند الفئران.

المستخلصات المائية من *Artémisia campestris L* لمنطقة الجلفة و تمنغاست يمكن استعادة الجذور الحرة 2,2 ثنائي الفينيل -1- بيكريلهدرازيل، مع تركيز المثبطة 50 بالترتيب 0,60 % 0,43 % ميكروغرام / مل.

الوذمة تعالج بالجرعة (3,0 غ/ل) المستخلص المائي من *Artémisia campestris L* لتمنغاست يقلل من الالتهاب مع نسبة اعلى مقارنة مع المستخلص المائي لمنطقة الجلفة.

الجرعة (3,0 غ/ل) من المستخلص المائي من *Artémisia campestris L* لتمنغاست يقلل من عدد تشنجات مع نسبة اعلى من الحماية مقارنة مع المستخلص المائي لمنطقة الجلفة.

الزيوت الاساسية من *Artémisia campestris L* لتمنغاست لديه عمل مضاد للجراثيم المهم ضد البكتيريا الجرام - : بروتوس مع منطقة التثبيط (20 مم)، ايريشريشيا كولي ( 19مم) وخاصة ضد ستافيلو كوكيس (23مم) مع اختلاف الزيت الاساسي من *Artémisia campestris L* لمنطقة الجلفة لديه عمل ضعيف ضد البكتيريا غرام - : بروتوس مع منطقة التثبيط (09مم) ، ايريشريشيا كولي (09مم) ، ستافيلو كوكيس (11مم)

تقارير تركيز المثبط الحد الادنى من الاساسي من *Artémisia campestris L* من منطقة تمنغاست تساوي 1 يبدو ان الزيت الاساسي لتمنغاست له دور في ممارسة كل من عمل مضاد الجراثيم و مثبط للبكتيريا غرام +

**الكلمات المفتاحية :** *Artémisia campestris L* زيت اساسي ،سمية حادة ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للالتهاب ، نشاط مضاد، نشاط مضاد للتشنج ، نشاط مضاد للاكسدة.

## Abstract

The objective set for this work is to test the biological activities (antimicrobial, antioxidant, antiinflammatory and antispasmodic) of aqueous extracts and essential oils of *Artemisia campestris* L harvested in February (2017) in the Tamanrasset station and in month of November (2016) in the station of Djelfa.

The yield of essential oil varies according to the mass of the plant material. Using hydrodistillation's method with 0,30% for *Artemisia campestris* harvested in the station of Djelfa and 0.25% for *Artemisia campestris* harvested in the Tamanrasset station.

The phytochemical examination carried out on the aerial part of *Artemisia campestris* L revealed the presence of polyphenols, saponosides and alkaloids at both stations. However the absence of glucosides.

The aqueous extract of *Artemisia campestris* L. from the two regions, administered at doses 30 to 150 mg / kg, caused the death of the mice, according to the constituted batches. There is a increase the mortality of the animals as the dose increases.

Aqueous extracts of *Artemisia campestris* L. from the region of Djelfa and Tamanrasset could restore the stable (DPPH) to with respective IC 50 of 0.60 µg / ml.

The edema of the batch treated with the dose (0.3g / l) of aqueous extract of *Artemisia campestris* L. the Tamanrasset station reduces inflammation with a higher percentage important compared to that of the aqueous extract of the station of Djelfa

The dose (0.3 g / l) of water extract of *Artemisia campestris* L. from the Tamanrasset reduces the number of spasms with a higher percentage of protection compared to that of the aqueous extract of the station of Djelfa

The essential oil harvested in the Tamanrasset area has an important antibacterial action against Gram-bacteria: *Proteus* sp (20mm) *E.coli* (19 mm) and especially against *Staphylococcus aureus* (23 mm). On the other hand the essential oil harvested in the region of Djelfa presents a low antibacterial action against Gram-bacteria: *Proteus* sp (09mm), *E.coli*( 09mm) and *Staphylococcus aureus* (11 mm).

The CMM / CMI reports of the essential oil of *Artemisia campestris* L of Tamanrasset are equal to 1. The essential oil of *Artemisia campestris* L. from Tamanrasset studied seems thus exerting both a bacteriostatic action and a bactericidal action against the bacteria Gram+ .

**Key words:** *Artemisia campestris* L., essential oil, Acute toxicity, antibacterial activity, anti-inflammatory activity, antispasmodic activity, antioxidant activi.



## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Localisation et texture du sol des stations d'études.....	13
<b>Tableau 02:</b> Microorganismes utilisés et les principales maladies qu'ils peuvent causer.....	15
<b>Tableau 03:</b> Répartition des lots de souris et leur soumission au test de l'effet anti-inflammatoire.....	24
<b>Tableau 04:</b> Répartition des lots et leur soumission au test de l'effet antispasmodique.....	26
<b>Tableau 05:</b> Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (DI).....	29
<b>Tableau 06 :</b> Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> .de la région de Tamanrasset.....	31
<b>Tableau 07:</b> Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne d' <i>Artemisia campestris L</i> .....	32
<b>Tableau 08 :</b> Taux de mortalité des souris après gavage de l'extrait aqueux d' <i>Artemisia campestris L</i> .des deux régions .....	35
<b>Tableau 09 :</b> Classe de toxicité, selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner (1943).....	36
<b>Tableau 10 :</b> Nombre moyen de spasmes et pourcentages de protection (%) des extraits aqueux d' <i>Artemisia campestris L</i> . de la station de Djelfa et de Tamanrasset.....	44
<b>Tableau 11 :</b> Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) des régions de huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris L</i> . récoltée dans la Tamanrasset.....	48
<b>Tableau 12.</b> Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris L</i> récoltée dans la région de Djelfa.....	48

<b>Tableau 13:</b> Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMB) des huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris L.</i> récoltée dans la région de Tamanrasset.....	49
<b>Tableau 14.</b> Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMB) des huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris L.</i> récoltée dans la région de Djelfa.....	49

## Liste des figures

<b>Figure.01</b> : fleur d'Armoise rouge.....	4
<b>Figure.02</b> : feuille d'Armoise rouge.....	4
<b>Figure.03</b> : Carte de localisation de la station de récolte la ville de Djelfa.....	12
<b>Figure.04</b> : Carte de localisation de la station de récolte la ville de Tamanrasset.....	13
<b>Figure.05</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	22
<b>Figure.06</b> : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	28
<b>Figure.07</b> : Influence du poids d' <i>Artemisia campestris</i> récoltée dans la station de Djelfa sur le rendement en huiles essentielles.....	33
<b>Figure.08</b> : Influence du poids d' <i>Artemisia campestris</i> récoltée dans la station de de tamanrasset sur le rendement en huiles essentielles....	33
<b>Figure.09</b> : Pourcentage d'inhibition d'extrait d' <i>Artemisia campestris</i> L. de région de Djelfa et de la l'acide ascorbique.....	38
<b>Figure.10</b> : Pourcentage d'inhibition d'extrait d' <i>Artemisia campestris</i> L. de la région de Tamanrasset et de la l'acide ascorbique.....	38
<b>Figure.11</b> : Pourcentage d'inhibition des extraits aqueux des deux régions de Djelfa et de Tamanrasset et de l'acide ascorbique.....	39
<b>Figure.12</b> : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits aqueux de Djelfa et de Tamanrasset.....	40
<b>Figure.13</b> : Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia campestris</i> L. récoltée dans région de Djelfa.....	42
<b>Figure.14</b> : Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia campestris</i> L. récoltée dans la région de Tamanrasset.....	42
<b>Figure.15</b> : pourcentages de protection des extraits aqueux d' <i>Artemisia</i> <i>campestris</i> L. de la station de Djelfa et de Tamanrasset et de Spasmodyl...	45

<b>Figure.16:</b> Diamètres des zones d'inhibition en mm des germes-cible par les extraits d' <i>Artemisia campestris</i> L. des deux stations de Djelfa et de Tamanrasset. ....	46
<b>Figure.17:</b> l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d' <i>Artémisia. campestris</i> Récoltée dans la de région Djelfa et Tamanrasset .....	47

## Liste des abréviations

**C.R** : Crachat.

**PA** : Plaie

**ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines.

**Rt en HE** : Rendement en HE, exprimé en %

**P'** : le Poids de l'HE, en gramme

**P** : le poids de la matière végétale, en gramme

**Abs** : Absorbance

**Lot T** : Lot Témoin

**Lot E** : Lot Essai

**% V t** : le Volume de la patte au temps .

**V<sub>o</sub>** : le Volume initial de la patte.

**%AUG** : le pourcentage d'augmentation de l'inflammation.

**INH** : le pourcentage d'inhibition de l'inflammation

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**T** : Témoin

**MH** : Muller Hinton

**HE** : Huile Essentielle

**E** : Essai.

**DI** : Diamètre d'inhibition.

**DL** : Dose létale

**DPPH** : Diphenyl-1-Picrylhydrazyl.

**E** : Escherichia.

**EC<sub>50</sub>** : Efficient Concentration 50.

**DL<sub>50</sub>** : Dose létale 50%

**DL<sub>100</sub>** : Dose létale 100%

**a** : moyenne de la somme des morts entre deux doses successives

**b** : différence entre deux doses successives

**n** : moyenne du nombre d'animaux utilisés par lot

## *Introducción*

De l'antiquité, aux temps modernes ; sorciers, chamanes et autres guérisseurs ont exploité les avantages des remèdes fournis par « dame nature », pour guérir les maladies humaines. Comme de nombreux produit de la nature, les plantes sont utilisées en médecine, en pharmacie et en biologie **(Teiten et al., 2013)**.

Les plantes médicinales sont employée parfois de façon sélective de par la tradition. Au fil des siècles, une première distinction a pu être faite entre les plantes comestibles et celle toxiques. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisation de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du 20<sup>e</sup> siècle, presque tous les médicament étaient à base de plantes **(Khelifi et al., 2013)**.

De nos jours, et surtout dans les pays du tiers monde, la phytothérapie occupe encore une place importante. La flore de ces pays reste assurément riche et prometteuse, tant dans la perspective de découvrir de nouvelles espèces botaniques que de trouver de nouvelles molécules ayant une activité thérapeutique, pour la mise au point de nouveaux médicaments **(Khelifi et al., 2013)**.

Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement riche, elles contiennent des structures chimiques complexes. Le métabolisme des plantes contient des milliers de différents constituants dont l'effet nocif ou toxique **(Khelifi et al., 2013)**.

Seulement 20% des plantes dans le monde ont été soumises à des test et à des examens pharmacologique ; dans ce contexte, il devient possible que des antioxydant anti-cancéreux et anti-inflammatoires naturels dérivés des plantes soient utilisés comme supplémentation nutritionnelle et pour la consommation humaine **(Khelifi et al., 2013)**.

Par ailleurs, l'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique au vu de sa position biogéographique privilégiée et son étendue entre la méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. En effet, la flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémique la composent.

De nombreuses plants algériennes possèdent des propriétés médicinales et une demande croissante pour les remèdes d'origine végétale est relevée **(Bakchiche et al.,2013)**.

Ces plantes contiennent des composées phénoliques et flavonoïdes qui sont des antioxydants naturels qui ont aussi des propriétés anti mutagène, anti cancérigènes, cardioprotectrices, anti inflammatoires et antimicrobiennes.

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 ont déterminé leurs compositions chimiques (**Rauter et al., 1989 ; Joao et al., 1998**), ainsi que les propriétés biologiques (**Memmi et al., 2007 ; Sefi et al., 2010**).

Dans la valorisation flore Algérienne, que nous sommes intéressés à étudier l'effet des huiles essentielles extraites de deux plantes pour la même espèce d'*Artémisia campestris L.* Récoltée dans la région de Djelfa et Tamanrasset. Aussi nous avons testé des quelques activités biologiques de chacune de ces plantes.

Notre travail comporte donc les étapes suivantes :

- ❖ Caractérisation phytochimique de l'extrait aqueux des deux plantes.
- ❖ Extraction de l'huile essentielle des deux plantes.
- ❖ Evaluation de l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) des huiles essentielles.
- ❖ Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.
- ❖ Evaluation de l'activité antispasmodique.
- ❖ Evaluation de l'activité anti-oxydante par un test (test de DPPH).
- ❖ La toxicité aiguë des extraits aqueux.



*1<sup>er</sup> Partie*

*Partie Bibliographique*

## *Chapitre I*

*Généralité sur *Artémisia campestris* L.*

### I -1-Généralités

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli et Maffei., 2002). Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels 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).

### I -2- Description botanique

*Artemisia campestris* est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et a un pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia* sont glabres de couleur verte foncée, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (Quezel et Santa., 1962; Ozenda, 1983; David et Hervé., 1994) ( Figure 01 et 02).

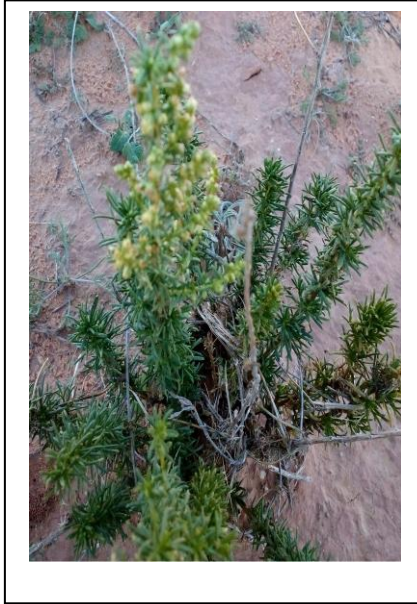
### I -3- Systématique de la plante

Selon Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* est classée dans :

<b>Règne</b>	: Plantae
<b>Sous règne</b>	: Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	: Spermatophyta
<b>Sous embranchement</b>	: Magnoliophyta
<b>Classe</b>	: Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	: Asteridae
<b>Ordre</b>	: Asterales
<b>Famille</b>	: Asteraceae
<b>Sous famille</b>	: Asteroideae
<b>Tribu</b>	: Anthemideae
<b>Sous Tribu</b>	: Artemisiinae
<b>Genre</b>	: <i>Artemisia</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Artemisia campestris</i> L.

**Nom vernaculaire :** Degouft, Alala, Tagouft, Tagoug (A li-Delille., 2010). Et Armoise rouge (Lombard et Bajon 2000).

**Nom anglais :** Field Sagenort, Sagewort, Wormwood ( Ozanda., 1977).



**Figure.01.** fleur d'Armoise rouge.



**Figure.02.** feuille d'Armoise rouge.

#### **I -4- Origine et distribution**

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

#### **I -5- Composition chimique**

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

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

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le hémotype 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**).

Plusieurs études (**Akrout et al., 2001 ; Juteau et al., 2002**) ont rapporté sur la composition des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*. 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 et caractérisés, les plus abondants sont :  $\gamma$ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4- pentadiyne, spathulenol, methyleugenol, 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* ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques. Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont: flavone (apégénine), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (**Valant et al., 2003**).Les feuilles d'*Artemisia campestris* contiennent aussi des alcaloïdes et des saponines.(**Naili et al., 2010**).

### **I-6-Utilisation traditionnelle d'*Artemisa campestris***

*Artemisia campestris* est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies: En usage local l'*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**).

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'*A. campestris* permet de réduire les symptômes digestifs.

### I -7- Activités biologiques

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

#### A- Activité antioxydante

La partie aérienne d'*Artemisia campestris* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions 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'*Artemisa campestris* été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-1-picrylhydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée. De leur côté **Akrouit 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  $\beta$ -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulphonique acide), 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.

#### B- Activité antibactérienne

*Artemisia campestris* est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaire. **Naili et al (2010)** ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris*, ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*) **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* 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 *Artemisia campestris* possède des propriétés antifongiques, **Kyeong et ses collaborateurs (2007)** ont étudié l'effet antifongique de l'extrait aqueux des racines d'*Artemisia campestris* sur des champignons de mycorhize, les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux possède un potentiel antifongique.

Les plantes du genre *Artemisia* contiennent un sesquiterpène lactone appelé: 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'artemesinine possède également plusieurs activités, il est efficace contre les maladies infectieuses telle que l'hépatite B (**Romero et al., 2005**).

### **C- Activité anti-inflammatoire :**

#### **C-1- Définition :**

Ce sont des médicaments destinés à combattre un inflammatoire. Ils sont utilisés quand la réaction inflammatoire est exagérée et deviennent néfaste ( **Bannwarth., 2001**). Le but des médicaments anti-inflammatoires est de suspendre ou de ralentir la réaction inflammatoire (**Gazengel.,2007**).

#### **C-2- Définition de la réaction inflammatoire**

C'est l'ensemble des réaction tissulaires, vasculaire et humorales contre une agression ou une lésion non spécifique. Elle se déroule au niveau de tissu conjonctif.

Parmi les causes de la réaction inflammatoire : les infections (bactérie, virus, parasite, champignon), agent chimiques, traumatisme, et autres.

L'inflammation est caractérisée par quatre symptômes ( rougeur, douleur, chaleur, œdème) (**Annie et Françoise., 2001**).

#### **C-3- Types de la réaction inflammatoire**

Il existe deux types de la réaction inflammatoire :

##### **C-3-1- L'inflammation aigüe**

l'inflammation est aigüe lorsqu'elle implique une réaction immédiate et localisée. Elle permet d'éliminer l'agent agresseur et aboutit à une réparation des tissus ( **Weill et Batteux., 2003** ).

### **C-3-2- Inflammation chronique**

L'inflammatoire chronique est une réaction inflammatoire prolongée. Ainsi la phase cellulaire de la réaction inflammatoire peut persister et donc évoluer vers une chronicité. L'inflammation chronique peut entraîner des troubles fonctionnels grave du tissu atteint et doit être chronique est due à une clairance incomplète du stimulus inflammatoire initial, et se caractérise par un changement progressif de l'infiltrat cellulaire par rapport à celui observé au cours de l'inflammation aiguë (**Korganaw et al., 2002**).

### **C-4- Anti-inflammatoires d'origine végétale:**

De nombreuses études ont démontré que les flavonoïdes déploient leur activité pharmacologique, notamment anti-inflammatoire par l'utilisation d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes exercent leur effet puissant par l'inhibition de la production de prostaglandines ; des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet, serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipoxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase. (**Manthey et al., 2000**).

Certaines kinases (PKC, la P13 Kinase et tyrosine kinase), impliqués dans la réponse de l'inflammation sont aussi touchés par les flavonoïdes. (**Middleton et al., 2000**)

La présence de la double liaison  $C_2 = C_3$  dans le noyau des flavonoïdes paraît être essentielle dans leur activité anti-inflammatoire (**Kim et al., 1996**).

### **D-Activité antispasmodique**

Les spasmes sont des contractions durables et intenses des muscles lisses des organes creux, et qui s'accompagnent de douleurs intenses. (**Combrisson et al., 2008**). La douleur apparaît à la suite d'une inflammation, d'une contraction musculaire d'un spasme vasculaire d'une infection locale. (**Cohenet et Fosquet, 2001**).

#### **D-1- Définition d'un antispasmodique :**

Les antispasmodiques sont des substances d'origine naturelle ou synthétique utilisées dans le but de supprimer un spasme (contraction durable au niveau d'un muscle lisse ou d'un sphincter). Ils sont sédatifs et dans certains cas des dépresseurs du Système nerveux central. (**Pieri, 1992**).



### D-2- Antispasmodiques d'origine végétale :

L'effet antispasmodique serait lié à sa teneur en composés phénoliques tel que le carvacrol et les flavonoïdes. Ils agissent en bloquant les canaux de calcium. Les flavonoïdes agissent en

inhibant la réponse des récepteurs spécifiques à l'action de stimulants (acétylcholine, noradrénaline) (Saleh et al., 1985).

D'autres composés sont aussi impliqués tels que ; l'acide caféique, le borneol, l'apigénine, le limonène, le linalool , le pinène et le terpène 4-ol ( Gharabi et al., 2008).

Le mécanisme d'action est lié à la nature des composants aux propriétés lipophiles et de faible poids moléculaire qui s'intègrent de manière réversible aux membranes cellulaires des muscles lisses, ce qui inhibe l'entrée de  $Ca^{2+}$  dans les cellules et empêche à terme la contraction de ces organes. L'introduction des huiles essentielles sous forme diluée diminue les spasmes ( Bruneton., 2009). De nombreuses plantes sont douées de pouvoir antalgiques, entre autres ; l'*Artemisia campestris*.L (Ali-Delille., 2010 ; Baba Aïssa, 2011).

### E- Effets 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.

### F-Propriétés allélopathiques

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

### **G-Activité hypoglycémiante**

**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 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.

### **H- Effets antipoison**

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

*2<sup>ème</sup> Partie*

*Partie pratique*

*Chapitre I*  
*Matériel et Méthodes*

Durant notre stage pratique nous avons évalué l'activité biologique de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux de la plante *Artémisia campestris*.L Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 4 mois : mois de Février jusqu'au mois de Mai 2017. Les différentes expérimentations ont été effectuées au niveau de :

- Laboratoire de Phytopharmacie de la faculté d'Agronomie de Blida (réaliser l'extraction de l'huile essentielle de la plante).
- Laboratoire de Pharmaco-toxico de CRD de Médéa (effectuer des activités pharmacologiques).
- Laboratoire d'Hygiène (établissement Public de Santé) (effectuer des activités microbiologiques).

L'objectif de cette étude se base sur :

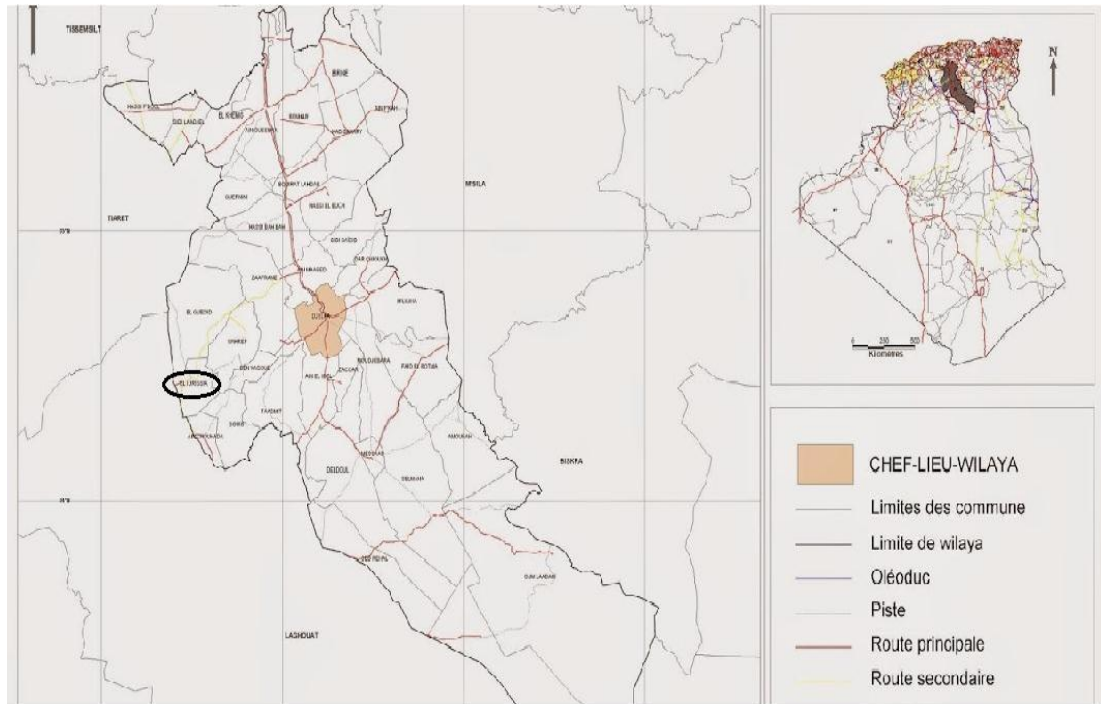
- L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux d' *Artémisia campestris*.L
- Et l'évaluation des activités biologiques de la plante : activités antimicrobiennes de l'huile essentielle et des activités anti-inflammatoires, antispasmodiques et antioxydants de l'extrait aqueux de la plante.

### II -1-Présentation de la zone d'étude

#### II-1- A- Situation géographique de la wilaya de Djelfa

La wilaya de Djelfa est localisée dans la partie centrale de l'Algérie du nord, où elle fait partie des monts des Ouled Nail. Située à 300 km au sud de la capitale (A.N.A.T., 2002).

#### Figure 03.



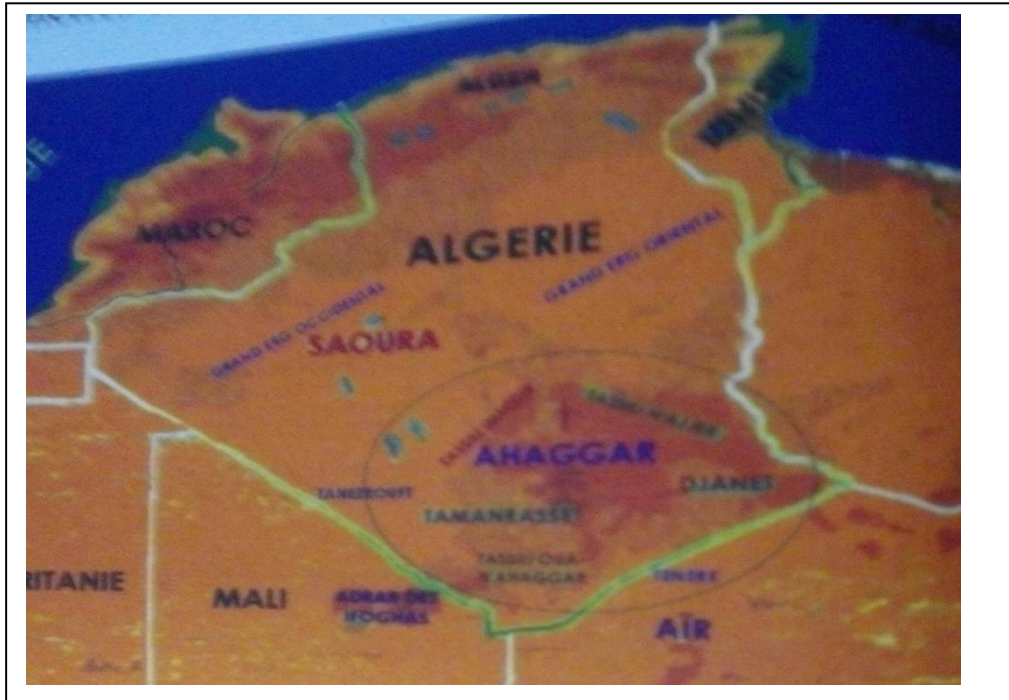
**Figure.03.** Carte de localisation de la station de récolte de la ville de Djelfa (A.N.A.T., 2002)..

### II-1-A-a- Choix et localisation de la station d'étude

La zone d'étude fait-partie de El Idrissia située à 97 km Sud-Ouest de la wilaya de Djelfa.

### II-1- B- Situation géographique du wilaya Tamanrasset

L'Ahaggar (HOGGAR) est la partie la plus méridionale du Sahara algérien. Compris entre 21°-25° de latitude nord et entre 3°- 6° de longitude, il est limité au nord par le plateau du Tidikelt et la cuvette du Touat, à l'est par les falaises du Tassili n'ajjer, à l'ouest par la plaine du Tanezrouft, au sud-est par l'Adrar des Ifoghas. Couvrant une superficie d'environ 554.000 km<sup>2</sup> soit les ¼ de la surface globale de l'Algérie (Sahki et Sahki ., 2004).



**Figure.04.** Carte de localisation de la station de récolte de la ville de Tamanrasset (Sahki et Sahki ., 2004)..

**II-1- B-a - Choix et localisation de la station d'étude**

La zone d'étude fait-partie de l'oued Talanteneche située à 6 km Nord-Est de la ville de Tamanrasset.

La localisation géographique avec la texture du sol des stations d'études sont données dans le tableau 01.

**Tableau 01:**Localisation et texture du sol des stations d'études

Station	Texturedusol	Latitude	Longitude	Altitude(m)
El Idrissia	S-S	34°26'54"N	2°31'44"E	1071
OuedTalanteneche	S-L	22°47'6"N	5°31'22"E	1501

S-L :Sablo-limoneux

S-S : Sol-sablonneux

## II-2- Matériel

### II-2-1- Matériel non biologique (AnnexeI)

### II-2-2- Matériel biologique

#### A-Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante *Artemisia campestris. L.* Elle été collectée en Novembre dans la région El idrissia (wilaya de Djelfa), et dans la wilaya Tamanrasset. Elle été collectée en Février, elles sont laissées à l'abri de la lumière dans un endroit sec.

La plante a été authentifiée au niveau du département de botanique d'Institut National d'Agronomie (I.N.A.) d'Alger.

#### B-Animaux

##### ✚Souris

Pour mener l'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris.L.* 60 souris (*Mus musculus*, Muridae) de race SWISS ont été utilisées (mâles et femelles) âgés de 08 semaines, avec un poids  $20 \pm 0.7$  grammes de poids corporel. Les souris mâles et femelles préalablement séparées ont été placées dans des cages plastiques aérées contenant des copeaux de bois régulièrement renouvelées tous les trois jours. Les 60 souris mâles et femelles ont été acclimatées aux conditions de l'animalerie pendant sept jours avant le traitement et sont nourris à partir des granulés.

#### C-Bactéries

Afin d'étudier le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* nous avons utilisé 05 souches bactériennes et fongiques d'origine clinique.

Les souches microbiennes proviennent du laboratoire de Microbiologie privé de Blida. Elles sont isolées à partir de trois produits pathologiques différents (urines, pus et selles) appartenant aux différents patients âgés de 30ans à 60 ans.

**Le tableau 02**, donne la liste des germes-cible, leur origine et les maladies qu'ils peuvent provoquer. Nous avons confirmé l'identification de ces germes en utilisant la galerie Api (La galerie Api est un test biochimique et c'est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi



permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés). Il existe différents types de galerie Api, selon le germe isolé:

- **Galerie Api 20 E** : pour l'identification des entérobactéries.
- **Galerie Api 20 NE** : pour les bacilles à Gram négatif oxydase positif.
- **Galerie Api Staph**: pour les staphylocoques.
- **Galerie Api Strepto**: pour les streptocoques.

**Tableau 02:** Microorganismes ciblés utilisés et les principales maladies qu'ils peuvent causer.

<b>Germes-cible</b>	<b>N ° G</b>	<b>P</b>	<b>Principales maladies pouvant être causées par ces germes</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	<b>C.R</b>	-Septicémie, toxi-infections alimentaires, et entérocolites aiguës, inflammations locales et formation du pus et furoncles (infections cutano-muqueuses), entérites, vulvites (inflammation de l'épithélium vulvo-vaginal).
<i>E coli</i>	4	<b>PA</b>	- Septicémie, infections urinaires, génitales, hépatobiliaires ou digestives, méningites, cholécystites et appendicites entérites, toxi-infections alimentaires, diarrhées et vomissements.
<i>Proteus sp</i>	5	<b>ECBU</b>	- Septicémie, infections urinaires, génitales, hépatobiliaires ou digestives, méningites, cholécystites et appendicites entérites, toxi-infections alimentaires, diarrhées et vomissements.
<i>Enterococcus sp</i>	11	<b>ECBU</b>	Infections génitales, biliaires et dentaires
<i>Candida albicans</i>		<b>Vagin</b>	Candidoses

NG°= numéro de germe, **P** : nature de prélèvement.

**C.R** : Crachat . **PA** : Plaie . **ECBU** : Examen Cytobactériologie du Urine.

## II-3- Méthodes

### II-3-1-Prélèvement des échantillons

Nous avons procédé à un échantillonnage subjectif. Nous avons choisi les parcelles après une prospection de la région d'étude puis nous avons coupé systématiquement tous les pieds *Artémisia campestris.L* sains, bien fournis et non pâturés qui se trouvent à l'intérieur de la parcelle.

Ainsi, dans la station choisit, la distribution spatiale des pieds *Artémisia campestris L.* est homogène. Le nombre de pieds *Artémisia campestris L.* à l'intérieur de 1 m<sup>2</sup> varie de 1 à 3 pieds. Nous avons donc récolté 1 échantillon (un échantillon correspondant à 100 pieds) sur un terrain de 10x10m<sup>2</sup> durant le mois de Novembre 2016.

Après récolte, les échantillons sont mis dans des sacs bien aérés, puis étalés sur du papier à l'ombre et à l'abri de l'humidité, à la température ambiante, jusqu'à ce qu'ils deviennent complètement secs. Par la suite, nous avons effectué des extractions des huiles essentielles (HE).

### II-3-2-Préparation de l'extrait aqueux *Artémisia campestris.L*

#### A-Préparation

**But :** Extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de l'*Artémisia campestris.L*.

**Principe :** La préparation de l'extrait aqueux de 10% de notre plante est réalisée par additionnement de 10g de poudre de la partie aérienne à 100ml d'eau distillée bouillit, puis laissée 30 minutes en infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes pour se débarrasser des débris de plantes puis filtré sur le papier filtre de type wattman N°3. Le filtrat est ensuite mis dans des petits flacons en verre (Ljubuncic et al., 2005).

### II-3-3-Screening phytochimique

**But :** Identification des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de l'*Artémisia campestris.L*. basée sur les réactions colorimétriques et de précipitation par différents réactifs.

**Selon Harborne (1983)**, en fonction de la turbidité, de la coloration du milieu et de l'intensité du précipité, les résultats phytochimiques sont classés comme suite : Réaction très positive (+++), Réaction moyennement positive (++) , Réaction louche (+), Réaction négative (-).

**A-Anthocyanines :**

On mélange 5ml d'extrait aqueux de 10% avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) concentré (30%). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines (**Bidie et al., 2011**).

**B- Leuco-anthocyanes :**

2g de poudre végétale sont additionnées à 20 ml d'un mélange de propanol/ acide chlorhydrique (v/v), ensuite le mélange est placé dans un bain marie bouillant pendant quelques minutes (**bruneton, 1999 ; Pharmacopée URSS, 1983**).

Une coloration rouge se développe en présence des leuco-anthocyanes.

**C-Tannins :**

On mélange 1ml d'extrait aqueux de 10% avec 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée 10 %. Le test est considéré positif par l'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert (**Bidie et al., 2011**).

**D-Tannins galliques:**

A 5ml d'infusé rajouter 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (**bruneton, 1999 ; Pharmacopée URSS, 1983**). La présence des tannins galliques est montrée par la coloration bleue foncée.

**E- Quinones libres:**

2g de poudre végétale humectées par 2ml d' $\text{HCl}$  à 97%, sont mises en contact pendant 3h dans 20ml de chloroforme puis filtrer le mélange.

Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque (**bruneton, 1999 ; Pharmacopée URSS, 1983**).

La formation d'une coloration rouge en présence des quinones libres.

**F- Quinones combinées**

2g de poudre végétale sont additionnées avec 5ml d'acide sulfurique N et porter à reflux pendant 2 heures.

La solution extractive est filtrée puis épuisée par 20ml de chloroforme ; cette solution chloroformique est évaporée à sec puis épuisée par l'ammoniaque (**bruneton, 1999; Pharmacopée URSS, 1983**).

La coloration rouge nous montre la présence des quinones combinées.

**G-Saponosides :**

Mélanger 2ml d'extrait de 10% avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb à 1% (**Bidie et al., 2011**).

Le test est considéré positif par l'apparition d'une précipitation.

**H-Alcaloïdes:**

On mélange 3 ml d'acide sulfurique concentré (96%) et 5 ml d'une solution d'iodomercurate de potassium dans 5ml d'extrait aqueux de 10% (**Bidie et al., 2011**).  
L'apparition d'une coloration blanc crème et maron indique la présence des alcaloïdes.

**I-Coumarines :**

Mettre 2g de poudre dans 20ml d'éthanol absolu. Bouillir pendant 15 minutes à reflux puis refroidir et filtrer. Ajouter 10 gouttes de KOH et quelques gouttes de HCl concentré (37%) dilué à (10%) dans 2 à 3 ml de filtrat dilué dans l'éthanol (10%) (**Bidie et al., 2011**).

Le test est considéré positif par l'apparition d'une couleur rouge.

**K-Flavonoïdes :**

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide : test au magnésium (**Karumi et al., 2004**). On met quelques gouttes de HCl concentré (2N) et 0,5 g de Mg dans 5 ml de l'extrait aqueux. On laisse agir 3 minutes.

L'apparition de la couleur orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes.

**L-Glucosides :**

On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré (96%) (**Bidie et al., 2011**).

Le test est considéré positif par l'apparition d'une couleur rouge-bleu.

**II-3-4-Extraction des huiles essentielles (HE) par la méthode d'hydrodistillation**

**Principe :**

Le matériel végétal séché est soumis à une hydro-distillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (**Annexe II**). Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin elle est conservée dans des flacons opaques bien scellés à température

basse (4-5C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.

### **II-3-4-1-Détermination le rendement en HE**

Afin d'étudier l'influence de la masse de la matière végétale à traiter sur le rendement en HE, nous avons effectué une série d'essais en utilisant :

- Un vase à plante
- Masses de matières végétales (feuilles et fleurs,tiges) traitées:50g,100g,150g et 200g.

Selon **Mohammedi (2006)**. Le rendement en HE est estimé avec le rapport suivant:

$$\text{Rdt en HE \%} = \frac{p'}{P} \cdot 100$$

**Rt en HE** : Rendement en HE, exprimé en %.

**P'** : le poids de L'HE, en gramme.

**P** : le poids de la matière végétale, en gramme.

### **II-3-5- Etude de la toxicité aiguë**

#### **A- Préparations des doses et des lots de souris**

##### **A-1-Extrait aqueux *Artemisia campestris.L***

##### **a-Préparation de l'extrait aqueux brut**

Les feuilles fraîches d'*Artemisia campestris L.* (980g), récoltées et rincées, en mélange avec 6 litres d'eau distillée, ont été soumises à une décoction pendant 45 minutes. La mixture a été d'abord essorée dans un carré de tissu propre, filtrée successivement deux fois sur du coton hydrophile puis sur papier Wattman 3 mm Le volume du filtrat (environ 3l). La poudre fine recueillie (34,4722 g) a constitué l'extrait total sec que nous avons conservé, au réfrigérateur, dans un bocal stérile en verre, hermétiquement fermé (**Aké et al., 2015**).

##### **b-Dosesévaluées**

La concentration maximale, qui correspond à une concentration à la limite de la solubilité de l'extrait, a été recherchée. Trois (3) g d'extrait total ont été dissout dans 20 ml d'eau distillée, ce qui correspond à une concentration maximale de 150 mg/ml. Cette concentration a permis de mener l'étude de la toxicité aiguë. A partir de cette solution mère, des dilutions successives sont préparées au 1/2, 1/3, 1/4 et au 1/5. Cela a permis d'obtenir, à partir de la solution mère, une

gamme de concentrations de 75 ; 50 ; 37,5 et 30 mg/ml. Après avoir soumis les animaux à un jeûne de 12 heures, la solution mère (150 mg/ml) a été administrée, par gavage, à l'aide d'une canule d'intubation comportant un embout légèrement recourbé. La gavage a été fait avec un volume de 0,6 ml pour 20 grammes de poids corporel. La dose d'extrait à administrer est ensuite exprimée en mg/kg/vo de poids corporel. Dans l'ensemble, des volumes de 0,39 à 0,75 ml ont été administrés aux animaux, en fonction de leur poids corporel.

Les différentes concentrations obtenues : 150 ; 75 ; 50 ; 37,5 et 30 mg/ml ) correspondent aux doses respectives de 4500 ; 2250 ; 1500 ; 1125 et 900 mg/kg/vo de poids corporel (Aké et al., 2015).

### **c-Conditionnement et constitution des lots de souris pour l'évaluation de la toxicité aiguë**

Avant traitement, les animaux ont été soumis à un jeûne de 12 heures. Ils ont été répartis en six lots de 02 de la façon suivante :

- lot 01 : souris témoins ont reçu 0,5ml de solution physiologique NaCl (0,9%) (Groupe de contrôle)
- lot 02 : souris traitées avec l'extrait à 150 mg/kg de poids corporel.
- lot 03 : souris traitées avec l'extrait à 75 mg/kg de poids corporel.
- lot 04 : souris traitées avec l'extrait à 50 mg/kg de poids corporel.
- lot 05 : souris traitées avec l'extrait à 37.5 mg/kg de poids corporel.
- lot 06 : souris traitées avec l'extrait à 30 mg/kg de poids corporel.

### **B-Observation des troubles symptomatiques**

Après le gavage de l'extrait, les animaux sont replacés dans leurs cages métalliques où ils pouvaient avoir accès aux granulés à nouveau. Ils ont été observés aussitôt puis toutes les 30 minutes, pendant huit heures, le premier jour et une fois par jour, durant 48 heures. Pendant cette période, les troubles symptomatiques (agitation, manque d'appétit, difficultés motrices et dyspnée) ont été notés, chez les animaux des lots constitués (Aké et al., 2015).

## C-Evaluation des paramètres toxicologiques

### C-1-Détermination de la DMT et de la DL100

Après administration de l'extrait ou d'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.*, aux différentes concentrations, les animaux morts étaient comptés dans chaque lot, durant 48 heures. Cette expérimentation sur la toxicité aiguë a été conduite dans le but de déterminer les paramètres toxicologiques que sont la dose létale 50% (DL50), dose qui tue 50% des animaux, la dose létale 100% (DL100), dose qui tue tous les animaux et la dose maximale tolérée (DMT) qui représente la dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque l'extrait ou l'huile est administré (Aké et al., 2015).

### C-2- Détermination de la dose létale 50% (DL50)

La dose létale 50% (DL50) a été déterminée à partir de la formule de Karber et Berhens (1935), Elle se calcule de la façon suivante :

$$DL50 = DL100 - \Sigma (a \times b)/n$$

**DL50** : Dose létale 50% ; **DL100** : Dose létale 100% ; **a** : moyenne de la somme des morts entre deux doses successives ; **b** : différence entre deux doses successives ; **n** : moyenne du nombre d'animaux utilisés par lot.

## II-3-6-Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo

### II-3-6-1-Evaluation de l'activité antioxydant d'extrait d'*Artemisia campestris L.* (in vitro)

**Principe** : Pour évaluer l'activité anti-oxydante *Artemisia campestris.L*, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par (Sanchez-Moreno et Larrani., 1998).

La capacité antioxydante est mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du

DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration (jaune) dans la solution initiale (Brand-Williams et al., 1995). (figure04)

50 microlitres de solution méthanolique de l'HE *Artemisia campestris.L* à différentes concentrations (10mg/ml, 8mg/ml, 6mg/ml, 4mg/ml, et 2mg/ml) est ajoutée à 5 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,004%).

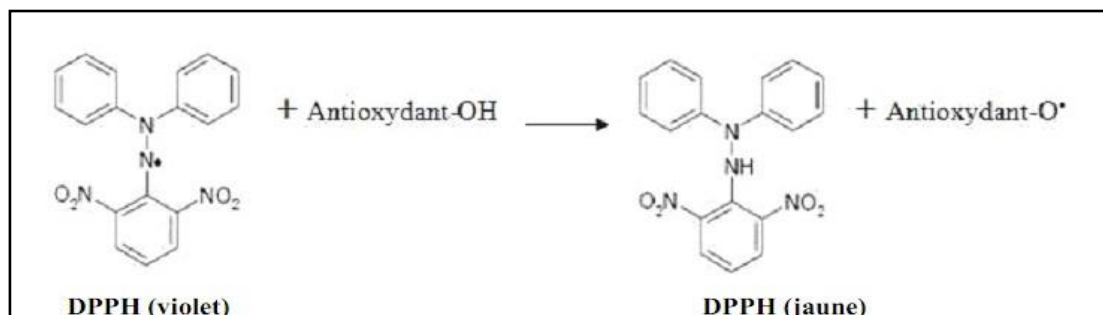
En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 5 ml de la solution méthanoïque de DPPH.

Le réactif antioxydant synthétique, butyl-hydroxy-toluene (BHT) et l'acide ascorbique ont été utilisés comme témoins positifs

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante. (Gürsoy et al., 2012).

L'activité anti-oxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-oxydante} = [\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{contrôle}}] \times 100.$$



Abs : Absorbance

Figure.05. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

#### A-IC50

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficientconcentration50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Il est inversement lié à la capacité anti-oxydante.

Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (Torres et al., 2006).



### II-3-6-2-Activité anti-inflammatoire (*in vivo*) :

**Principe :** L'inflammation de l'œdème de la souris est provoquée par application locale de carraghénine à 0.1%, peut être réduite par application de substances anti-inflammatoires. **(Rahman et al., 2005).**

Cette inflammation est la conséquence de l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui est à l'origine de l'œdème suite à une diffusion liquidienne dans les tissus voisins. Le rôle du produit anti-inflammatoire est la limitation de la perméabilité vasculaire.

La mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de **(Levy., 1969)**. Certaines étapes ont été complétées afin d'avoir le maximum de détails, en l'occurrence

- Effet pro-inflammatoire de la carraghénine en comparaison avec l'eau physiologique.
- Effet anti-inflammatoire des produits testés par rapport aux témoins (Eau physiologique)

- Comparaison avec un anti-inflammatoire officinal: Le Diclofenac de sodium.
- Etudes séparées des effets de l'extrait aqueux suivis de comparaisons.
- Etablir une corrélation entre la dose et l'effet.
- Pharmacocinétique des effets de chaque composé et de chaque dose.

Les doses choisies sont: 0.20g/ml et 0.10g/ml et la répartition des lots est représentée dans le tableau 03.

Pour tester l'effet anti-inflammatoire nous avons réalisés les essais suivant:

- Administrer par voie orale 0.5 ml d'eau physiologique aux souris du lot témoin négatif.
- Administrer par voie orale 0.5 ml des produits à tester (Diclofenac aux souris du lot témoin positif, extrait aqueux à différentes concentrations aux souris des lots d'expériences).
- Après 30 minutes, injecter 0.02 ml de la carraghénine à 0.1%, en solution dans l'eau physiologique, sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris. Les souris sont gardées dans les conditions de stabulation habituelles au cours de l'expérience.
- La mesure du volume de la patte, avant, pendant et à l'issue de l'inflammation locale se fait à l'aide du pied à coulisse précis au 1/50<sup>ème</sup> de millimètre. **(Annexe II)**

**Tableau 03:** Répartition des lots de souris et leur soumission au test de l'effet anti-inflammatoire.

Désignation Des lots	1	2	3	4	
Nature du Produit	Témoins		Extraits aqueux		
	Eau physiologique	Diclofénac de sodium			
Dose	-	4 mg/ml	0,25 gr/ml	0,20 gr/ml	0,10 gr/ml
Voie d'administration Des produits	Voie orale		Voie orale		

Les mesures sont faites au niveau de l'articulation tarso-métatarsienne des pattes postérieures des souris, dans le sens antéropostérieur. Elles sont faites dans l'ordre suivant:

- Epaisseur initiale des pattes.
- Une mesure immédiatement après injection de la carraghénine, pour tenir compte de l'enflamment.
- Des mesures toutes les 30 minutes pour suivre l'évolution de l'inflammation jusqu'à 210 minutes.

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) de la souris.

$$\%AUG = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100$$

$V_t$  : le volume de la patte au temps T.

$V_o$  : le volume initial de la patte.

%AUG : le pourcentage d'augmentation de l'inflammation.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH).

$$\%INH = \frac{\%AUG \text{ témoin} - \%AUG \text{ traité}}{\%AUG \text{ témoin}} \times 100$$

%INH : le pourcentage d'inhibition de l'inflammation.

Outil statistique

La comparaison des pourcentages moyens d'augmentation et d'inhibition inflammatoire a été faite avec un test (ANOVA) complété à test de Tukey, a été appliquée pour les évaluations statistiques des résultats par logiciel SATAISTICA, une différence significative est représentée par un  $P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$ .

### II-3-6-3-Activité antispasmodique (*in vivo*) :

**Principe:** L'injection d'acide acétique à 1 % par voie intra-péritonéale provoque chez les souris une réaction douloureuse, cette douleur se manifeste par des spasmes sous forme de mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures. Cette réaction peut être réduite par une substance antispasmodique à la dose active (**Rahman et al., 2005**). La mise en évidence de l'effet antispasmodique sur les souris a été réalisée selon la méthode de (**Rahman et al., 2005**).

Certaines étapes ont été complétées afin d'avoir le maximum de détails, en l'occurrence:

Les témoins ont été choisis afin de montrer :

- L'effet neutre de l'eau physiologique sur la réduction des spasmes chez les souris.
- L'effet d'un antispasmodique officinal de référence « Le spasmodyl 80mg » et l'effet de l'extrait aqueux sur la réduction de spasmes chez les souris.
- Etablir une corrélation entre la dose et l'effet.

Comme la durée de préparation de l'infusion est faible (10 min) par rapport à la durée de l'extraction de la totalité de l'HE, il est permis de doubler carrément la concentration de l'extrait aqueux tout en restant dans les limites raisonnables d'innocuité. Les concentrations étudiées sont: 0,30 gr/ml, 0,20 gr/ml et 0,10 gr/ml.

La solution antispasmodique a été injectée par voie intra-péritonéale, à raison de 0,5ml/souris, suivie par l'administration de 0,2 ml d'acide acétique par injection en intrapéritonéale 30 minutes après.

Cinq minutes après l'injection de l'acide acétique, le nombre de spasmes a été comptabilisé durant 10 minutes (**Rahman et al., 2005**).

La répartition des lots est faite selon (tableau 04).

L'effet antispasmodique de l'extrait aqueux peut être évalué par le calcul du pourcentage de protection selon la formule suivante (**Alaoui et al., 1998**).

$$\%de\ protection = \frac{\text{moy des spasmes du lot T} - \text{moy des spasmes du lot E}}{\text{moy des spasmes du lot T}} \times 100$$

Lot T: lot témoin.

Lot E: lot essai.

**Tableau 04:** Répartition des lots et leur soumission au test de l'effet antispasmodique.

	N° lot	Essais	Objectifs
Témoins	1	Solution physiologique : 0,5 ml puis 0,2 ml acide acétique.	Vérification de l'activité spasmodique de l'acide acétique.
	2	Solution de spasmodyl 80mg :0,5 ml puis 0,2mlacideacétique.	Vérification de l'effet antispasmodique de référence.
Essais de l'extraitA queux	3	Extrait aqueux à 0,30 gr/ml puis 0,2ml d'acide acétique	Mise en évidence de l'activité antispasmodique et de la relation entre la dose et l'effet.
	4	Extrait aqueux à 0,20 gr/ml puis0, 2 ml d'acideacétique.	
	5	Extrait aqueux à 0,10 gr/ml puis0, 2 ml d'acide acétique	

#### **II-3-6-4-Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide**

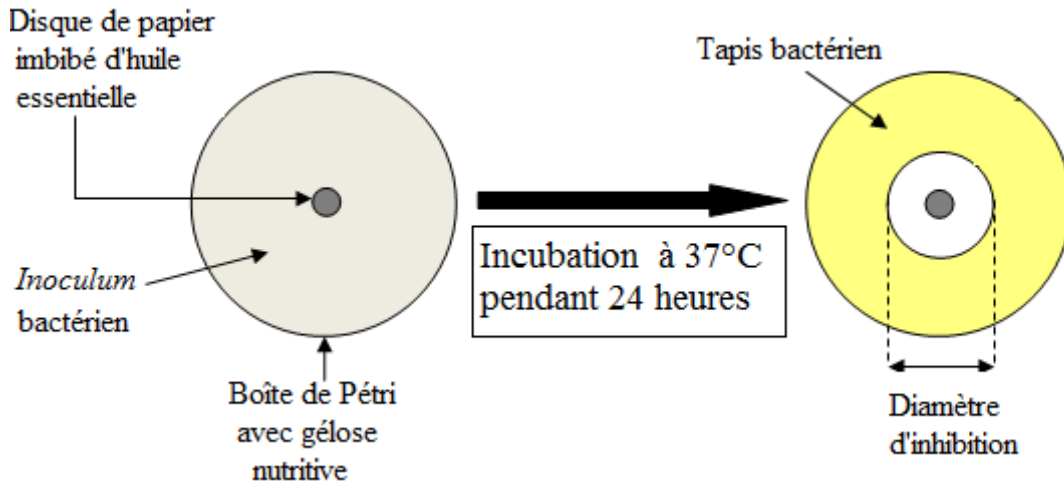
L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée en utilisant des souches microbiennes isolées d'infections cliniques.

##### **A-Méthode Microatmosphère**

Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture approprié sont ensemencées par les bactéries (13 µl d'un *inoculum* bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.mL-1)) par écouvillonnage (5 à 6 souches ensemencées séparément en parallèle/boîte). D'un autre côté on dépose 2.5 ul d'HE sur un disque de papier filtre, au fond et au centre du couvercle de la boîte de Pétri. La boîte est incubée avec le couvercle en bas. Après incubation des bactéries à 37°C pendant 24 H, on observe s'il y'a croissance ou non des germes-cibles (**Ponce et al.,2003**).

##### **A-Méthode de diffusion pardisque**

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé (**Ponce et al.,2003**). (Figure06).



**Figure.06.**Principe de la méthode de diffusion par disque.

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland ( $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>) est préparée et 20 ml de milieu gélosé milieu Mueller-Hinton sont coulés par boîte de Pétri et 500 ul d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. Après une imprégnation de 5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. On dépose à la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (biométrieux) imprégnés avec 5 ul d'extrait d'HE.

Après diffusion de l'HE dans le milieu pendant 15 mn à une température de 30°C, les boîtes sont incubées à 37°C. La lecture s'effectue après 24 H d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition du germe-cible.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Cette mesure est transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (**Tableau 05**) (Ponce et al.,2003).Tous les tests ont été effectués en triple.

**Tableau 05:** Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (DI).

Inhibition	Transcription	Sensibilité
D<8 mm	-	Résistante
9mm≥D≤14mm	+	Sensible
15mm≥D≤19mm	++	Assez sensible
D≥20mm	+++	Très sensible

#### D-Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Cette technique consiste à inoculer, par un *inoculum* standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

2,5 ml de tween 80 (c'est une polysorbate, hydrophile qui oriente les émulsions dans le sens "huile dans l'eau", autrement dit qui disperse la phase huileuse dans la phase aqueuse de manière à obtenir une émulsion du type HE sont ajoutés à 90 ml d'eau distillée. L'ensemble est stérilisé à 120 °C pendant 15 mn (solution A). On prépare ensuite une solution mère contenant 9 ml de la solution (A) et 1 ml d'HE.

Dans un tube à essai, on ajoute 13 ml du milieu Mueller-Hinton à 2 ml de la solution mère. A partir de cette dernière on réalise une série de dilution en cascade dans le milieu Mueller-Hinton de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 140ug.ml<sup>-1</sup> et 4,5 mg.ml<sup>-1</sup>.

Le tube témoin contenant 13.5 ml du milieu Mueller-Hinton et 2 ml de la solution A (Ponce et al.,2003).

#### -Etape d'ensemencement

13 µl de l'inoculum bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.mL<sup>-1</sup>), sont déposés ( dans chaque tube à essai ainsi le tube témoin) lesquels sont ensuite placés à 37°C, sous agitation, pendant 24 heures. Après incubation, les tubes sont centrifugés à 5 000g, pendant 5 minutes, à 20°C. La CMI de l'huile essentielle testée est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance bactérienne .La technique est répétée trois fois (Ponce et al.,2003).

**D-1-Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide**

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'une huile essentielle.

5 ul prélevé de chaque tube dépourvu de culot bactérien et du tube témoin, est déposé « en strie » sur gélose MH. Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 h. La CMB de l'huile essentielle est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactéries. La technique est répétée trois fois (**Ponce et al.,2003**).



*Chapitre II*  
*Résultat et discussion*

### II-1-Détermination des caractéristiques physico-chimique

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. obtenue hydro distillation sont représentées dans le **tableau 06**.

D'après le tableau 06, l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. présente un aspect limpide, de couleur jaune foncée et elle est caractérisé par une forte odeur.

**Tableau 06** : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*.de la région de Djelfa et Tamanrasset.

Origine	Aspect	Couleur	Odeur et saveur
Huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>	limpide	jaune foncée	forte odeur

### II -2-Screening Phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne d'*Artémisia campestris* L. sont résumés dans le **tableau 07**.

L'examen phytochimique réalisé sur la partie aérienne d'*Artemisia campestris* L. a révélé la présence en quantité importante des polyphénols (les flavonoïdes, les tannins et les anthocyanes), des saponosides et des alcaloïdes dans les deux stations. Cependant on note l'absence des glucosides, des coumarines, des sennosides et des leuco-entocyanes dans la station de Djelfa ; tandis que dans la station de Tamanrasset on signale l'absence des quinonones libres, des coumarines et des glucosides.

**Tableau 07:** Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.*

Métabolite	coloration	<i>Artémisia campestris L.</i> (Récolte; Djelfa)	<i>Artémisia campestris L.</i> (Récolte; Tamanrasset)
<b>Anthocyanes</b>	rouge	+++	++
<b>Leuco-anthocyanes</b>	rouge foncée	-	+
<b>Tanins</b>	ver foncée ou bleu-vert	+++	+++
<b>Tanins galliques</b>	bleu foncée	+++	+++
<b>Quinones libres</b>	rouge	+	-
<b>Quinines combinés</b>	rouge	+	+
<b>Saponosides</b>	Précipitation	++	+++
<b>Alcaloïdes</b>	blanc crème et marron	++	++
<b>Sennosides</b>	violette rouge	-	+
<b>Coumarines</b>	rouge	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	orange ou rouge	+++	+++
<b>Glucosides</b>	rouge- bleu	-	-

L'extrait aqueux de la plante *L'Artemisia campestris L.* des deux régions comme d'autres espèces de la famille *Asteraceae*, sont riches en divers métabolites secondaires et surtout en polyphénols (Naili et al, 2010 ; Neffatiet al, 2008). Le screening phytochimique de l'extrait divulgue une source importante de polyphénols (les flavonoïdes, les tannins et les anthocyanes) et d'alcaloïdes. Cependant la caractérisation chimique révèle la présence faible des coumarines dans les deux stations. Ces hydroxy coumarines sont des composés typiques du genre *Artemisia* (*Artemisia herba alba* Asso.; *Artemisia campestris*) et représentent un caractère chimio taxonomique précieux (Akrouit et al., 2010).

### II-3-Résultats d'extraction des huiles essentielles (HE) par Hydro distillation

#### II-3-1-Détermination de rendement l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

D'après les résultats donnés par les figures 07 et 08, le rendement en huile essentielle varie en fonction de la masse de la matière végétale. Il atteint son maximum avec 100 g de la plante sèche avec un rendement d'environ 0.30% pour *Artémisia campestris* récoltée dans la station de Djelfa et 0.25% pour *Artémisia campestris* récoltée dans la station de Tamanrasset pendant une durée de 3H d'extraction. Ce rendement diminue rapidement jusqu'à environ 0.20% pour 150 g de la plante sèche puis décroît lentement.

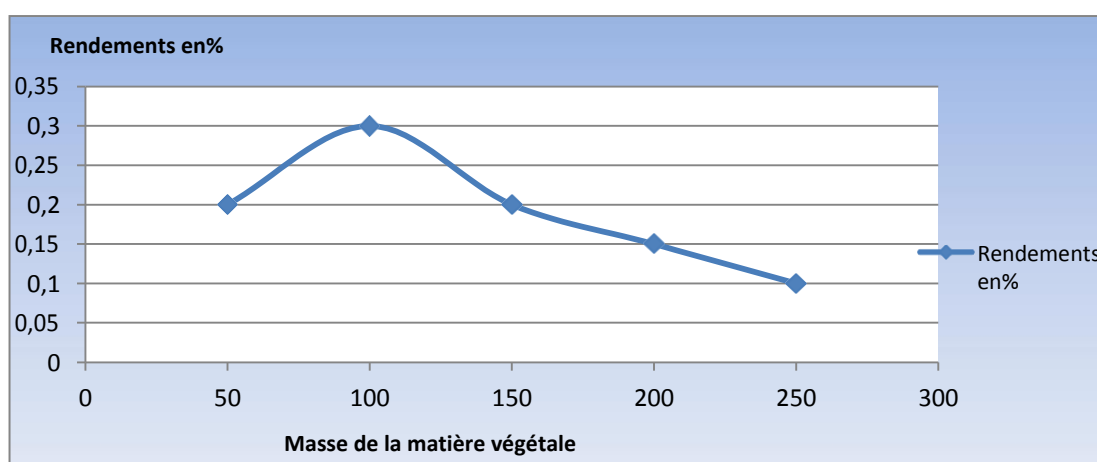
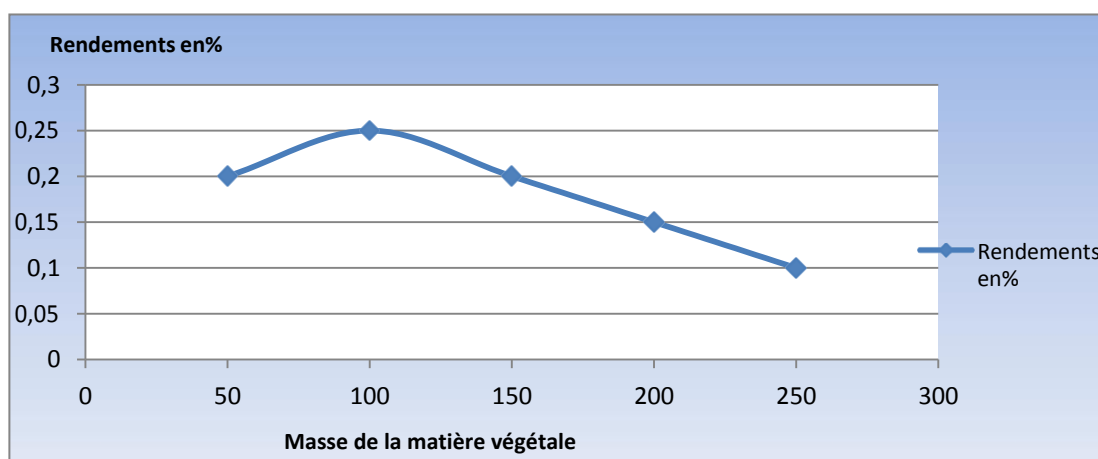


Figure.07. Influence du poids d'*Artemisia campestris* récoltée dans la station de Djelfa sur



le rendement en huiles essentielles.

Figure.08. Influence du poids d'*Artemisia campestris* récoltée dans la station de de Tamanrasset sur le rendement en huiles essentielles

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. a été obtenue avec un rendement relativement moyen (entre 0.25 % et 0.30 % sur la base du poids sec). Ce rendement est probablement dû aux facteurs suivants :

- Aux précipitations et aux températures élevées durant l'année 2016 dans la région de Tamanrasset et de Djelfa.
- Au degré d'aridité des deux régions.

La différence en rendement entre les armoises de différentes provenances peut être attribuée à de nombreux facteurs : origine géographique, stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, technique d'extraction et l'état de la matière végétale (**Fellah et Romdhane., 2006**).

### **II -4- Etude de la toxicité aiguë d'extrait aqueux**

#### **A-Signes cliniques notés après gavage de l'extrait**

Quelques instants après gavage des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* des deux régions à des doses allant de 30 à 150 mg/kg, un manque d'appétit, des difficultés motrices la diarrhée ainsi que la dyspnée ont été notés.

#### **B-Effet de gavage d'extraits aqueux sur la mortalité des souris**

Durant ces investigations sur les souris, différents signes de toxicité ont été notés (**Tableau 08**). L'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. des deux régions, administré à des doses allant de 30 à 150 mg/kg, a provoqué la mort des souris, selon les lots constitués. On observe une augmentation de la mortalité des animaux au fur et à mesure que la dose augmente. On note donc un effet dose-dépendant.

**Tableau 08** : Taux de mortalité des souris après gavage de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. récoltée dans deux régions.

Lots constitués	Taux de mortalité par lot					
	1	2	3	4	5	6
Substance administrer par gavageç	Solution physiologique NaCl(0,9%)	Extrait aqueux				
Dose mg/Kg	0,5ml	150	75	50	37.5	30
Nombre de souris/lot	02	02	02	02	02	02
Nombre de souris mortes /lot, 48 après gavage de l'EA	00	02	01	01	00	00
Mortalité (%)	00%	100%	50%	50%	00%	00%
A	-	-	1.5	1	0.5	00
B	-	-	75	25	12.5	7.5
Ab	-	-	112.5	25	6.25	00
∑ ab	-	143.75				

### B-1-Détermination des paramètres toxicologiques

La plus forte dose tuant tous les animaux ou dose létale 100% (DL100) est de 150 mg/kg et la dose maximale tolérée (DMT), dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque les extraits d'*Artemisia campestris* L. sont administrés, s'élève à 37.5 mg/kg.

Dans l'application numérique de la formule de **Karber et Berhens (1935)**, le calcul de la DL50 de l'huile essentielle, donne la valeur suivante :

$$DL_{50} = DL_{100} - \sum ab/n$$

$$DL_{50} = 150 - 143.75/2 = 78.125 \text{ mg/kg}$$

Selon l'échelle de toxicité de **Hodge et Sterner (1943)**, cette valeur de la DL<sub>50</sub> (78.125 mg/kg) sur 48 heures d'observation indique que les deux extraits d'*Artemisia campestris L.*, administrés par voie orale, sont modérément toxiques, chez les souris, dans les conditions de cette étude (**Tableau 09**).

**Tableau 09** : Classe de toxicité, selon l'échelle de toxicité de **Hodge et Sterner (1943)**.

Indice ou classe de toxicité	Terme couramment utilisé	Paramètre toxicologique (DL <sub>50</sub> )
<b>1</b>	Extrêmement toxique	DL <sub>50</sub> ≤ 1 mg/kg
<b>2</b>	Hautement toxique	1 mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 50 mg/kg
<b>3</b>	Modérément toxique	50mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 500 mg/kg
<b>4</b>	Légèrement toxique	500 mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 5 g/kg
<b>5</b>	Presque toxique	5 g/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 15 g/kg
<b>6</b>	Relativement inoffensif	DL <sub>50</sub> ≥ 15g/kg

Par ailleurs, pour cette valeur de la DL<sub>50</sub>, une personne de 70 Kg devrait recevoir 78.125 mg/kg x 70, soit 5468.75 mg de produit en une seule dose pour courir les mêmes risques. Cette dose de 5,46875 g d'extrait aqueux de *L'Artemisia campestris L* sur l'échelle de classification de Gosselin Smith et Hodge (**Gosselin., 1984**), pourrait être classée comme substance presque toxique pour l'homme. Ces résultats montrent que l'extrait total aqueux de *L'Artemisia campestris L* est inactif

in vivo à des doses inférieures à 150 mg/Kg de poids corporel et permettent de constater que l'extrait total aqueux de *L'Artemisia campestris L* administré en dose unique exercerait son action toxique sur une période allant de 60 minutes à 24 heures de temps après injection selon les données des signes cliniques observés.

### II -5-Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo

#### II-5-1-Evaluation de l'activité antioxydante (in vitro)

L'activité anti radicalaire des extraits aqueux d'*Artemisia campestris L.* vis-à-vis du radical DPPH a été suivie par la méthode spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le changement de couleur du violet au jaune. L'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogènes **(Brand-Williams et al., 1995)**.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité anti radicalaire, et peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC50. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

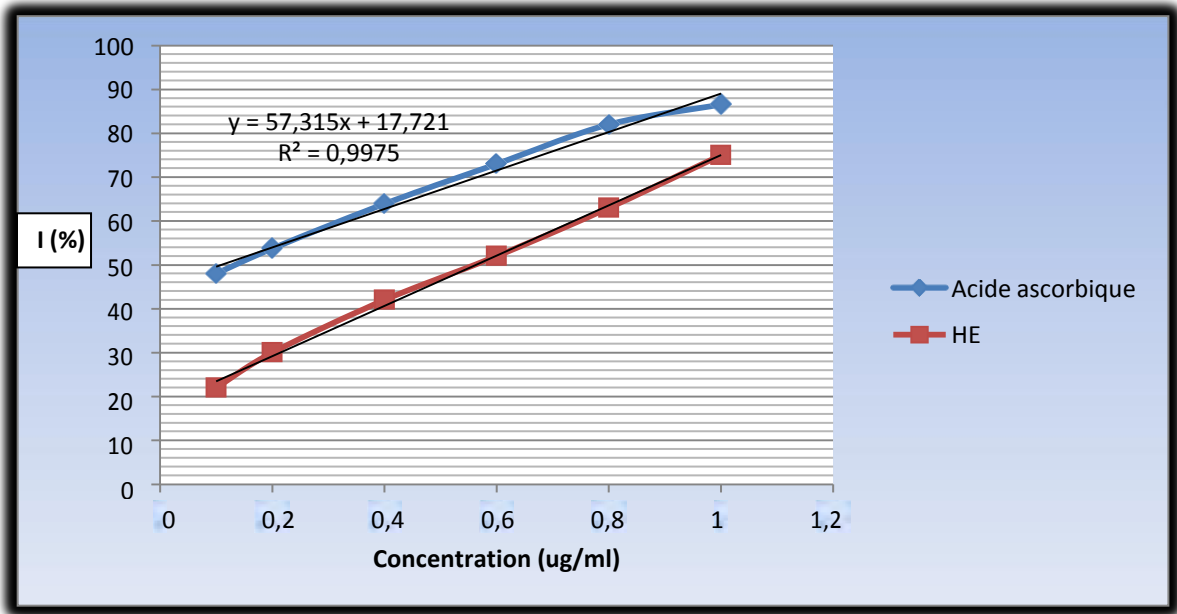
#### II-5-1-1-Détermination du pourcentage d'inhibition

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) sont enregistrés dans les figures 09 et 10.

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le Produit de contrôle L'acide ascorbique ou pour les extraits d'*Artemisia campestris L.* récoltée dans deux régions différentes.

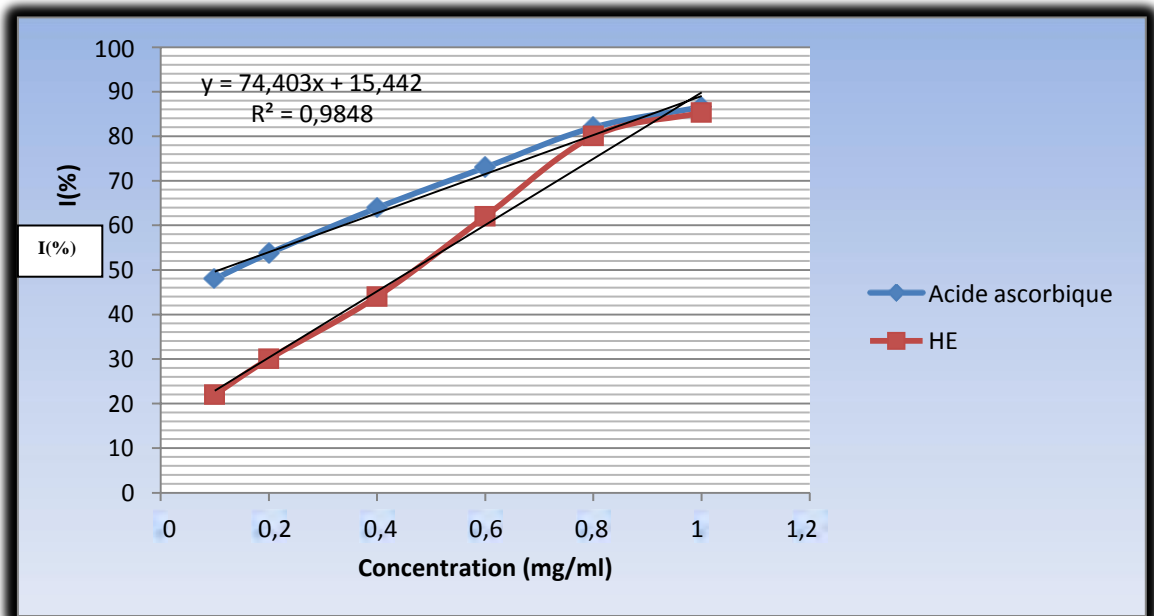
On note que l'efficacité antioxydante augmente avec la concentration des deux extraits aqueux. Cependant, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les deux extraits sont légèrement inférieurs à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 1000µg/ml, les extrait aqueux des deux régions de Djelfa et de Tamanrasset ont révélé des pourcentages d'inhibition de DPPH respectifs 85.3% et 75% tandis que l'acide ascorbique est de 86.6% **(Figure11)**.





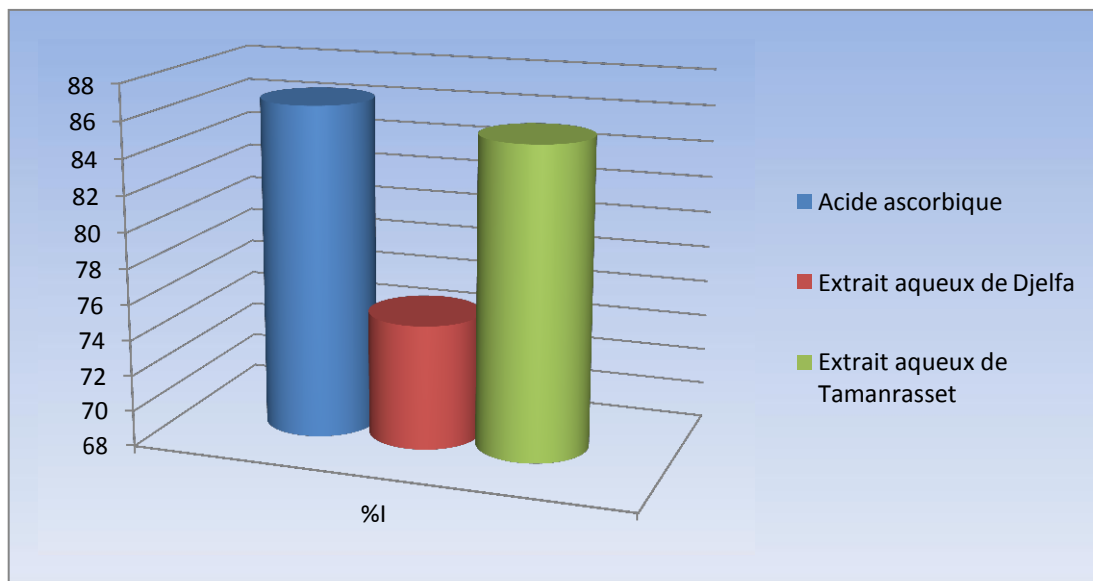
**I(%) : Pourcentage d'inhibition**

**Figure.09.** Pourcentage d'inhibition d'extrait *d'Artemisia campestris* L. de la région de Djelfa et de la l'acide ascorbique.



**I(%) : Pourcentage d'inhibition**

**Figure.10.** Pourcentage d'inhibition d'extrait *d'Artemisia campestris* L de la région de Tamanrasset et de la l'acide ascorbique.



**I(%) : Pourcentage d'inhibition.**

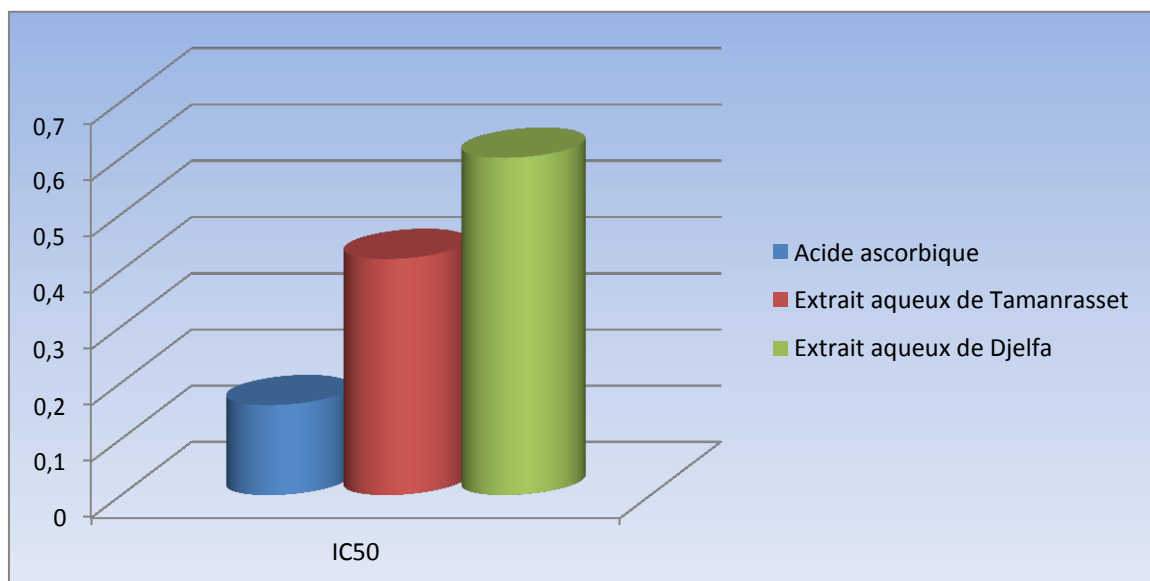
**Figure.11.** Pourcentage d'inhibition des extraits aqueux des deux régions de Djelfa et de Tamanrasset et de l'acide ascorbique.

#### II-5-1-2- Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant 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 grande.

Les valeurs d'IC50 des deux extraits et l'acide ascorbique sont indiquées dans la **Figure 12.**

Les extraits aqueux d'*Artemisia campestris L.* de la région de Djelfa et de Tamanrasset pouvaient ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec des IC50 respectifs de 0.60 µg/ml et 0.43 µg/ml. Ils exhibent une activité antioxydante inférieure à celle de l'acide ascorbique (0.16 µg/ml).



**Figure.12** : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits aqueux des deux régions de Djelfa et de Tamanrasset.

L'activité de piégeage des radicaux libres des extraits aqueux *A. campestris L* des deux stations se montrent inférieures à celle de l'acide ascorbique, connu comme un antioxydant synthétique très efficace et largement utilisé dans la technologie alimentaire (**Potterat., 1997**).

L'activité anti radicalaire des différents extraits a été évaluée par le test au DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (**Yi et al ., 2008**).

**Akrout et al., (2001)** ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits d'*Artemisia campestris L.*, ils ont trouvé une valeur de IC50 de 2.053 mg / ml pour l'extrait de l'éthanol 50%, cette valeur est relativement très faible si elle est comparée à celle de notre extrait aqueux(68.10µg/ml).

De même, des observations différentes au sujet des extraits et des huiles essentielles provenant d'espèces du genre *Artemisia* ont également été rapportés. **Laouini et al.(2016)**, ont montré que les extraits d'acétate d'éthyle d'*Artemisia herba alba* ASSO. récoltée dans la région sud est d'Algérie possèdent un pouvoir antioxydant( $IC_{50}=51.28 \pm 1.05 \mu\text{g/ml}$ ) inférieur à celui du BHT ( $IC_{50}= 85.84 \pm 1.82 \mu\text{g/ml}$ ). De plus, **Khebri (2011)** a révélé que les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso. (30%) et *A.camprétis* (18%) et l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* (80%) ont témoigné l'activité antiradicalaire moins importante par rapport à celle du BHT (100%).

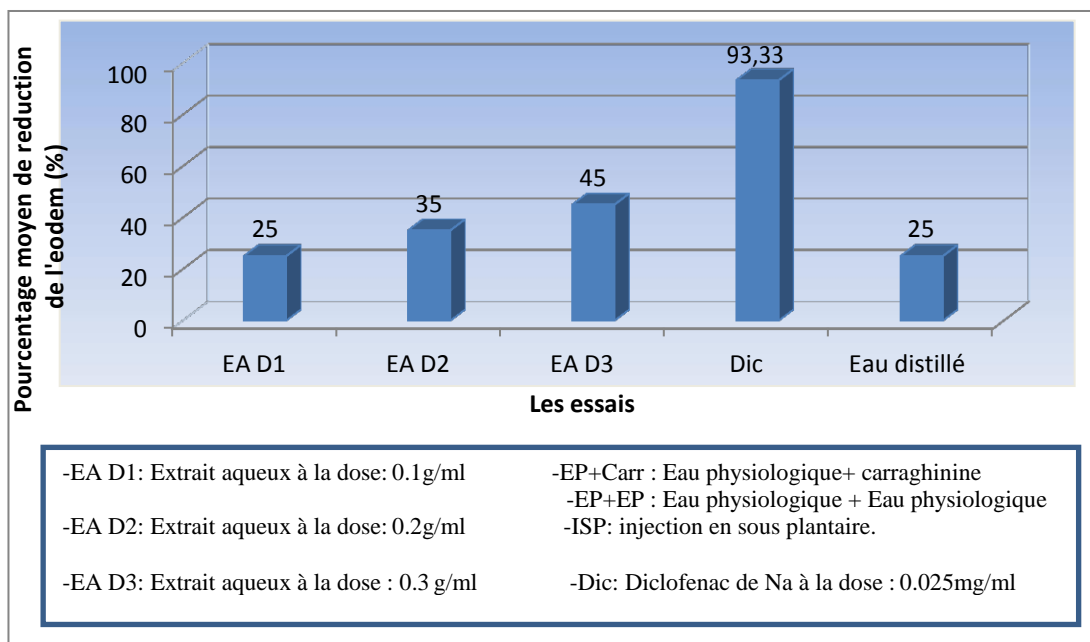
Suite à ces résultats, on peut juger que l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. présente probablement une activité antioxydante plus importante par rapport à celle des espèces appartenant à la même la famille des Astéracées.

### II-5-2-Evaluation de l'activité anti-inflammatoire (in vivo)

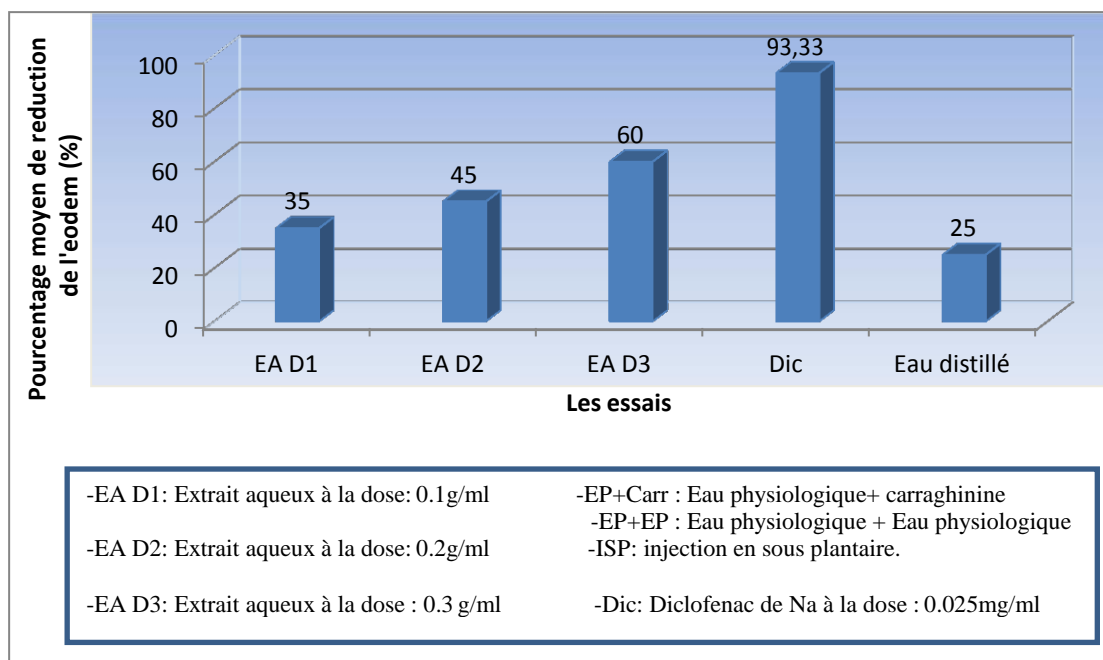
Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extrait aqueux d'*Artemisia campestris*, nous avons utilisé la technique de l'œdème de la patte de la souris provoqué par la carraghénine (**Winter et al., 1962**). Les résultats obtenus sont présentés dans **les figures 13, 14**.

Après 210 mn, les doses D3 (plus forte dose: 0.3g/ml), D2 (dose moyen: 0.2g/ml) et D1 (plus faible dose 0.1g/ml) des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Djelfa et de Tamanrasset réduisent l'inflammation avec des doses respectives (45%), (35%) et (25%) pour la station de Djelfa et (60%), (45%) et (35%) pour la station de Tamanrasset.

L'œdème du lot traité par la plus forte dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Tamanrasset réduit l'inflammation avec un pourcentage plus important par rapport à celui de l'extrait aqueux de la station de Djelfa soit 60%. Toutefois, la réduction de l'œdème par la dose (0.3g/l) est faible par rapport à celle du produit de référence (93.33%). Donc on peut dire que notre extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Tamanrasset (0.3g/l) possède une activité anti-inflammatoire mais elle est moins efficace que celle du produit de référence.



**Figure.13.** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire (réduction de l'œdème) de l'extrait aqueux de *l'Artemisia campestris L.* récoltée dans région de Djelfa.



**Figure.14.** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire (réduction de l'œdème) de l'extrait aqueux de *l'Artemisia campestris L.* récoltée dans la région de Tamanrasset.

L'injection de la carraghénine dans la patte de la souris a provoqué trois phases distinctes: la première phase fait intervenir l'histamine et la 5- hydroxytryptamine qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème; la seconde phase fait appel aux kinines comme médiateurs qui augmentant la perméabilité vasculaire et la troisième phase dont le médiateur est supposé être la prostaglandine (**Lindsey et al., 1999**) associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée. Ces prostaglandines interviennent dans les processus inflammatoires aigus ou chroniques. L'utilisation des médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de ces médiateurs chimiques: histamine, sérotonine, kinines et prostaglandines. Les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* peuvent être justifiées par la présence de certains de ces constituants solubles dans l'eau, tels que: les santonines et le kaempferol. (**Gharabi et al., 2008**).

Selon (**Saleh et al, 1985, Saleh et al., 1987**), les flavonoïdes peuvent être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire. L'étude phytochimique des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L.de Djelfa et surtout de *Tamanrasset* contiennent une proportion non négligeable. Donc on peut expliquer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait surtout celui de *Tamanrasset* par la présence de ces métabolites secondaires.

### II-5-3- Evaluation de l'activité antispasmodique (in vivo)

Les résultats des nombre moyens de spasmes et le pourcentage de protection des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Djelfa et de *Tamanrasset* sont reportés dans le **Tableau 10 et la Figure 15**.

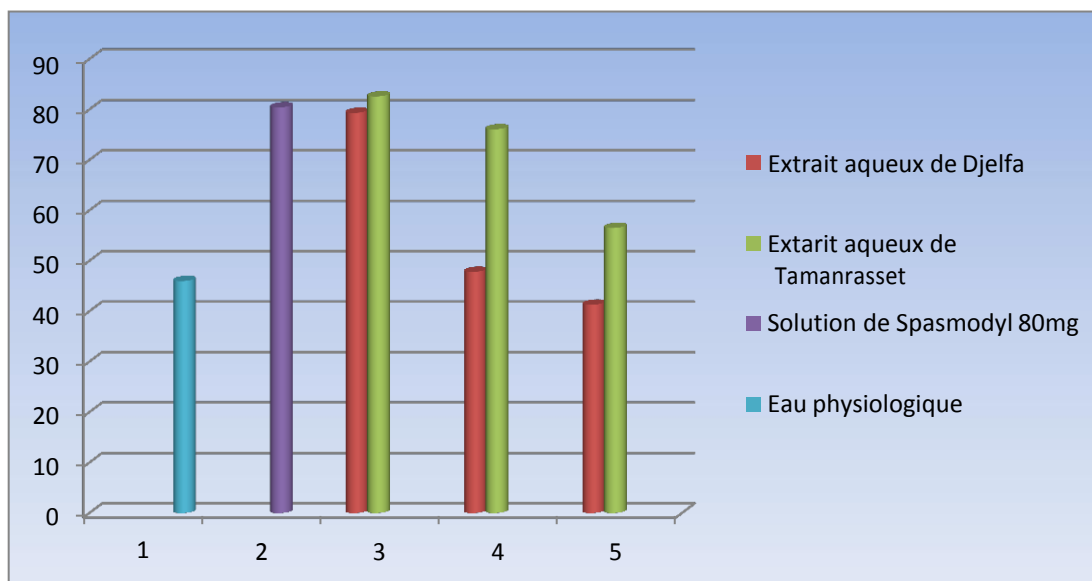
Les doses D3 (plus forte: 0.3g/ml), D2 (dose moyenne: 0.2g/ml) et D1 (faible dose 0.1g/ml) des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Djelfa et de *Tamanrasset* provoquent la diminution des spasmes avec des pourcentages de protection respectifs (79.34%), (47.82%) et (41.30%) pour la station de Djelfa et (82.61%), (76.09%) et (86.52%) pour la station de *Tamanrasset*.

Ces résultats nous ont révélé que la dose D3 (la plus forte) provoque la diminution des spasmes presque de la même façon que celle de la solution de Spasmodyl à 80mg. Pour la D1 (la plus faible), le nombre de spasme est moins important par rapport au témoin ce qui est due probablement à la concentration faible de l'extrait.

La plus forte dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris L.* de la station de Tamanrasset réduit le nombre de spasmes avec un pourcentage de protection plus important par rapport à celui de l'extrait aqueux de la station de Djelfa soit 82.61%. De plus, le pourcentage de protection provoqué par la dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris L.* de la station de Tamanrasset se montre élevé par rapport à celui du produit de référence (80.43%). De ce fait on peut dire que notre extrait aqueux d'*Artemisia campestris L.* de la station de Tamanrasset (0.3g/l) possède une activité anti-spasmodique plus active que le produit de référence.

**Tableau 10 :** Nombre moyen de spasmes et pourcentages de protection (%) des extraits aqueux d'*Artemisia campestris L.* des deux station Djelfa et Tamanrasset.

<b>Lots</b>	<b>Nombres moyens de spasmes d'extrait de Djelfa</b>	<b>Nombres moyens de spasmes d'extrait de Tamanrasset</b>	<b>Pourcentages de protection (%) d'extrait de Djelfa</b>	<b>Pourcentages de protection (%) d'extrait de Tamanrasset</b>
<b>Témoin négatif : EP</b>	90	90	0	0
<b>Témoin positif : Spasmodyl</b>	9	9	80.43	80.43
<b>Extrait aqueux =0.3g/ml</b>	9.5	8	79.34	82.61
<b>Extrait aqueux =0.2 g/ml</b>	24	11	47.82	76.09
<b>Extrait aqueux =0.1 g/ml</b>	27	20	41.30	56.52



1: Extrait aqueux à la dose: 0.1g/ml 2: Solution de Spasmodyl 80 mg 3: D3 : Extrait aqueux à la dose: 0.3g/ml .  
4 : D4 : Extrait aqueux à la dose: 0.2g/ml 5: D5 : Extrait aqueux à la dose: 0.1g/ml

**Figure.15.** pourcentages de protection (%) des extraits aqueux d'*Artemisia campestris L.* de la station de Djelfa et de Tamanrasset et de Spasmodyl (80 mg).

L'efficacité d'*Artemisia campestris L.* contre les contractions pourrait être liée à sa teneur en composés phénoliques et les flavonoïdes. Ils agissent en bloquant les canaux de calcium. Les flavonoïdes agissent également en inhibant la réponse des récepteurs membranaires spécifiques à l'action des stimulants (acétylcholine, noradrénaline). (Saleh et al., 1985 ; Saleh et al., 1987). D'autres composés peuvent être à l'origine de cette activité antispasmodique remarquable et qui font partie de la composition de la plante étudiée, ce sont l'acide caféique, le borneol, l'apigénine, limonène, linalool, pinène et terpène 4-o1 et camphre (Gharabi et al., 2008).

#### II-5-4-Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide

L'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* a été évaluée contre 04 bactéries et la levure *candida albicans* d'origine clinique.

Nous avons étudié la sensibilité des germes-cibles vis à vis d'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* en utilisant trois techniques différentes:.

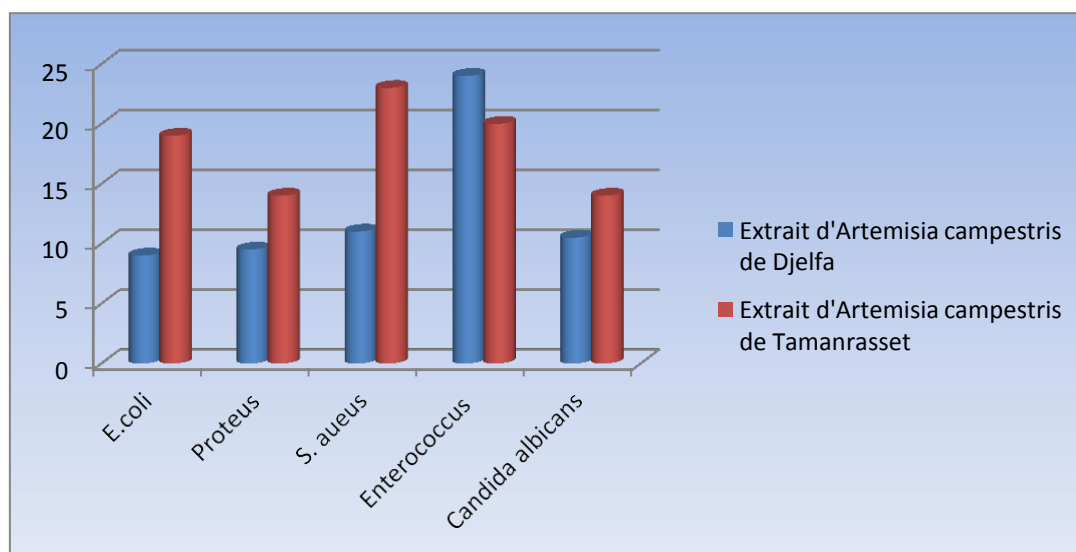


- La méthode d'Antibiose.
- La méthode CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).
- Et la méthode CMB (Concentration Minimale Inhibitrice).

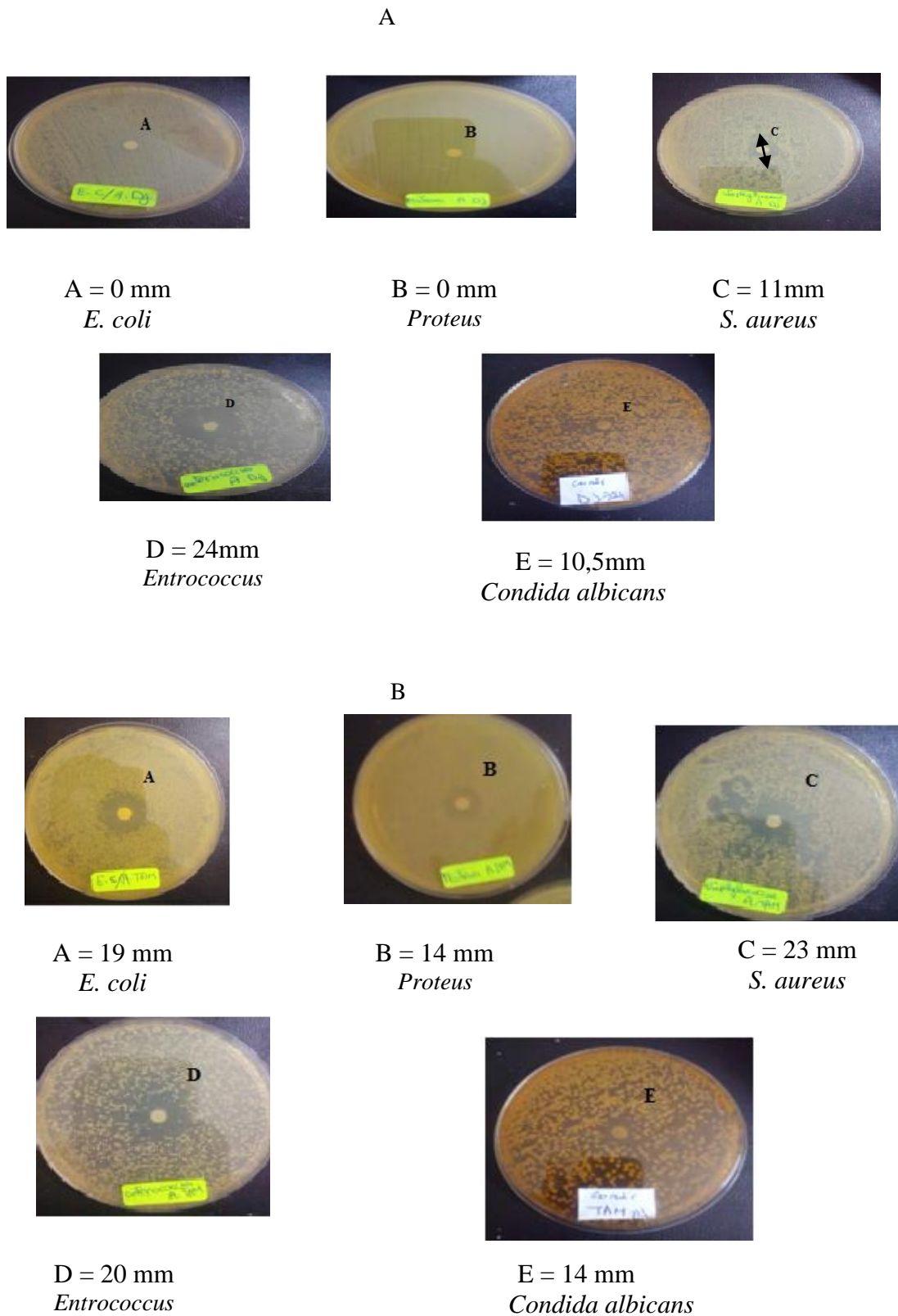
#### II-5-4-1-Méthode d'Antibiose

L'activité antibactérienne de L'huile essentielle *d'Artemisia campestris L.* a été évaluée par la méthode de diffusion par disque. Les résultats relatifs à l'activité d'HE envers les bactéries sont rapportés dans le Tableau (voir annexe II) et sont présentés dans la figure 16,(les diamètres des zones d'inhibitions nous ont permis d'évaluer la sensibilité ou la résistance des germes-cibles vis-à-vis de l'huile essentielle *d'Artemisia campestris.L.*).

Selon **Ponce et al. (2003)** les huiles essentielles sont considérées comme actives si elles produisent des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 21 mm. De ce fait, l'huile essentielle *d'Artemisia campestris L* récoltée dans la région de Tamanrasset. présente une action antibactérienne importante contre les bactéries Gram-: *Proteus sp* (20mm), *E.coli* (19 mm) et surtout vis-à-vis des *Staphylocoques aureus* (23 mm). Par contre l'huile essentielle *d'Artemisia campestris L* récoltée dans la région de Djelfa présente une faible action antibactérienne contre les bactéries Gram<sup>-</sup> : *Proteus sp* (09mm), *E.coli* (09 mm) et les *Staphylocoques aureus* (11 mm). Le reste des bactéries, les Enterococcus sp (bactéries Gram<sup>+</sup>) se montrent sensibles vis-à-vis de la station de Djelfa et surtout à l'encontre de la station de Tamanrasset avec des diamètres d'inhibitions respectifs 20mm et 24mm. (**Figure 16**) (**Figure 17**).



**Figure.16.** Diamètres des zones d'inhibition en mm des germes-cible par les extraits *d'Artemisia campestris L.* des deux stations de



**Figure.18.** l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artémisia campestris*. Récoltée dans la de région de Djelfa (A) et de Tamanrasset.(B)

Sur la base de l'activité antibactérienne importante, nous avons déterminé la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* pour caractériser son mode d'action sur les bactéries gram- et les bactéries Gram<sup>+</sup>.

**II-5-4-2-Méthode CMI et CMB**

Des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été réalisés afin de préciser le caractère bactériostatique ou bactéricide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.*

Les résultats des CMI d'huile essentielle sur les bactéries sont rapportés dans le **Tableau 11 et 12.**

**Tableau 11 :** Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.* récoltée dans la région de Tamanrasset

	100%	1/10	1/100	1/1000	1/10000	Témoins
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Entérocooccus proteus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	+	+	+	+	+

**Tableau 12.** Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.* récoltée dans la région de Djelfa.

	100%	1/10	1/100	1/1000	1/10000	Témoins
<i>Escherichia coli</i>		+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>		+	+	+	+	+
<i>Entérocooccus proteus</i>		+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	+	+	+

Les valeurs de CMI obtenus, ont montré que l'huile essentielle de la station de Tamanrasset possède un pouvoir inhibiteur important sur les bactéries Gram<sup>+</sup> (*S.aureus* et les *Enterococcus sp*) avec des CMI de 10<sup>-2</sup>V. Les bactéries Gram<sup>-</sup> (*Proteus sp*) et la levure *Candida albicans* se montrent douées avec pouvoir inhibiteur faible dont la CMI est supérieure à 10<sup>-1</sup>V.

Par contre, l'huile essentielle de la station de Djelfa se montre avec un pouvoir inhibiteur faible sur tous les microorganismes étudiés avec des CMI supérieurs à  $10^{-1}V$ , mais elle exhibe une action inhibitrice importante sur les gram+ ( *Enterococcus* sp) avec des CMI de  $10^{-2}V$ .

En conséquence les huiles essentielles de la station de Tamanrasset se montrent plus actives sur les germes cibles surtout sur les Gram+ par rapport à celles de la station de Djelfa.

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'une huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'huile est considérée comme bactéricide. Les rapports CMB/CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L de Tamanrasset. sont égaux à 1. L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. de Tamanrasset. étudiée semble donc exercer à la fois une action bactériostatique et une action bactéricide contre les bactéries Grams+ (**tableaux 12 et 13**).

**Tableau 13:** Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMB) des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* L. récoltée dans la région de Tamanrasset.

	100%	1/10	1/100	1/1000	1/10000	Témoins
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Entérocooccus proteus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>proteus</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	+	+	+

**Tableau 14.** Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMB) des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* L. récoltée dans la région de Djelfa.

	100%	1/10	1/100	1/1000	1/10000	Témoins
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Entérocooccus proteus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>proteus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	+	+	+	+	+

Les résultats des trois méthodes employées pour l'activité antibactérienne sont similaires (la méthode de diffusion, et les méthodes CMI et CMB). Toutefois, les valeurs des CMI et les valeurs des CMB étaient les plus basses.

Ceci suggère que la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas la réelle efficacité antibactérienne d'un composé, étant donné qu'il est affecté par la solubilité de l'huile, la plage de diffusion dans la gélose, l'évaporation, etc ( **Cimanga et al., 2002**).

En utilisant des procédés de diffusion et de dilution, l'huile essentielle de Tamanrasset montre un effet bactéricide surtout sur les bactéries gram+ (CMI égale à  $10^{-2}$  V). Par ailleurs les bactéries *Gram-* et *les staphylocoques aureus* se sont avérés les plus résistantes vis-à-vis de l'huile essentielle de la station de Djelfa par rapport aux *Enterococcus* sp avec des diamètres d'inhibitions comprises entre 9 mm et 11 mm dans la méthode d'antibiose. Par contre, dans la méthode CMI, elles se sont montrées très résistantes vis-à-vis de l'action inhibitrice de l'huile de la station de Djelfa avec des CMI supérieurs à  $10^{-1}$  V.

La présente étude a montré que l'activité antibactérienne de l'huile volatile de la station de Tamanrasset a été plus prononcée contre les bactéries Gram+ que bactéries Gram-. Ce résultat est en accord en partie avec les résultats rapportés par **Akrout**, avec les travaux réalisés sur les extraits par **Naili et al., ( 2010 )**. L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*A.campestris L.* de la station de Djelfa n'a manifesté qu'une très faible activité bactéricide et fongicide très faible par rapport à huile essentielle de Tamanrasset testée. Ceci peut être attribué au fait que sa teneur en composés oxygénés est relativement faible et sa nature visqueuse plus élevée par rapport à celle de l'huile essentielle de Tamanrasset..

L'activité antibactérienne des huiles essentielles ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dormans et Deans, 2000 ; Kalemba et Kunicka, 2003**). Donc le pouvoir inhibiteur important de l'huile essentielle d'*A. campestris L.* de la station de Tamanrasset contre les germes-cibles pouvaient être attribués probablement à la teneur élevée en composés oxygénés

Certaines études ont montré que l'ensemble des fractions volatiles ont une activité antibactérienne plus grande par rapport aux composants principaux. Ceci suggère que les composés présents dans les proportions les plus grandes sont responsables de l'activité, mais les constituants moins abondants doivent être envisagés. Pour ce faire, les effets synergiques de la diversité des constituants majeurs et mineurs présents dans les huiles essentielles doivent être pris en considération vue leur activité biologique (**Burt., 2004**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la station de Tamanrasset peut être expliquée par le caractère lipophile des mono terpènes contenus dans l'huile essentielle.

Les mono terpènes agissent en perturbant la membrane cytoplasmique microbienne, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (Sikkema et al., 1994). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et des composés intracellulaires (Carson et al., 2002; Ultee et al., 2002). Si la perte de matériel est trop importante à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire.

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. de la station de Tamanrasset possède une forte activité antibactérienne contre les Gram +. Des observations similaires au sujet des extraits et des huiles essentielles provenant d'espèces du genre *Artemisia* ont également été rapportés. *A. douglassiana* est utilisé pour ses propriétés antifongiques et ses activités antibactériennes. Cette espèce a été également utilisée comme un agent bactéricide topique de brûlures de la peau. En outre, *A. annua* et *A. herba alba* Asso. sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Lopes-Lutz et al., 2000).





















## *Conclusion*



Ce travail s'inscrit dans le cadre de valorisation de la flore algérienne, il a porté sur une plante du Sahara algérien appartenant à la famille des Astéracées : *Artémisia campestris* L. Dans le présent travail, différents aspects d'*Artemisia campestris* ont été étudiés : quelques propriétés phytochimique et quelque activités biologiques, des extraits aqueux et huiles essentiel de la plante. Elle a été récoltée dans deux stations Djelfa et Tamanrasset .

Le screening phytochimique a mis en évidence la richesse de l'extrait aqueux en composés polyphénols (les flavonoïdes, les tannins et les anthocyanes) et d'alcaloïdes pour les deux régions.

Le rendement de l'huile essentielle extraite est 0.30 % pour *Artémisia campestris* récoltée dans la station de Djelfa et 0.25% pour *Artémisia campestris* récoltée dans la station de Tamanrasset.

Ce qui concerne la toxicité aiguë, l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. administré à des doses allant de 30 à 150 mg/kg, d'observation indique que les deux extraits d'*Artemisia campestris* L., sont modérément toxiques.

L'activité Antioxydante de la plante est été évaluée par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité de piégeage du radical libre DPPH. Les résultat l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits aqueux *A. campestris* L des deux stations se montrent inférieures à celle de l'acide ascorbique.

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extrait aqueux d'*Artemisia campestris*. Les résultats L'œdème traité par la dose (0.3g/l) d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. de la station de Tamanrasset réduit l'inflammation avec un pourcentage plus important par rapport à celui de l'extrait aqueux de la station de Djelfa.

Pour l'activité antispasmodique (in vivo) des extrait aqueux d'*Artemisia campestris*. provoquent la diminution des spasmes avec la dose la plus forte pour les deux

stations.

Le but de l'extraction d'huile essentielle de l'*Artemisia campestris L.* est l'évaluation de leur activité antibactérienne. Cette activité a été déterminée sur souches bactériennes d'origine Clinique et contre *Candida albicans*, par la méthode d'antibiogramme, l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L* récoltée dans la région de Tamanrasset. présente une action antibactérienne importante contre les bactéries Gram-: *Proteus sp*, *E.coli* et surtout vis-à-vis des *Staphylocoques aureus* . Par contre l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L* récoltée dans la région de Djelfa présente une faible action antibactérienne contre les bactéries Gram<sup>-</sup> : *Proteus sp* , *E.coli* et les *Staphylocoques aureus*.

Ce travail peut être considéré comme un point de départ pour d'autres travaux de recherche sur les effets bénéfiques des extraits d'*Artemisia campestris L.*

## *Références bibliographiques*

A

**Aké A., N'guessan K., Kouassi A F., 2015.** Evaluation de toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Thunbergia atacarensis*, une espèce nouvelle, edition european sciantific journal. Vol 11N° 27.

**Akrouit A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M., (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L., J. FlavourFragr. 16: 337–339.

**Akrouit A., El Jani, H., Amouri, S., Neffati M., (2010).** Recent Research in Science and Technology., 2 (1)., 29–39.

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

**Alaoui J.F, Lagorce Y, Cherrah M, Amarouche H et Roquehert M., 1998.,** Annales pharmaceutiques Françaises. 220-228.

**Ali-Delille., (2010).** Les plantes medicinales d'Algerie, edittion BERTI., 40 p.

**A.N.A.T.(2002).** « Prosoective territoriale pour un développement durable et intégre de la wilaya de Djelfa », (phase I)., Alger.

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

**Annie C., Françoise.,P., 2001.** Le préparateur en pharmacie dossier 4 ( microbiologie-immunologie) 82,115.

B

**Baba aissa F., (2011) :** Encyclopédie des plantes utiles ( Flore d'Algérie et du Maghreb., substances végétales d'Afrique., d'orient et d'occident. Edition El-Maarifa, 368 p.

**Bakchiche B., Gherib A., Aazza S., Gago C., Graça Miguel M., 2013.** Antioxidant activities of eight Algerian plant extract and two essential oils, Industrial Crops and Products, vol 46, 85-96 p.

**Bannwarth ., 2001.** Anti-inflammatoire non stéroïdiens, principe et règles d'utilisation revu Pra(Paris)., tome , 48, 77-83.

**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.

**Bidie A.P, Guessan B.B, Yapo A.F, Guessan J.D et Djaman A.J, 2011.** Activités anti-oxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Science et nature*, vol 8 N°; 1, 1-11.

**Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und technologie*, (28): 25-30.

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

**Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie. Plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier. 1269 p.

**Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods and review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.



**Caratini R., (1971).** Bordas encyclopedie.Ed Bodas.Belgique.,vol 23., 137-195 p.

**Carson CF., Mee BJ., Riley TV., (2002).** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob Agents Chemother.*,vol 46., 1914-1920 p.

**Cimanga K., Hermans N., Apers S., Van Miert S., Van den Heuvel H., Claeys M., Pieters L., Vlietinck A., (2002).** Complement-Inhibiting Iridoids from *Morinda morindoides*. *Journal of Natural Products.*,vol 66., 97-102 p.

**Cohenet et fosquot, (2001).** Pharmacologie.5<sup>ème</sup> édition, Paris. 350 p.

**Combrisson, H. Barbaroux, S.Tavoillo, T (2008).** Les antispasmodiques. Cours n°5 de la pharmacologie generale. Ecole vétérinaire, Alfort



**David A., Hervé M., (1994).** Flore de la suisse.,Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse. 428 p

**Dob T., Dahmane D., BerramdaneT., 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.

**Dormans HJ., Deans SG., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J ApplMicrobiol.*, 88: 308-316.



**Fellah M., Romdhane MA., (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*.L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la société algérienne de chimie.*, 16(2), 193-202.



**Gaznegel.,J.M., 2007.** *Parmacologie*, 51-52.

**Gharabi Z.T., et SAND R. L., (2008).** *Artemisia herba alba* Asso., A guide to medicinal plants in North Africa, 49 p.

**Gosselin RE., 1984.** *Clinical toxicology of commercial products*, 5<sup>e</sup> éd. Baltimore MD., II330 p.

**Gürsoy N., Tepe B., Akpulat H.A., (2012).** Chemical composition and antioxidant activity of the essential oils of *Salvia palastina*. And *S. ceratophylla* L., *Rec. Nat. Prod.* 6 (3): 278-287p.



**Harborne JB., 1983.** *Phytochemical Methods*.Chapman and Hall., London., 288 p.

**Hodge et Sterner., 19431.** Classe de toxicité selon l'échelle de toxicité de Hodge et sterner ; [http : // www.cchst.ca/ oshanswers/chemicals/ Id50.html](http://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/Id50.html).



**Jerkovic J., Mastelic M. Milos., Juteau F., Masotti V.,VianoJ., (2003).** Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterraneanarea of France and Croatia *Flavour. Fragr.J.* (18):436–440.

**Joa O.M., Vasconcelos., Artur M.S.S and Jose A.S.C., (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestris*SubspMaritima. *Phytochemistry.* 49 (5):1421-1424.

**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

**Kalemba D., Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem.*, 10: 813-829.

**Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O., (2004).** Identification of actives principles of *M. balsamia* (Balsam Apple). Leaf Extract. *J Med Sci*, 4(3), 179-182.

**Karber C et Brehrens B., 1935.** Wie sind reihen versuche fur biologische Auswertungs and Zweck massigsten Anzournden Arch . Exp. Path, pharm, 177.379.388.

**Khebri S., (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia.*, Diplôme Magister. Spécialité : Chimie Organique., 107 p.

**Khelifi D., Sghaier R., Amouri S., Laouini D., Hamdi M., Bouajila J., 2013.**

Comoposition and anti-oxidant activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalepensis L.*, and *Peganum harmala L.*, Food and chemical toxicology, n°55, 202-208 p.

**Kim HP, Son KH, Chang HW and Kuang SS., (1996).** Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci.*, 2(1), 1-8.

**Korganaw .A.S, Martin. T,Pasquali, J.L., 2002,** reaction inflammatoires : Aspects biologique et Clinique.

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

**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

**Laouini SE., Ouahrani MR., Segni L., (2016).** Influence of solvent extraction on phenolic content., antioxidant and anti-inflammatory activities of aerial parts extract from Algerian *Artemisia Herba alba*. *Journal of Pharmacy Research.*,10(1) 58-64.

**Levy., (1969).** Carrageenan paw oedema in the mouse life sciences.8.,217-235 p.

**Ljubuncic P, Song H, Cogan U, et Azaizeh Hamd Bomzon A., 2005.** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 198-204.

**Lombard A., Bajon R., 2000.** *Artemisia campestris L.*, 1753. In Museum national d'Histoire naturelle édition 2006. Conservatoire botanique national du Bassin parisien, site Web <http://www.mnhn.fr/cbnb>.

**Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviono C. S. and Kolodziejczyk P.P. (2000).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. 69:1732-1738.

M

**Manthey JM., (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.

**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 E JR, Kandaswami C and Heoradies TC (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-751.

**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

**Mohammedi Z., 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielle et flavonoides de quelque plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère université Abou Baker Blkaid T lemcen, 155p.

**Mucciarelli M., and Maffei M., (2002).** *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and NewYork.,10-16 p.

N

**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.

**Neffati A., Skandrani I., Sghaier MB., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Neffati M., Cherif I., Hammami M., Chekir-Ghedira L., (2008).** Chemical composition., muta-



genic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. J Essent Oil Res, 20 (5), 471–477.

O

**Ozanda., 1977.** « Flore du sahara ». Edition du centre national de la recherche scientifique .,Paris.

**Ozenda P., (1983).** Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique. Paris., 441p.

P

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

**Pharmacopée URSS., (1983).** Analyse chimique des plantes médicinales., édition Ecol supérieurs Moscou., 174 p.

**Pieri, F. (1992).** Pharmacologie et thérapeutique. Nelipses, Paris

**Ponce AG., Fritz R., del Valle C., Roura SI., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Society of food Science and Technology., 36(7), 679-684.

**Potterat O., (1997).** Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. Current Organic Chemistry., (1)., 415.

O

**Quezel et Santa., (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990 p.

R

**Rahman Choudhary., M.I; Thomson.W.J., (2005).** bioassay techniques for drug development., Taylor and Francis., Amsterdam., 203- 12-17-94-77-78 p.

**Rauter A.P., Branco I., TostaoZ ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B., (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris* Sub sp Maritima. Phytochemistry.

28 (8):2173-2175.

**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. *AntivirRes* . 68:75-83.



**Sahki A et Sahki R.,2004,** le Hoggar, Atelier ésope – Lyon/Chamonix, Algérie, p 8.

**Saleh MA. 1985.** Volatile components of *Artemisia monosperma* and *Artemisia judaica*L. growing in the Egyptian deserts. *Biochem Syst Ecol*, 13, 265–269.

**Saleh NAM, El-Ghazooly SI, Abou-Zaid MM. 1987.**Flavonoid of *Artemisia judaica*, *A. monosperma*and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 26, 3059–3064.

**Sanchez-MC, Larrani JA. 1998.** Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Science and Technology International*, 4, 391-399.

**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 *Lagocephalus lagocephalus* 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.

**Sikkema J, de Bont JAM, Poolman B. 1994.**Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J BiolChem*, 269: 8022-8028.



**Teiten M.H., Diedrich M., 2013.** Anticancer bioactivity of compounds from medicinal plants used in European Medieval traditions. *Biochemical Pharmacology*,32 p.

U

**Ultee A., Bennik MH., Moezelaar R., (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 68: 1561-1568.

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.

**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

W

**Weill et Batteux., 2003,** Immuno-pathologie et réaction inflammatoire.

**Winter C. A., Risley E. A., Nuss G. W., et al., (1962).** Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Biol. Med*, 111: 544-547 p.

Y

**Yi Z., Yan Y., Liang Y., and Zeng B., (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, 41:597-603.

## *Annexes*

## 1. Matériel non biologique

### 1.1. Appareillage, Verreries et Réactifs

**Tableau 15.** Appareillage, Verreries et Réactifs.

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Balance analytique</li> <li>-Réfrigérant</li> <li>-Hotte</li> <li>-Bain marie</li> <li>-Bec bunzen</li> <li>-Etuve d'incubation</li> <li>-Plaque chauffante</li> <li>-Hydro distillateur de type clevenger</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Béchers</li> <li>-Ampoule a décantation</li> <li>-Pipettes graduées</li> <li>-Poire</li> <li>-Flacon ombré</li> <li>-Boites de pétri</li> <li>-Disque en papier</li> <li>-Ecouvillons</li> <li>-Pince de laboratoire</li> <li>-Pipette pasteur</li> <li>-Tube à essai</li> <li>-Microplaques</li> <li>-Micropipette</li> <li>-Anse de platine</li> <li>- Pied à coulisse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Eau distillé</li> <li>-Eau physiologique</li> <li>-Diethyl éther</li> <li>-Méthanol</li> <li>-Hydroxyde de potassium</li> <li>-Ammoniaque</li> <li>-FeCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AlCl<sub>3</sub></li> <li>-Acide chlorhydrique</li> <li>- Eau de javel</li> <li>-Acide sulfirique</li> <li>-Acétate de plomb</li> <li>-Tween 80</li> <li>-DPPH</li> <li>- carraghénine</li> </ul>

- Extraction de l'huile essentielle



**Figure.18.** Hydrodistillateur de type cleveger  
(Originale, 2017).



**Figure.19.** Ballon contenant l'eau et la  
matière végétale (Originale, 2017).



**Figure.20.** L' HE les deux l'*Artémisia campestris L.*  
(Originale, 2017).



**Figure.21.**L' HE  
(Originale, 2017).

- **Activité antibactérienne**

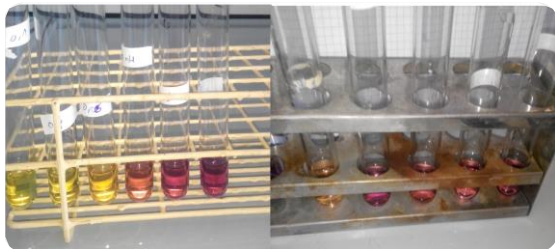


**Figure.22.** Ecouvillonnage  
(Originale, 2017).



**Figure.23.** Etuve à incuber  
(Originale, 2017).

- **Antioxydant**



**Figure.24.** résultat des l'activité antioxydant  
(Originale, 2017).



**Figure.25.** solution DPPH  
(Originale, 2017).



Figure.26. Spectrophotomètre (Originale, 2017).

- Anti-inflammatoire



Figure.27. Gavage de l'extrait aqueux (Originale, 2017).



Figure.28. Solution et poudre de carraghénine (Originale, 2017).



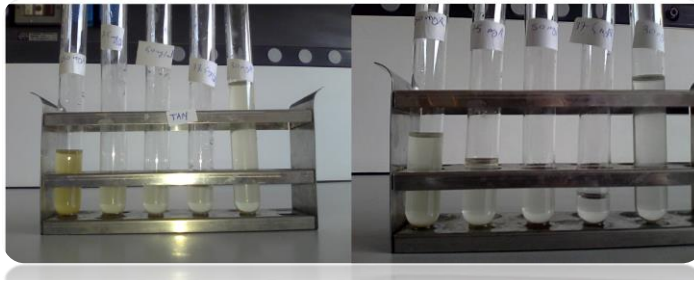
Figure.29. Pied à coulisse (Originale, 2017).



Figure.30. l'extrait aqueux (Originale, 2017).



- Antispasmodique



**Figure.31.** Solution antispasmodique (Originale, 2017).



**Figure.32.** Sonde gastrique (Originale, 2017).



**Figure.33.** La mesure du volume de la patte.