

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB de Blida
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

**Etude phytochimique et activités
biologiques des extraits d'*Artemisia herba
alba* (Armoise blanche) de la région d'Ain
Safra (Tlemcen)**

Présenté par :

Soutenu le : 21 Mai 2014

BENANI Sarah

Devant le jury composé de :

M ^{me} BENAZOUZ . F	MAA	USDB	Présidente
M ^{me} SAIGHI . H	MAA	USDB	Examinatrice
M ^{me} GANNAI . R	MAA	USDB	Examinatrice
M ^{me} BENMANSSOUR . N	MAA	USDB	Promotrice

Année universitaire

2012/2013

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	Activités biologiques des composés polyphénoliques (Bahorun, 1997)	11
02	Prélèvement des germes cibles.	29
03	Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram- (Krieg <i>et al.</i>, 1984 et Holt <i>et al.</i>, 1994).	Annexe III
04	Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram+ (Krieg <i>et al.</i>, 1984 et Holt <i>et al.</i> ; 1994).	Annexe III
05	Répartition des lots et leur soumission au test de l'effet antispasmodique	38
06	Résultats de tests phytochimiques d' <i>A.herba alba</i>	41
07	Résultats de dosage des flavonoïdes condensés dans l'extrait aqueux d' <i>A .herba alba</i> .	42
08	Valeurs des IC ₅₀ de l'acide ascorbique et l'extrait aqueux d' <i>A herba alba</i>	44

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	<i>Artemisia herba-alba</i> (El Rhaffari .L , 2008)	04
02	la plante dans son milieu naturel au début de la saison de fleuraison. (original,2013)	05
03	la plante dans son milieu naturel à la fin de la saison de fleuraison. (original,2013)	06
04	Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Ribereau, 1968).	Annexe 1
05	Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique. (Ribereau, 1968).	Annexe 1
06	Structure de base de Coumarine. (Igor, 2002).	Annexe 1
07	Structure de quelques tanins. (Bessas et al, 2007).	Annexe 1
08	Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo et al., 1999).	Annexe 1
09	Structure générale des anthocyanes (Le cation flavylum) (Bessas et al.2007).	Annexe 1
10	Structure de quelques alcaloïdes. (Kansole, 2009).	Annexe 1
11	Quelques exemples de différents types de terpenoïdes (Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998).	Annexe 1
12	Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).	21
13	Mode d'action des extraits contre les bactéries. (El-kalamouni., 2010)	25
14	Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux , 2004)	34
15	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique et l'extrait aqueux d' <i>A herba alba</i> .	43
16	Cinétique du pourcentage de réduction de l'œdème.	45
17	Pourcentage de protection des spasmes de spasmodyl et de l'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> .	47
18	Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait éthanolique et l'éthanol à 48° d' <i>A herba alba</i> .	49

Liste des Abréviations

ACTH : Hormone corticotrope ou AdrénoCorticoTrophine Hormone.

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdiens .

AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens .

APG III : Angiosperms Phylogeny Group 3^{ème} version.

DNID : Diabète Non Insulino Dépendant.

DO : Densité optique.

DPPH • : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle libre.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

GPx : glutathion peroxydase .

GR : glucocorticoïdes .

GSH-PX : Plasma glutathione peroxidase.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène .

Mⁿ⁺ : ion métallique .

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO• : monoxyde d'azote .

O₂•- : radical superoxyde.

•OH : radical hydroxyle .

ONOO- : peroxydinitrite .

RO₂' - : peroxydes.

SOD : superoxyde dismutase .

UV : ultra-violet

Résumé :

Artemisia herba alba est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracées, cette espèce connue sous le nom de « Chih » est très répandue dans les régions semi arides et arides de l'Algérie.

Les extraits organiques de l'armoise herbe blanche ont été obtenus par infusion dans l'eau bouillante pour l'extrait aqueux et par macération dans l'éthanol pour l'extrait alcoolique.

Le screening phytochimique de notre plante a montré que l'extrait organique d'armoise blanche est riche en polyphénols (flavonoïdes et tannins) et les terpènes ; ces substances ont une grande valeur thérapeutique, les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$, leur teneur est de 0,264971 g E.Q/g de poudre dans l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

L'activité anti-oxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH• qui est estimée à 75,36% ; le teste IC_{50} a été estimé à 0,35 mg/ml, cette valeur est proche de celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,28$ mg/ml) de ce fait notre plante présente une bonne activité anti-oxydante.

Le traitement de l'œdème de la patte gauche des souris par l'extrait aqueux à 200mg/ml a réduit l'inflammation, cela induit une diminution hautement significative ($P < 0,01$) par conséquent l'activité anti-inflammatoire de cet extrait est comparable à celle de Diclofénac.

L'extrait aqueux à 200mg/ml réduit les spasmes à 89,58 % qui se traduit par une bonne activité spasmolytique.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur 15 souches de bactéries Gram⁻ et Gram⁺ selon la méthode de diffusion de disque, le diamètre d'inhibition manifesté par l'extrait éthanolique sur 04 souches de bactéries Gram⁻ : *Escherichia.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp* et *Enterococcus sp*, est de 15 à 23 mm comparé aux autres souches restantes qui est de 10 à 13 mm, ce qui déduit que ces 04 souches Gram⁻ sont sensibles à l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba*.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, Extraits, screening phytochimique, Flavonoïdes, DPPH.

Abstract :

Artemisia herba alba is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family, this species known as « Chih » is very widespread in semi arid and arid regions of Algeria .

The organic extracts of wormwood white grass were obtained by infusion in boiling water and the aqueous extract by maceration in ethanol for the alcoholic extract.

The phytochemical screening of our plant showed that the organic extract of sagebrush is rich in polyphenols (flavonoids and tannins) and terpenes; these substances have great therapeutic value, flavonoids were evaluated using the method of aluminum trichloride $AlCl_3$, their content is 0.264971 g EQ / g of powder in the aqueous extract of *Artemisia herba alba*.

The antioxidant activity was evaluated using the method of reducing free radical DPPH • is estimated at 75.36%; testing the IC_{50} was estimated at 0.35 mg / ml, this value is close to that of ascorbic acid ($IC_{50} = 0.28$ mg / ml) thus our plant exhibits good antioxidant activity.

Treatment of edema of the left leg of the mouse by the aqueous extract to 200mg/ml reduced inflammation, it induces a highly significant ($P < 0.01$), therefore, the anti-inflammatory activity of this extract is comparable to that of Diclofenac.

The aqueous extract at 200mg/ml reduces spasms to 89.58% resulting in a good spasmolytic activity.

The antibacterial activity was determined on 15 strains of Gram - and Gram + by disk diffusion method, the diameter of inhibition shown by the ethanol extract on 04 strains of Gram-negative bacteria: *Escherichia. coli*, *Klebsiella pneumoniae* , *Enterococcus spp* and *Acinetobacter sp*, is 15 to 23 mm, compared to other strains which remaining is 10 to 13 mm, which infers that these 04 strains Gram- are sensitive to ethanolic extract of *Artemisia herba alba*.

Key words: *Artemisia herba alba*, Extract, screening phytochimic, Flavonoids, DPPH.

ملخص :

يعرف نبات *Artemisia herba alba* بأنه نبتة طبية تنتمي إلى عائلة Asteraceae تنتشر هذه النبتة المعروفة بـ "الشيخ" في المناطق الشبه الجافة و الجافة في الجزائر .

تم الحصول على المستخلصات العضوية بواسطة infusion في الماء المغلي للحصول على المستخلص المائي و بواسطة النقع في الإيثانول للحصول على المستخلص الكحولي .

أظهر الفحص الكيميائي النباتي لـ *Artemisia herba alba* أن استخراج العضوية منها غنية بمادة البوليفينول (الفلافونويد والعفص) وتربين؛ هذه المواد لها قيمة علاجية كبيرة، وجرى تقييم الفلافونويد باستخدام أسلوب ثلاثي كلوريد الألومنيوم $AlCl_3$ حيث قدر بـ 0.264971 غ مكافئ كرسيتين /غرام من مسحوق في المستخلص المائي لـ *Artemisia herba alba*.

تم تقييم النشاط المضادة للأكسدة باستخدام طريقة للحد من الجذور الحرة DPPH • بـ 75.36٪؛ اختبار IC_{50} قدرت بـ 0.35 ملغ / مل، هذه القيمة هي قريبة من حمض الاسكوربيك ($IC_{50} = 0.28$ ملغ / مل) وبالتالي فمستخلص المائي للشيخ الأبيض له النشاط المضادة للأكسدة جيد.

علاج وذمة ساق الأيسر للفئران بالمستخلص المائي ذو تركيز 200 مغ/مل خفض الإلتهاب ، هذا يعني انخفاض كبير للغاية ($P > 0.01$) و بالتالي نشاط المضاد للإلتهاب لهذا المستخلص مماثل لنشاط ديكلوفيناك .

المستخلص المائي ذو تركيز 200 مغ/مل يقلل من التشنجات إلى 89.58% هذا يعني أنه يمتلك نشاط مضاد للتشنجات جيد .

تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على 15 سلالة من البكتيريا $Gram^-$ و $Gram^+$ حسب طريقة الانتشار فقطر التثبيط التي أبداه المستخلص الإيثانولي على 04 سلالات من البكتيريا $Gram^-$: *Escherichia.coli* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Acinetobacter spp* ، *Enterococcus sp* ، يقدر بـ 15 إلى 23 ملم مقارنة مع السلالات الأخرى التي يقدر بـ 10 إلى 13 ملم ، هذا يعني أن هذه 04 سلالات حساسة للمستخلص الإيثانول للشيخ الأبيض .

الكلمات الرئيسية : الشيخ الأبيض، مستخلص ، فحص الكيميائي النباتي ، الفلافونويد ، DPPH .

Dédicace

*À l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé et illuminé le chemin de ma vie,
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

- ❖ *À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et son soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*
- ❖ *À mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice et ses conseils.*
- ❖ *À mes très chères sœurs : Assia et son mari Hakim , Hayet et son mari Rachid , Nawel et son mari Mohamed .*
- ❖ *À mes frères : Mohamed Amine et son épouse Bakhta , Hamza et son épouse Nassou Et mon petit frère Kamel .*
- ❖ *À mes neveux : Mohamed , Rayen , Zineddine , Abdel Hadi , Yacine , Tejeddine.*
- ❖ *À mes nièces : Amina , Soundouss , Narimène , Nadia et Anissa .*
 - ❖ *À mes collègues de travail du Bureau d'Hygiène .*
 - ❖ *À ma promo 2012-2013 .*
- ❖ *À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour ce modeste travail.*

« Celui qui a planté un arbre avant de mourir n'a vécu inutile . »

Proverbe indien

B.Sarah



Remerciement

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme Ben Mansour . N**, professeur à la faculté des sciences et de la vie , Université Saad Dehleb de Blida pour avoir accepté de m'encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de m'apporter tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mme Ben Azzouz . F**, professeur à la faculté des sciences et de la vie , Université Saad Dehleb de Blida pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury .*

*Je tiens à remercier **Mme Saighi . H** et **Mme Gannai . F** professeurs à la faculté des sciences et de la vie , Université Saad Dehleb de Blida, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Un remerciement particulier va au personnel de la filiale ANTIBIOTICAL (SAIDAL) de Médeä en particulier à **Mr Zoumbia** , **Mme Amina** et **Mme Bakfiti** pour leur aide qu'ils n'hésitèrent jamais à me proposer dans les moments difficiles.*

Je les remercie pour leur bienveillance et leur conseils.

*Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tous mes amis du laboratoire d'hygiène en particulier **Mr H'mida . N** et **Mr Tefahi . D***

Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Hippocrate a dit un jour :

« Il ne faut pas rougir d'emprunter au peuple ce qui peut être utile à l'art de guérir. »

Glossaire

Termes médicaux

Abortive : Provoque l'avortement .

Activité cytotatique : c'est l'activité des substances ayant la propriété de bloquer la synthèse, le fonctionnement ou la multiplication cellulaires

Analgsique : Combat la douleur .

Astringent : Renforce les muqueuses et la peau , réduisant ainsi les secrétions et les saignements en d'autre terme qui resserre les tissus vivants .

Anticholinergique : est une substance qui s'oppose à l'action de l'acétylcholine, une molécule jouant le rôle de médiateur chimique et permettant la communication nerveuse entre deux neurones.

Anti-œdémateuse : qui s'oppose à la formation d'œdèmes (gonflements).

Antipaludique : éviter ou soigner l'apparition de paludisme (appelé aussi la malaria).

Antiseptique : Détruit les micro-organismes responsables des infections .

Antispasmodique : Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires .

Cholagogue : Substance facilitant l'évacuation de la bile (liquide participant à la digestion des graisses) stockée dans la vésicule biliaire. Une substance cholagogue facilite donc la digestion.

Dépuratif : Agent désintoxiquant , purifiant .

Diurétique : Stimule la production d'urine .

Dysménorrhée : est une douleur qui précède, accompagne ou suit la menstruation (les règles).

Emménagogue : Provoque les règles .

Expectorant : est un médicament qui facilite l'expectoration, c'est-à-dire le rejet des produits formés dans les voies respiratoires (crachats).

Hépatoprotecteur : Protège le foie .

Hypotensive : relative à l'hypotension, tension artérielle inférieure à la normale .

Neurotoxique : Se dit de substances ayant une action toxique élective pour le système nerveux.

Œstrogène : Hormone qui stimule le fonctionnement des organes génitaux chez la femme.

Purgatif : Laxatif très puissant .

Sédatif : Modère l'activité nerveuse et agit contre la douleur et l'anxiété .

Stéroïde : Substance chimique d'origine animale ou végétale ayant une puissante action hormonale .

Stomachique : Se dit d'un médicament qui favorise le fonctionnement normal de l'estomac.

Tonique : Fortifie ou stimule l'activité de l'organisme .

Vasodilatation : Augmente le calibre des vaisseaux sanguins .

Vermifuge : Elimine et évacue les vers intestinaux .

Termes Botaniques

Biome : appelé aussi macroécosystème, aire biotique, écozone ou écorégion (terme dont le sens est souvent confondu avec biote), est un ensemble d'écosystèmes caractéristique d'une aire biogéographique et nommé à partir de la végétation et des espèces animales qui y prédominent et y sont adaptées.

Capitule : est un type d'inflorescence. Il s'agit de fleurs sans pédoncules regroupées sur un réceptacle, entourées de bractées.

pauciflore Qualifie une plante qui a peu de fleurs ou d'inflorescences.

Pennatifartite : Se dit d'une feuille dont les lobes sont en disposition pennée et dont les échancrures dépassent la moitié de la demi-largeur de la feuille.

Pubescent : Se dit d'une plante ou d'une partie de plante portant des poils fins plus ou moins espacés.

Tomenteuse : Se dit en parlant des organes(tige, feuille, etc.) dont la surface offre un assemblage de poils longs, mous, entrecroisés et crépus, analogues au coton, au duvet. Qui est recouvert de villosités.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I :Partie bibliographique

I.1-La plante d'*Artémisia herba-alba*

I.1.1-Généralités	3
I.1.2- L'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>	3
I.1. 3- Description botanique.....	4
I.1.4- Systématique de la plante.....	4
I.1.5- Origine et distribution	5
I.1.6- Biotope et répartition	5
I.1.7- Ecologie.....	6
I.1.8- Vertus médicinales.....	6
I.1.9- Toxicité.....	6
I.1.10- Caractéristiques chimiques.....	7
I.1.11- Pharmacopée traditionnelle.....	7

I.2- Le principe actif des plantes médicinales

I.2.1- Composés du métabolisme primaire.....	8
I.2.2- Composés du métabolisme secondaire.....	8
I.2.3- Classification des métabolites secondaires.....	8
I.2.4- Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires.....	13

I.3 – Effets biologiques d'*Artemisia herba alba*

I.3.1- Activité antioxydante	15
I.3.2- Effet anti inflammatoire	20
I.3.3- Effet hypoglycémique	22
I.3.4- Activité antibactérienne	22

Chapitre II :Matériels et méthode

II.1-Matériels utilisés

II.1.1-Matériel non biologique.....	28
II.1.2- Matériels biologiques.....	28
II.1.2.1- Matériel végétal	28
II.1.2.2- Matériel animal.....	28
II.1.2.3- Bactéries.....	29

II.2- Méthode

II.2.1- Préparation des extraits aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i>	30
II.2.2- Préparation des extraits éthanolique d' <i>Artemisia herba alba</i>	31

II.3- Screening phytochimique

II.3.1-But	31
II.3.2- Glucosides.....	31
II.3.3- Flavonoïdes.....	32
II.3.4- Coumarines.....	32
II.3.5- Terpènes.....	32
II.3.6- Tannins.....	32

II.3.7- Saponosides.....	32
II.3.8- Alcaloïdes.....	33
II.3.9- Anthocyanine.....	33
II.4- Dosage des flavonoïdes	33
II.5- Activités biologiques	
II.5.1- Effet anti-oxydant.....	34
II.5.2- Activité anti-inflammatoire (<i>in vivo</i>)	35
II.5.3- Activité antispasmodique (<i>in vivo</i>)	36
II.6- Test de l'activité antimicrobienne.....	38

Chapitre III :Résultats & Discussion

III.1– Résultats de l'étude phytochimique.....	41
III.2- Dosage des flavonoïdes	42
III.3- Activités biologiques.....	43
III.3.1- Effet antioxydant.....	43
III.3.2- Effet anti-inflammatoire.....	44
III.3.3- Effet anti-spasmodique.....	46
III.3.4-L'activité antibactérienne.....	47
Conclusion.....	52

Références bibliographiques

Annexes

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voir des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. **(De Pascual et al .,1984 ; Rauter et al ., 1989 ; Joao et al .,1998 ; Akrouit et al., 2001)**

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. **(De Pascual et al .,1984 ; Rauter et al ., 1989 ; Joao et al .,1998 ; Akrouit et al., 2001)**

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les poly phénols, alcaloïdes, terpènes ...etc. L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. **(De Pascual et al .,1984 ; Rauter et al ., 1989 ; Joao et al .,1998 ; Akrouit et al., 2001)**

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

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'étudier les effets biologiques et l'activité antibactérienne des différents extraits d'*Artemisia herba-alba*. La majorité des recherches ont étudié les huiles essentielles, alors que certaines d'entre elles ont étudié les extraits organiques et aqueux .

Le présent travail a pour objectif de déterminer les molécules bioactives, comme il vise à tester les activités biologiques des différents extraits aqueux : l'activité anti-oxydante , activité anti-inflammatoire , activité spasmolytique et l'activité antimicrobienne.

I.1- Plante d'*Artemisia herba-alba*

I.1.1- Introduction

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli and 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.1.2- Espèce *Artemisia herba-alba*

Connue depuis des millénaires, l'*Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (**Francis , 2001**). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoy del Rio (**IPNI**). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver.

Plusieurs noms sont attribuées à l'*Artemisia herba-alba*; thym des steppes , absinthe du désert. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, on l'appelle, en communément, (الشبيح) ou (الشبيح الخرساني) selon les régions. Au Maroc occidental elle porte aussi le nom de (القيسوم). (**MESSAI , 2011**)

L'*Artemisia herba-alba* est bien connue depuis l'Antiquité. Elle est citée dans la Bible à plusieurs reprises avec le nom hébreu *la'annah*. Le nom anglais Wormwood (attribué à toutes les armoises) fait allusion à son pouvoir vermifuge bénéfique pour l'homme et le bétail. (**MESSAI , 2011**)

I.1.3- Description botanique

Plante de 30-60cm, tiges nombreuses, tomenteuses, feuilles courtes, généralement pubescentes-argentées, pennatifidées, inflorescences en grappes lâches, capitules pauciflores (fig.1) (El Rhaffari , 2008)



Figure n°01 : *Artemisia herba-alba*(El Rhaffari .L , 2008)

(à gauche : souche puissante , en haut à droite : mini-capitules)

I.1.4- Systématique de la plante

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis; herba-alba signifie herbe blanche .Selon la classification de APG III (2009) , la plante d'*Artémisia herba-alba* est classée dans :

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermatophyta (Angiospermae)

Sous embranchement: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Sous famille: Asteroideae

Tribu: Anthemideae

Sous Tribu: Artemisiinae

Genre: *Artemisia*

Espèce: *Artemisia herba-alba* Asso

Identité vernaculaire

Tamazight : Ifsi

Arabe : Chih

Français : Armoise blanche .

I.1.5- 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 (2007).

I.1.6- Biotope et répartition

Plante peuplant les steppes argileuses, pâturages rocaillieux et terreux des plateaux et des basses montagnes des régions sèches.

Elle est rencontrée au Maroc Oriental, Rif Oriental , Moyen-Atlas, Haut-Atlas, Anti-Atlas, Atlas Saharien, sous les bioclimats saharien et semi-arides a variantes chaudes et fraîches et dans des étages de végétations du Thermo méditerranéen et Mésoméditerranéen (fig.2 et 3). (El Rhaffari , 2008)



Figure 2 : la plante dans son milieu naturel au début de stade de fleuraison. (original,2013)



Figure 3 : la plante dans son milieu naturel à la fin de stade de fleuraison.
(original,2013)

I.1.7- Ecologie

L' *Artemisia herba-alba* existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien (entre les isohyètes de 150 à 500 mm). Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans des régions d'hiver chaud à frais. Par ailleurs, cette espèce est abondante dans le centre sur des sols, à texture fine, assez bien drainées (marnes, marno-calcaires en pente).

Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux . L'armoise résiste à la sécheresse , supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés.Dans un biome steppique type, les groupements d' *Artemisia herba-alba* sont marqués par deux strates : une strate de ligneux bas (environ 40cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20cm)(Nabli ,1989)

I.1.8- Vertus médicinales

L'infuse de l'armoise blanche est consommée comme vermifuge, emménagogue, diurétique, stomachique, antiseptique intestinal, tonique, dépuratif, cholagogue, antidiabétique. (El Rhaffari , 2008)

I.1.9- Toxicité

A forte dose, l'armoise est abortive, neurotoxique et hémorragique. La thuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thuyone. Elle a des effets convulsivantes. (AOUADHI, 2010)

I.1.10- Caractéristiques chimiques

L'armoise blanche de la région d'Errachidia (Maroc) est un chémotype à α -thuyone (64 à 72%). Son huile essentielle est riche en camphène, 1,8-cinéole, santalinalcool (1%).

L'extrait solide de l'armoise renferme des flavonoïdes, des lactones sesquiterpéniques, des β -carotènes, des protéides (6 à 11%), des matières grasses, des glucides. (El Rhaffari, 2008)

I.1.11- Pharmacopée traditionnelle

Depuis longtemps, l'*Artemisia herba-alba* a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins. (Nabli, 1989)

Friedman et coll. (1986), ont rapporté que l'infusion de l'armoise est assez employée par les bédouins du Néguev (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux.

En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication contre le DNID. (Al-Wailins, 1986)

En Tunisie, une enquête menée dans le milieu urbain a montré que l'armoise est, entre autres, essentiellement utilisée pour les maladies du tractus digestif et comme un traitement antidiabétique. D'après les cas interrogés elle donne un pourcentage d'amélioration élevé. (Bouraoui N. et al, 2003)

I.2- Principe actif de la plante médicinale

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre. (Kansole, 2009)

I-2-1- Composés du métabolisme primaire

a/- **Glucosides cardiaques** : Présents dans de nombreuses plantes médicinales telles que le Muguet (*Convallaria majalis*) , les glucosides cardiaques comme la digitoxine (P.ISERIN ,2001).

b/- **Glucosides cyanogènes** : ces substances sont à base de cyanure(molécules liées à un sucre et susceptibles de libérer HCN par hydrolyse) , un poison très violent , elles ont un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles . (P.ISERIN ,2001)

Potentiellement toxiques, ils sont dotés d'un pouvoir antispasmodique et calmant. Divers lauriers, des prunus et autres rosacées, le manioc, etc. sont des plantes riches en hétérosides cyanogènes.(AOUADHI , 2010)

I.2.2- Composés du métabolisme secondaire

Chez les plantes, il existe un métabolisme secondaire, c'est une exclusivité du monde végétal. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces (Cuendet , 1999).

Le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante (Gravot, 2008).

Ils jouent un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement : plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation (Gravot., 2008).

I.2.3- Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

On distingue trois classes principales :

- Polyphénols ;
- Alcaloïdes ;
- Terpénoides.

A/- Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. **(Lebham, 2005)**. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate **(Lugasi *et al*, 2003)**.

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther,méthylque, ester, sucre...) **(Bruneton, 1993)**.

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de part leurs actions antibactériennes et anti-fongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence **(Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004)**.

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant **(Lebham, 2005)**.

Les composés phénoliques sont composés par : acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines . Ils forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. **(Beta *et al*, 2005)**. Ces substances sont dotées de certaines activités (Tableau 1).

Tableau n° 01 : Activités biologiques des composés polyphénoliques (**Bahorun, 1997**)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires

A.1- Acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (**Barboni, 2006**). Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : antiinflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**). On distingue :

* Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones).(Fig4, voir annexe 1)

* Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3).(Fig5 , voir annexe 1)(**Barboni, 2006**).

A.2- Coumarines

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus (Fig 6, voir annexe 1). Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxy coumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées.

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales ,Immuno-stimulantes , tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et Estevez-Braun, 1997**).

A.3- Tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Fig 7, voir annexe 1).(Hemingway, 1992)

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- ✓ Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- ✓ Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

A.4- Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999**).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Fig 8, voir annexe 1) (**Harborne et Williams., 2000**).

A.5- Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés . Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange.

Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (fig 9, annexe 1)(**Bassas et al, 2007**).

B/- Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux (Fig 10, voir annexe1). Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. **(Kansole, 2009).**

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine) **(Kansole, 2009).**

C/- Isoprénoïdes (Terpénoïdes)

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (Fig 11, voir annexe 1).

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire **(Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998).**

I.2.4- Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes.... **(Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).**

Parmi les principaux métabolites secondaires, on peut citer les flavonoïdes qui sont des composés qui possèdent de fortes propriétés anti-oxydantes (**Rice-Evans, 1995**). Ils sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (**Dixon et al, 1983**), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces in vitro contre les microorganismes (**Cowan, 1999 ; Recio et al, 1989**).

Les flavonones et les flavonols représentent environ 80% des flavonoïdes connus. La principale activité attribuée à ces composés est une propriété vitaminique P veinoactive.

Ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, diurétiques, antibactériens, antiviraux (**Bruneton, 1999**).

Les isoflavones sont des flavonoïdes dont leur distribution est restreinte, ce sont des phytoalexines (substances produites par la plante en réponse à une infection par un agent pathogène ; champignon par exemple). Ce sont donc des produits de défense naturelle, de puissants oestrogènes, insecticides, antitumoraux, réducteurs des manifestations de la ménopause (bouffée de chaleur) (**Kansole, 2009**).

Les flavones et les anthocyanes augmentent la réponse à la lumière visible de forte intensité. Ils sont probablement synthétisés par les végétaux dans le but d'atténuer l'intensité de la lumière qui atteint les cellules photosynthétiques. Ce sont néanmoins les radiations UV qui induisent la synthèse des flavonoïdes (**Lois, 1994**).

Les anthocyanes ont des propriétés pharmacologiques très proches de celle des flavonoïdes vu leurs structures très semblable. L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux. Les anthocyanes inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), ce qui explique leurs propriétés vasoprotectrices et anti-oedémateuse. Il s'agit, en outre, de composés veino-actifs doués d'une propriété vitaminique P (**Bruneton, 1999**).

Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils sont anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti-radicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

Les coumarines connues pour ses propriétés anti-oedémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés car elle est rapidement métabolisée au niveau du foie en 7-hydroxycoumarine (**Fujioka et al, 1999**). Il n'est pas exclu que les propriétés anti inflammatoires et analgésiques attribués au frêne soient dues aux coumarines (**Chen et al,1995 ; Garcia-Agaezet al, 2000**). L'action commune des coumarines de différente origine est celle contre les différents types de troubles gastriques (**Resch et al, 1998**), antivirale (**Yoshikawaet al, 1994**) antimicrobienne (**Kayser et Kolodziej, 1997**).

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.), caractérisées par leur astringence. Ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (**Kansole, 2009**).

Les effets thérapeutiques des alcaloïdes sont nombreux et peuvent être aussi des poisons mortels. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine) (**Kansole, 2009**).

Les corps terpéniques (le terpène se trouve dans le menthol, le camphre etc....) eux même forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Ils sont connus par leurs activités cytostatiques, insecticides, anti-inflammatoires, molluscicides et analgésiques (**Bruneton, 1999**).

I.3- Effets biologiques D'*Artemisia herba-alba*

En plus de leurs utilisations traditionnelles , *Artemisia harba-alba* possède de nombreuses propriétés biologiques on cite les plus importantes :

1.3.1- Activité antioxydante

1.3.1.1- Définition le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

I.3.1.2- Radicaux libres

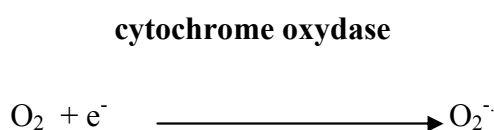
Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André., 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

I.3.1.3- Les espèces réactives de l'oxygène

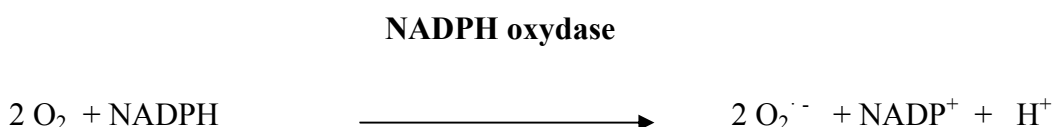
Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$) .(**Jacques et André., 2004 ; Gutteridge,1993**).

A/- Radical superoxyde

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

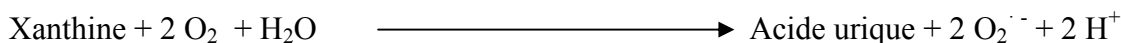


Le radical superoxyde peut également se former lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase présente dans la membrane plasmique des phagocytes :



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

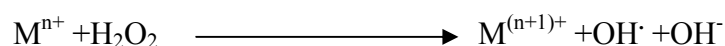
Xanthine oxydase



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

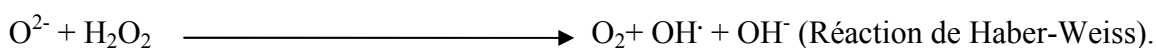
B/ - Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle (OH) est une espèce radicalaire hautement réactive. Il est principalement formé lors de réactions d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène, ces réactions sont décrites sous le nom de réactions de Fenton:



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

Fe



C/- Peroxyde d'hydrogène

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



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

I.3.1.4- Conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques :

- oxydation de l'ADN,
- oxydation des protéines,
- oxydation de lipides ,
- oxydation des glucides,

mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003**).

I.3.1.5- Antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (**Favier, 2003**).

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule:

A/- Antioxydants endogènes

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (**Avissar et al.,1989**) et aussi les chélateurs de métaux (**Jacques et André , 2004**).

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Marfak, 2003**).

B/-Antioxydants exogènes_

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants. Notons à titre d'exemples, les plus courants:

➤ **Vitamines**

- **La vitamine E ou α -tocophérol** : est un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. (Gardès-Albert et al., 2003).

- **La vitamine C ou acide ascorbique** : est une vitamine hydrosoluble. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles $\cdot OH$, mais aussi avec les radicaux superoxydes $O_2^{\cdot -}$. (Gardès-Albert et al., 2003).

➤ **Antioxydants d'origine végétale**

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de vastes familles de composés (plusieurs centaines) parmi lesquels se trouvent le β -carotène, l'acide caféique et la quercétine. Les caroténoïdes et les polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles $\cdot OH$ et peroxydes $RO_2^{\cdot -}$. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace que celle de l' α -tocophérol. En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteur d'oxygène singlet 1O_2 , ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Gardès-Albert et al., 2003).

➤ **Oligo-éléments**

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la glutathion peroxydase GPx de sélénium (Garait, 2006).

➤ **Glutathion**

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. (Stamler et Slivka, 1996). En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzymes des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E. (Gerard-Monnier et Chaudière, 1996).

I.3.1.6- Maladies liées au stress oxydatif

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, Alzheimer, Parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète (**Atawodi, 2005 ; Georgetti et al., 2003**).

I.3.2- Effet anti inflammatoire

I.3.2.1-Inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Mal contrôlée, l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme *via* la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entraînant dans les cas les plus graves le décès (**Nathan, 2002; Barton, 2008**).

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Barton, 2008**). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

A/- Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al., 2010**).

B/- Inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse

inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). (Charles *et al.*, 2010)

I.3.2.2- Anti-inflammatoires

A/- Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclo oxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique (Fig 12).

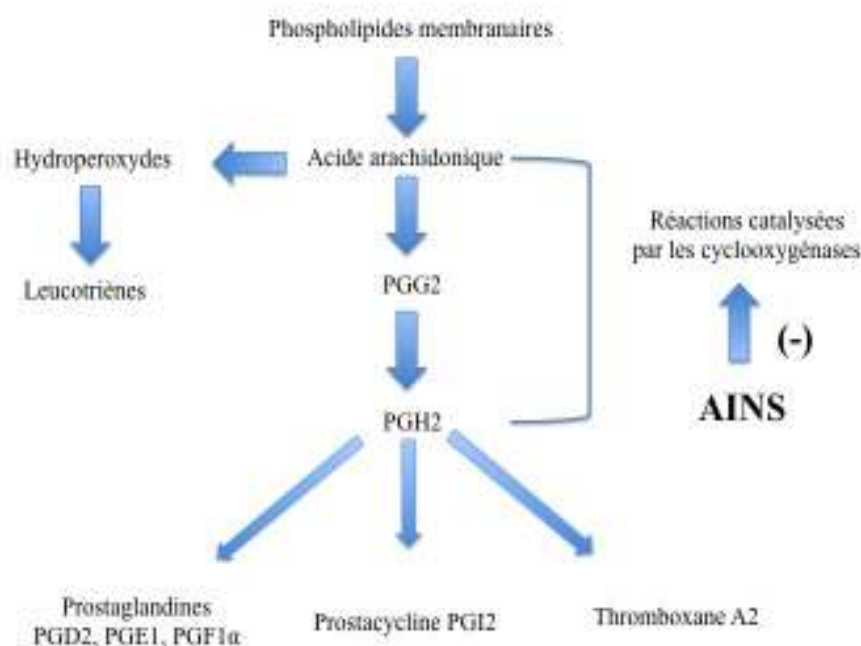


Figure 12: Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

B/- Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. (Barnes, 1998).

C/- Anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phyto chimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phyto chimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. (**Barnes, 1998**).

I.3.3- Effet hypoglycémique

Alshamaony et al (1994) , ont rapporté l'effet hypoglycémique de l'Artemisia herba-alba , dans cette étude l'alimentation des rats et des lapins diabétiques avec 0,39 g/kg de poids corporel de l'extrait aqueux des parties aériennes de la plante pendant 2-4 semaines a montré une réduction significative de niveau de glucose dans le sang , empêche l'élévation du niveau glycolyse d'hémoglobine et possède un effet de hypoliposis , en plus de la protection contre la perte de poids corporel d'animaux diabétiques .

I.3.4- Activité antibactérienne

I.3.4.1- Entérobactéries

A/- Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires).elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (**Nauciel et Vildé., 2005**).

La famille des *Enterobacteriaceae* est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs. (**Avril et al ; 1992**)Le nom d'entérobactérie avait été donné à cette famille parce que beaucoup des membres qui la composent sont des hôtes du tube digestif mais cette localisation n'est pas exclusive chez

l'homme et les animaux. On en isole du sol et des végétaux qui sont même le gîte habituel de certaines espèces. (**Leminor. ; 1989**)

Ce sont des bacilles à gram négatif dont la plus part sont mobiles grâce à des flagelles disposés de manière péritriches, ils cultivent facilement en milieu usuel et sont aéro-anaérobies facultatifs comme toutes les bactéries à gram négatif, ils possèdent au niveau de leur paroi lipopolysaccarédique qui porte sur sa partie polysaccharidique des antigènes appelées O. les flagelles portent des antigènes appelées H. certaines espèces possèdent aussi des antigènes capsulaires de nature polysaccharidique (antigène K), tous ces antigènes ont de structure très variable. (**Nauciel ; 2000**)

Plusieurs processus métaboliques caractérisent cette famille bactérienne, il s'agit notamment de la capacité de réduire les nitrates en nitrites(en vue de générer de l'énergie), de fermenter le glucose, de ne pas avoir le cytochrome oxydase. (**Mirabaud ; 2003**).

Les entérobactéries sont responsables de deux grands types de manifestations pathologiques : pathologie spécifique telle la typhoïde avec *Salmonella typhi* ou d'une pathologie opportuniste notamment dans le cadre des infections nosocomiales (**Denis et al ; 2007**)

B/- Différents types d'entérobactéries :

- ***Escherichia coli* :**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale (**Nauciel ; 2000**).

Escherichia coli est impliquée dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire, suppurations localisées ou septicémies, il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (**Nauciel ; 2000**)

- ***Klebsiella* :**

Les *Klebsiella* sont des bacilles à gram négatif, toujours immobiles, de dimensions comparables à celles de *Escherichia coli* très souvent encapsulés (**Leminor ; 1989**) . *Klebsiella pneumoniae*, de loin la plus souvent rencontrée et *Klebsiella oxytoca* sont isolées principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépatobiliaires ou de pus divers. (**Avril et al ; 1992**).

- ***Enterobacter* :**

Les Entérobacter sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux, on les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses, ce sont des bactéries de l'hospitalisme (Avril et al ; 1992)

L'espèce type est *Enterobacter cloacae*, c'est aussi la plus souvent rencontré.

Ces bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables de septicémies, de méningites, d'infections urinaires, d'infections néonatales et de suppurations diverses (Avril et al ; 1992)

- ***Citrobacter* :**

Les *Citrobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux à sans chaud (Avril et al ; 1992). Le pouvoir entéro-pathogène des *Citrobacter* est nul sauf dans rare exceptions (infections urinaires, septicémies surinfection du tractus respiratoire).

- ***Staphylococcus aureus* :**

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick et al., 1988). *S. aureus* représente est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Steven et al., 2004).

- ***Streptococcus* :**

Ces bactéries poussent en chainettes de cocci analogues à des colliers de perles, elles sont anaérobies, leur culture nécessite des milieux riches (gélose au sang). Les principaux streptocoques pathogènes sont α -hémolytiques, le plus important chez l'homme, est le groupe A. Les *streptocoques* de ce groupe sont responsables d'angines, et d'autre infections sévères. Ces infections peuvent être à l'origine de complications importantes, telles que le rhumatisme articulaire aigu. (Patrick et al., 1988).

I.3.4.2- Mode d'action contre les bactéries

Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles et des extraits des plantes ait son propre mécanisme d'action. Mais d'une manière générale, leur action se déroule comme suite :

- **Action membranaire**
 - ✓ La nature lipophile des huiles essentielles ainsi que leur composition en molécules hydrocarbonées laissent présager une action au niveau de la membrane cellulaire des microorganismes. en effet, les molécules lipophiles sont susceptibles de traverser les parois et membranes cellulaires ; les hydrocarbures se logent préférentiellement dans les membranes biologiques et en perturbent leurs fonctions vitales (**Carson et al., 2006**).
 - ✓ L'altération de la membrane cellulaire et notamment de sa perméabilité peut entraîner des pertes anormales d'ions, voire de macromolécules. Il y a des études qui supposent que les huiles essentielles ont une action au niveau de la membrane mitochondriale, elles provoquent une diminution du potentiel membranaire affectant ensuite échanges de Ca^{2+} et H^+ (d'où une modification de gradient de pH) (figure 12). (**Bakkali et al., 2007**)
- **Modification du contenu cellulaire**
 - ✓ L'acidification de l'intérieure de la cellule bloque la production de l'énergie et la synthèse des composants de structure
 - ✓ La destruction du matériel génétique qui conduise à la mort de la bactérie (**El-kalamouni., 2010**)

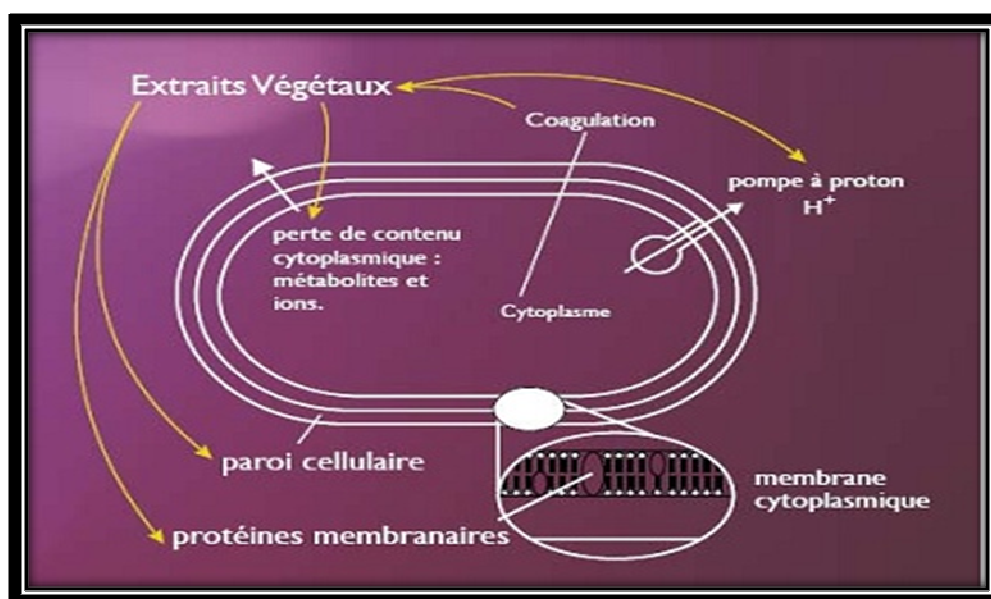


Figure 13 : Mode d'action des extraits contre les bactéries. (**El-kalamouni., 2010**)

I.3.4.3 -Activités antibactériennes des poly-phénols

Les poly-phénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel la toxicité (Cowan., 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert., 1991).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont re u plus d'attention du leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de bio-films, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu' leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (Daglia., 2011). La quercétine et la naringénine sont rapportés être des inhibiteurs de *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus nervous*, *Staphylococcus epidermis* et *Saccharomyces cerevisiae* (Sandhar et al., 2011). En outre, la morine-3-O-lyxoside, morine-3-O-arabinoside et la quercétine-3-O-arabinoside possèdent une action bactériostatique sur les bactéries pathogènes contaminant les denrées alimentaires y compris *Bacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteric*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera*. Les flavonones ayant un groupement de sucre ont aussi montré une activité antimicrobienne, tandis que certaines flavonolignanes n'ont montre aucune activité inhibitrice envers les microorganismes (Sandhar et al., 2011).

Notre stage pratique a duré 6 mois successifs. (Mois d'Avril –Mois de Septembre). Il est basé sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique d'*Artemisia herba alba*.

La station choisie pour cette étude est située au niveau de la région de Ain Safra (wilaya de Tlemcèn). Le choix de cette station a été basé sur des critères écologiques (climat, sol, précipitation et altitude), ces dernières ont une influence sur le développement de la plante et sur la qualité des extraits de la plante.

L'évaluation de l'activité biologique des extraits d'*Artemisia herba alba* a été réalisée au niveau de deux laboratoires différents :

- Activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique au sein de la filiale ANTIBIOTICAL de l'Entreprise de la Fabrication des Produits Pharmaceutiques SAIDAL de Médéa.
- Et l'activité antibactérienne au niveau de laboratoire d'Hygiène de Blida.

II.1-Matériels utilisés

II.1.1-Matériel non biologique

L'appareillage , la verrerie et accessoires , en plus des réactifs et produits chimiques divers sont mentionnés en Annexe II

II.1.2- Matériels biologiques

II.1.2.1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est les parties aériennes d'*Artemisia herba alba* récoltées dans la région de Ain Safra de la wilaya de Tlemcen . La récolte a été réalisée durant la période de floraison (mois de Février).

Ces échantillons sont mis dans des sacs biens aérés , puis étalés sur du papier à l'ombre , à l'abri de l'humidité et à la température ambiante pendant 10 jours jusqu'à ce qu'ils deviennent complètement secs .

II.1.2.2- Animaux

Nous avons travaillé sur des souris (30) de race Albinos NMRI. (Naval Medical Research Institute) élevées au niveau de l'Animalerie du complexe ANTIBIOTICAL, SAIDAL de Médéa.

Au total, 30 souris de sexe mâle et femelle sont utilisées. 15 souris sont servies à l'étude de l'activité anti inflammatoire et 15 souris à l'étude l'activité antispasmodique. Le poids varie entre 17-24g.

II.1.2.3- Bactéries

Les germes-cible utilisés appartiennent à différents groupes taxonomiques microbiens. Au total, 15 souches bactériennes dont 13 Entérobactéries Gram-: *Klebsielle pneumoniae*¹, *Proteus mirabilis*¹, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*², *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Klebsiella pneumoniae*², *Enterococcus sp*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter spp*. Et 2 bactéries Gram+ : *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus spp*.

Toutes ces souches ont été conservées dans des milieux de conservation au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida, et ont été isolées de différents prélèvements. Certains de ces germes ont été isolés des urines (examen cytobactériologique des urines) (E.C.B.U) ou de coprocultures(C.P.C). D'autres proviennent de pus d'abcès (P.A), des crachats (C.R) et des sécrétions bronchiques (S.B). (Tableau 2)

Tableau n°2 : Prélèvement des germes cibles.

Germes -cible	Prélèvement
<i>Staphylococcus aureus</i>	C.R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S.B
<i>Proteus mirabilis</i>	P.A
<i>Escherichia coli</i>	P.A
<i>Proteus mirabilis</i>	E.C.B.U
<i>Proteus vulgaris</i>	P.A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P.A
<i>Citrobacter freundii</i>	P.A
<i>Citrobacter diversus</i>	E.C.B.U
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	E.C.B.U
<i>Enterococcus sp</i>	E.C.B.U
<i>Salmonella typhi</i>	C.P.C
<i>Streptococcus spp</i>	C.P.C
<i>Enterobacter cloacae</i>	E.C.B.U
<i>Acinetobacter spp</i>	E.C.B.U

Nous avons confirmé l'identification de ces germes en utilisant la clé d'identification de (**Krieg et al., 1984 et Holt et al., 1994**) pour la caractérisation des Bactéries. Les résultats sont rapportés dans les **tableaux 3 et 4(Annexe III)**.

II.2- Méthode

II.2.1- Préparation des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba*

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de *Artemisia herba alba* est réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillon après broyage de ces parties par le mortier .

Nous avons choisie des concentration de 05% , 10%et de 20% préparées successivement de la manière suivantes :

- 05g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 100 ml d'eau distillée bouillon.
- 10g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 100 ml d'eau distillée bouillon.
- 20g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 100 ml d'eau distillée bouillon.

Après cette étape nous avons laissé ces solutions pendant 30 minutes pour infuser avec une agitation ; puis centrifugé à 1000 tours / mn pendant 15 mn pour se débarrasser des débris des plantes ; en suite , filtré sur papier filtre de type de Wattman 5 Les filtrats sont ensuite mis dans des petits flacons en verre étiquetés (05% , 10% , 20%) .

II.2.2- Préparation des extraits éthanolique d'*Artemisia herba alba*

Dix grammes de poudre de la plante ont été mis à macérer dans 100 ml d'éthanol à 96° pendant 72 h sous agitation. L'extrait a été filtré sur papier filtre de type wattman N=°3 et concentré sous pression réduite à 50 °C, puis séché à poids constant. Le résidu d'extraction a été de 129,2 g. Une solution de concentration égale à 6,46 g/ml a été préparée dans 20 ml de l'éthanol 48° avec l'extrait sec obtenu (Ali-Emmanuel N et al., 2002).

II.3- Screening phytochimique

II.3.1-But

Identification des substances bioactives contenues dans la partie aérienne d'*A.herba alba* basée sur les réactions colorimétriques et de précipitation par différents réactifs.

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante nous permet d'avoir une bonne idée sur ses actions pharmacologiques.

Ces tests phytochimiques sont en relation avec l'intensité du précipité et de la turbidité ou de la coloration et proportionnelle à la quantité de la substance recherchée .

Les résultats sont classés en : Réaction très positive (+++), Réaction moyennement positive (++) , Réaction louche (+), Réaction négative (-).(Ponce et al., 2003).

II.3.2- Glucosides

Mélanger 02 g de poudre de plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré à 96%, le mélange obtenu est de couleur rouge . (Gherib. 1988)

II.3.3- Flavonoïdes

Mélanger 10 g de poudre de plante avec 150 ml d'acide chlorhydrique HCl concentré à 37 % dilué à 01% (annexes ?) pendant 24 heure .

Après 24 h de macération , le mélange est filtré puis on procède au test suivant :

- Prendre 10 ml du filtrat .
- Ajouter 05 ml d'hydroxyl ammoniacque (NH₄OH) concentré à 30 % pour rendre le milieu basique .
- Observation d'un halo jaune . (**Gherib. 1988**)

II.3.4- Coumarines

Mélanger 01 g de poudre de plante avec 05 ml d'ether , agiter puis filtrer : Le filtrat obtenu est mis sous U.V (ultra-violet) à 365 nm . Observation d'une couleur bleu .

Mettre 01 ml d'extrait aqueux de 10% sous U.V à 365 nm : observation d'une couleur bleu .

Conclusion : présence de coumarines . (**Gherib. 1988**)

II.3.5- Terpènes

Prendre 05 ml d'extrait aqueux de 10% mélangé à 05ml d'acide phosphomolybdique (annexe ?) et 05 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré à 96%. Le mélange obtenu est de couleur bleu .(**Gherib,1988**)

II.3.6- Tannins

Prendre 01 ml d'extrait aqueux de 10% mélangé à 01 ml d'eau distillée et de 2 à 5 gouttes de solution de FeCl₃ (Annexes III) .

Le résultat est une coloration bleu – vert . (**Gherib. 1988**)

II.3.7- Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides dont la génine stéroïdique ou tri terpénique (lipophile) est reliée à des résidus sucrées (polaires), en nombre parfois important , et dont certains sont des acides uroniques.(**Vigor et al , 2011**)

Prendre 02 ml d'extrait aqueux de 10 % , ajouter 02 ml d'une solution d'acétate de plomb (0.5 g d'acétate de Pb + 05 ml d'eau distillée) ; il y aura un précipité au fond du tube à essai .
(Gherib. 1988)

II.3.8- Alcaloïdes

Mélanger 15 ml d'extrait aqueux de 10% avec 09 ml d'acide sulfurique concentré à 96% (H₂SO₄) puis mettre dans 03 tubes à essai 08 ml du mélange précédant et on procède aux opérations suivantes :

- Tube n °01 : 08 ml du mélange + quelques gouttes de mercuri- iodure de potassium (réactif VALSER-MAYER). (Annexe IV)
- Tube n °02 : 08 ml du mélange + quelques gouttes de tétraiodo-bismuthate de potassium (réactif DRAGENDORFF). (Annexe IV)
- Tube n °03 : 08 ml du mélange + quelques gouttes d' AcOH iodo-ioduré (réactif BOUCHARDAT). (Annexe IV)

Observation des précipités pour tube n°02 et n°03 et un trouble pour le 1^{er} tube . (Gherib. 1988)

II.3.9- Anthocyanine

Prendre 05 ml d'extrait aqueux de 10 % mélangé à 04 ml NH₄OH concentré à 30% .
L'apparition d'une coloration rouge . (Gherib. 1988)

II.4- Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Huang et al., 2004) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits d'échantillon .

Un millilitre (1 ml) de la solution concentrée à 2,5mg/ml obtenue par dilution de la solution de l'extrait aqueux à 10% (100mg/ml) a été ajouté à un volume égal d'une solution de 2% de AlCl₃ ; 6H₂O. Le mélange a été vigoureusement agité par un agitateur magnétique, après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesuré à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=a. x+b$)(annexe V) établie par la quercitrine (0-350 µg/ml), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en gramme d'équivalent de quercétine par gramme de poudre.

II.5- Activités biologiques

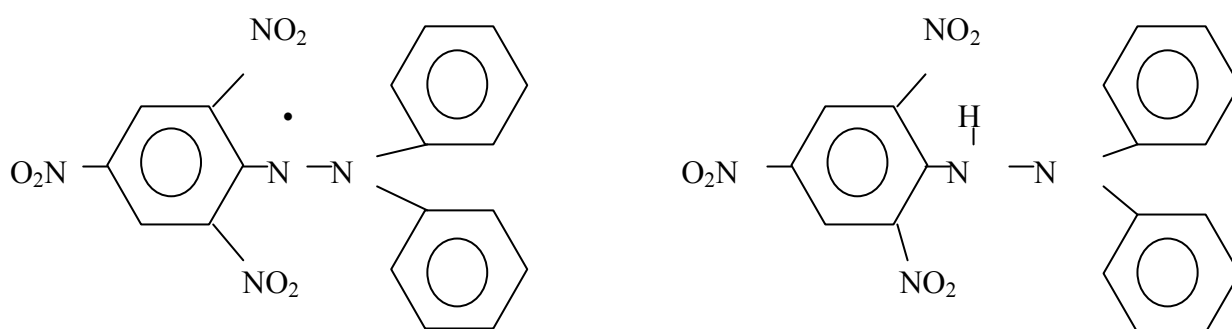
Les tests biologiques consistent à mettre en évidence les activités biologiques des extraits d'*Artémisia herba alba* à savoir l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique, et antibactérienne.

II.5.1- Effet anti-oxydant

Pour évaluer l'activité anti-oxydante d'*Artemisia herba alba*, nous avons utilisé la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

➤ Méthode de piégeage du radical libre DPPH :

Le pouvoir antioxydant de notre extrait aqueux a été testé par la méthode au DPPH ; ce radical (fig n° 14) libre stable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle.



DiPhenylPicrylHydrazyl (radical libre)

DiPhenylPicrylHydrazyl (non libre)

Figure 14 : Forme libre et réduite du DPPH (**Molyneux , 2004**).

Cinquante microlitres de chaque concentration de l'extrait aqueux, (10mg/ml , 5mg/ml , 2,5 mg/ml , 1mg/ml , 0,8mg/ml, 0,6mg/ml, 0,2mg/ml, 0,1mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 mg/ml).

En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de l'eau distillée avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

II.5.2- Activité anti-inflammatoire (*in vivo*)

a-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: Diclofenac de sodium.

b-Mode opératoire

La veille de l'expérimentation les souris ont été mises à jeun pendant 16 heures.

Les souris sont répartis en 4 lots contenant chacun 3 souris de différente poids (17-24g) :

- **Lot 1:** reçoit l'eau physiologique.
- **Lot 2:** reçoit le Diclofinac de sodium (0,4mg/ml).
- **Lot 3 :** reçoit l'extrait aqueux d'*Artemisia herba- Alba* à 05%.
- **Lot 4 :** reçoit l'extrait aqueux d'*Artemisia herba- Alba* à 10%.
- **Lot 5 :** reçoit l'extrait aqueux d'*Artemisia herba- Alba* à 20%.

Au temps t = 0 : les 5 solutions sont administrées par voie orale (gavage).

- Lot 1 : chaque souris reçoit 0.5ml d'eau physiologique (témoin négatif).
- Lot 2 : chaque souris reçoit 0.5ml de solution de Diclofénac (témoin positif).
- Lot 3 : chaque souris reçoit 0.5ml d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à 05%
- Lot 4 : chaque souris reçoit 0.5ml d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à 10%
- Lot 5 : chaque souris reçoit 0.5ml d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à 20%.

Après 30 minutes de l'administration du traitement, nous avons injecté 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^{ème} de millimètre. (Annexe IV)

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.

$$\% AUG = \frac{\text{volume de la patte au temps } T - \text{volume Initial } (V_0)}{\text{volume Initial } (V_0)} \times 100$$

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

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

II.5.3- 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 comparaison entre notre extrait et l'antispasmodique de référence.

La solution antispasmodique a été administrée par voie orale (gavage), à raison de 0,5ml/souris, suivie par l'administration de 0,2 ml d'acide acétique par injection en intra péritonéale 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 le tableau 5 :

Tableau n°05 : 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 0,2ml d'acide acétique.	Vérification de l'effet Antispasmodique de référence.
Essais de l'extrait Aqueux K	3	Extrait aqueux à 50 mg/ml puis0, 2 ml d'acide acétique.	Mise en évidence de l'activité antispasmodique et de la relation entre la dose et l'effet.
	4	Extrait aqueux à 100 mg/ml puis0, 2 ml d'acide acétique	
	5	Extrait aqueux à 200 mg/ml puis0, 2 ml d'acide acétique.	

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

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

Lot T: lot témoin

Lot E: lot essai

II.6- Test de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne des extraits d'*Artemisia herba-alba* a été étudiée sur quinze (15) souches bactériennes .

a- Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

b- Les milieux de culture

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants:

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits d'*Artemisia herba-alba*.

c- Préparation de précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. Après 24h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes d'une densité optique (trouble) et été préparées, pour chaque microorganisme, dans 9 ml d'eau physiologique (10^{-1}) puis repiqué 1 ml à partir de chaque suspension dans 9 ml d'eau physiologique (10^{-2}).

d- Tests antimicrobiens

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).

Application:

Des disques de papier filtres stériles Whatmann de 6 millimètres de diamètre sont imprégnés dans deux(02) solutions : Extraits éthanolique d'armoise blanche et éthanol absolu (alcool= témoin négatif) .

À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieuensemencé (étalé) par une suspension microbienne . Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C.

Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al., 2006**).

III.1– Résultats de l'étude phytochimique

Les résultats obtenus par l'identification des composants de cette plante s'ont résumés dans le tableau suivant :

Tableau n°06 : Résultats de tests phytochimiques d'*A.herba alba*.

Métabolites secondaires	Couleur	Résultat
Glucosides	Rouge	++
Flavonoïdes	Jaune	+++
Coumarines	Bleu	++
Terpènes	Bleu	+++
Tannins	Bleu-Vert	+++
Saponosides	Un Précipité Blanc	++
Alcaloïdes	Trouble	++
Anthocyanines	Rouge	-

Réaction fortement positive : +++

Réaction faiblement positive : +

Réaction moyennement positive : ++

Réaction négative : -

L'étude phytochimique de la partie aérienne de l'armoise herbe blanche nous a révélé qu'elle est riche en substances bioactives telles que flavonoïdes, tannins et terpènes, et moyennement riche en : glucosides, coumarines, saponosides et alcaloïdes et une absence totale des anthocyanines (Tableau VI).

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes.... (**Harborne, 1998 ;Bruneton, 1999**).

III.2- Dosage des flavonoïdes :

L'étude quantitative de l'extrait brut de la partie aérienne d'*A herba alba* au moyen de dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des flavonoïdes.

La quantité des flavonoïdes correspondante a été rapportée en gramme de flavonoïdes d'équivalents de quercétine utilisé par gramme de poudre (**g EQ/g de poudre**) et déterminés par l'équation de type : $y = a x + b$ (Annexe I), et les résultats sont représentés dans le tableau 07 .

Tableau n°07 : Résultats de dosage des flavonoïdes condensés dans l'extrait aqueux d'*A .herba alba*.

Teneur en g EQ/g de poudre	Flavonoïdes
Extrait aqueux	0,264971

Selon le tableau la teneur en flavonoïde est de 0,264971 g EQ/g de poudre dans l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* , cette valeur est élevée que celle de la région de Ghardaia qui de 0,1276 g EQ/g de poudre dans l'extrait aqueux d'*A herba alba*.(RABAHI,2013)

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques (Flavonoïdes). des études ont montrés que les facteurs extrinsèques (facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante, et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en poly-phénols (Aganga., 2001, Pedneault et al., 2001).

III.3- Activités biologiques

III.3.1- Effet antioxydant

Nous avons réalisé la méthode de DPPH pour l'évaluation de cette activité sur l'extrait aqueux d'*A. herba alba* et les résultats sont exprimés dans la figure

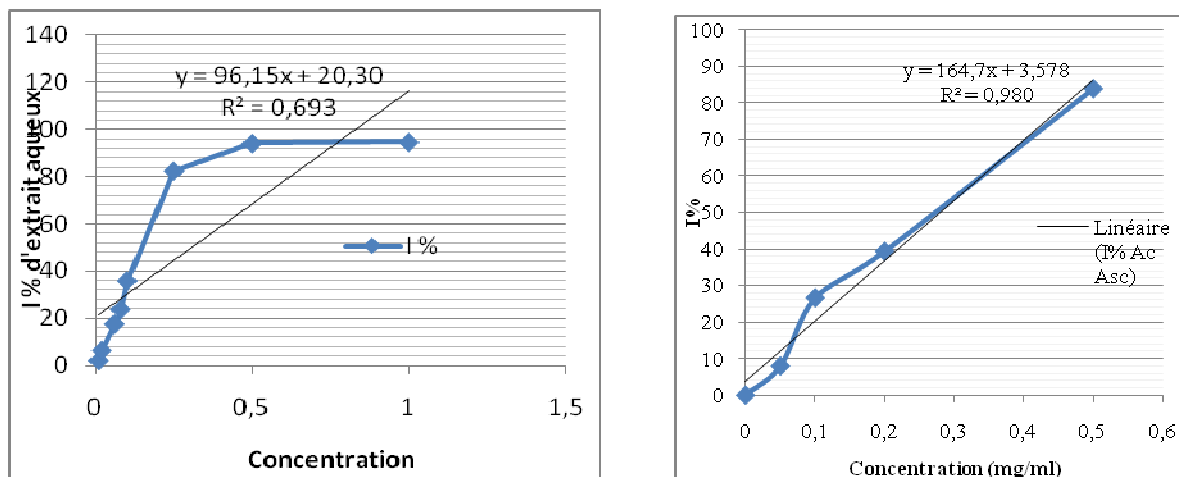


Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique

et l'extrait aqueux d'*A herba alba*.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour l'extrait aqueux d'*A.herba alba*.

Nous avons remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait aqueux est peu inférieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées.

Pour une concentration de 0,5mg/ml, l'extrait aqueux a révélé un pourcentage d'inhibition égale à 75,36% pas loin de celui de la vitamine C qui est de 83,86%.

La capacité anti-oxydante des différents extraits a été déterminée à partir des IC_{50} , c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH•. Plus la valeur d' IC_{50} est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (Pokorny et al, 2001).

Le résultat de l' IC_{50} de l'extrait aqueux et l'acide ascorbique sont calculés graphiquement (Figure 22) et représentés dans le tableau 8:

Tableau n°08: Valeurs des IC₅₀ de l'acide ascorbique et l'extrait aqueux d'*A herba alba*.

Témoin positif et échantillon	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait aqueux	0.35
Acide ascorbique	0.28

Les résultats expérimentaux obtenus montrent que l'extrait aqueux d'*A herba alba* présente une bonne activité anti-oxydante avec une IC₅₀ de 0.35 mg/ml. Cette activité n'est pas loin à celle de l'acide ascorbique qui présente une IC₅₀ = 0.28 mg/ml, ceci suggère que notre plante possède des flavonoïdes doués d'activité anti-oxydante élevée.

Selon **Hertog et al(1993)** **Djeridane et al, (2006)**, l'activité antioxydant de l'extrait de la plante est essentiellement attribuée aux composés phénoliques en particulier aux flavonoïdes.

Donc cette activité peut s'expliquer par la présence des tanins, et des flavonoïdes qui sont détectés dans les extraits de notre étude (tests de screening phytochimique), et le dosage qui montre une teneur importante en flavonoïdes. En effet les flavonoïdes et les tanins sont des piègeurs de radicaux libres (**Diallo., 2005**).

Selon **De Pooter et Schamp (1986)**, il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène.

III.3.2- Effet anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est réalisée par la technique de l'œdème de la patte de la souris provoqué par la carraghénine (**Winter et al., 1962**), et exprimée par le pourcentage de la réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport au témoin négatif (non traité).

Les résultats de pourcentages d'inhibition de l'œdème des pattes des souris en fonction du temps sont mentionnés dans le tableau n°09 (**annexe VI**) et la **Figure 23**.

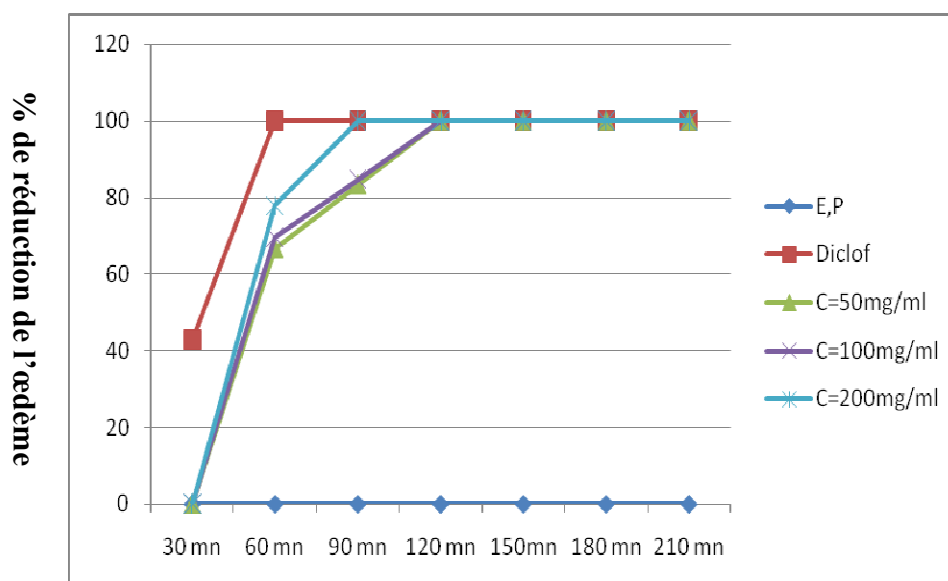


Figure 16 : Cinétique du pourcentage de réduction de l'œdème.

L'administration préventive de Diclofénac et de notre extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à trois concentrations différentes se traduit par une réduction de l'œdème d'une façon progressive.

Le volume de l'œdème diminue avec le temps, cette réduction est plus importante chez les lots traités par les extrait aqueux que chez le lot traité avec l'eau physiologique.

Le Diclofénac réduit l'inflammation à partir de la 1^{ère} heure et atteint son maximum à la 90^{ème} minute avec un pourcentage d'inhibition de 100%.

Egalement notre extrait aqueux à la concentration de 200 mg/ml réagit de la même façon que le Diclofénac.

Donc à 60 mn, il existe une différence hautement significative ($P < 0.01$) entre le témoin positif (Diclofénac) et notre échantillon à 200mg/ml. Ceci démontre que notre extrait aqueux a une activité anti-inflammatoire très importante. (voir annexe 1)

Et aux concentrations de 50 mg/ml et 100 mg/ml qui ont inhibé l'inflammation à partir de la 1^{ère} heure et qui n'ont atteint leur maximum qu'à partir de la 2^{ème} heure.

En revanche et à 210mn, aucun changement dans la réduction de l'inflammation n'a été noté pour tous les lots. Ceci a été vérifié avec l'étude statistique (ANOVA suivie par Tukey de comparaison par paires) où aucune différence significative ($P > 0.05$) n'est à mentionner.

Les résultats obtenus à l'issue de ce test montrent que les extraits aqueux à différentes concentrations, réduisent de façon appréciable l'œdème induit par la garraghénine, l'inhibition de l'œdème des trois extraits est comparable à celle du Diclofénac ; en outre, l'activité anti-radicalaire de l'extrait de cette plante est un atout supplémentaire pour l'activité anti-inflammatoire.

La richesse des extraits aqueux en différents constituants chimiques peut justifier cette activité.

Selon (Saleh et al., 1985, Saleh et al., 1987) les flavonoïdes peuvent être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire. Et d'après l'étude phytochimique et dosage de flavonoïdes de notre extrait aqueux qui montre une teneur importante en ces composés.

Selon Da Silva et al., 1994 ; Galati et al., 1994 ; Middleton, 1996 ; De nombreux travaux indiquent que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire. Notre extrait aqueux d'*A herba alba* contient une teneur importante en flavonoïdes donc on peut expliquer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait par la présence de ces métabolites secondaires.

III.3.3- Effet anti-spasmodique

L'effet antispasmodique est expliqué par le pourcentage de protection après administration de l'eau physiologique et les différentes doses de l'extrait aqueux à des souris à lesquelles la douleur est provoquée par l'injection d'acide acétique à 1% par voie intrapéritonéale.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure 17 :

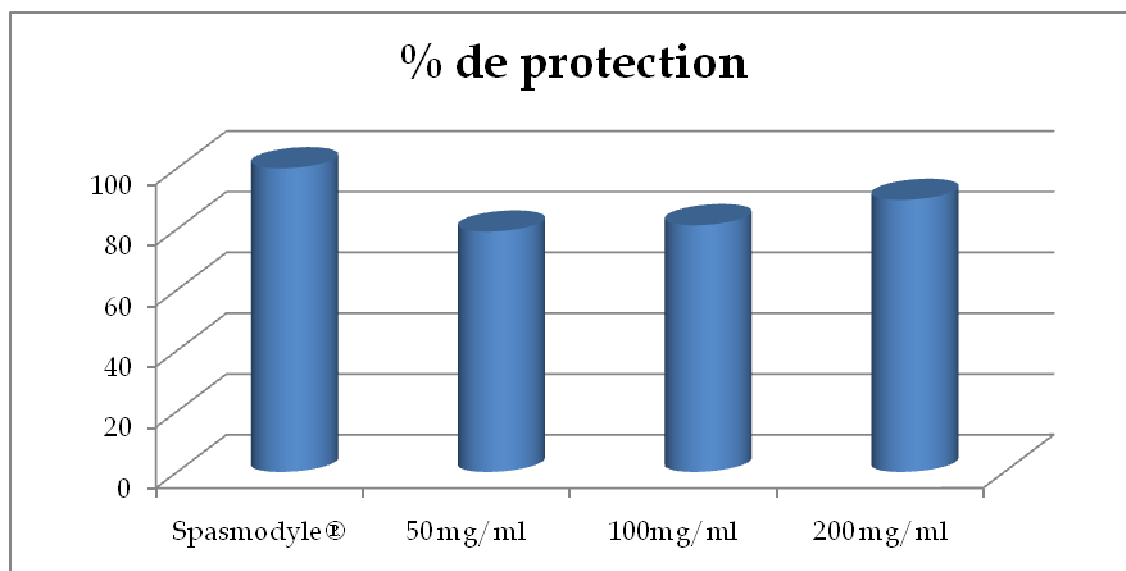


Figure 17: Pourcentage de protection des spasmes de spasmodyl et de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

Le lot traité par spasmodyl® (80mg) a réduit le nombre de spasme à 100%, tant dis que pour l'*Artemisia herba alba*, le pourcentage de diminution des spasmes par rapport au lot témoin est de 89,58% pour la dose de 200mg/ml ; et de 79,16% et 81,25% pour la dose de 50mg/ml et 100mg/ml respectivement.

L'efficacité de l'*Artemisia herba alba* contre les contractions serait lié à sa teneur en composés phénoliques tels que Les flavonones et les flavonols représentent environ 80% des flavonoïdes connus qui diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, diurétiques, antibactériens, antiviraux (**Bruneton, 1999**).

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 bornéol, l'apigénine, limonène, linalool, pinène et terpène-4-ol (**Gharabi et al., 2008**).

III-3-4-L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'extrait éthanolique d'*A. heba alba* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, et la sensibilité des bactéries se mesure par rapport aux diamètres d'inhibition observés.

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*A herba alba* sont mentionnés dans les **figure18** et les photos (**photo :1,2,3 et 4**) .



Photo 1 : Diamètre d'inhibition en (mm) de *Klebsiella pneumoniae* vis-à-vis de l'extrait éthanolique d'*Artémisia herba alba*

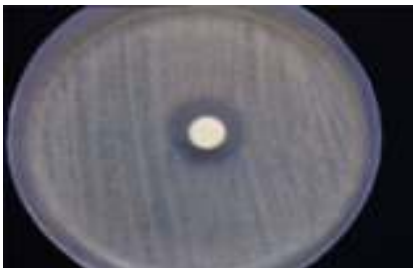


Photo 2 : Diamètre d'inhibition en (mm) de *Acinetobacter spp* vis-à-vis de l'extrait éthanolique d'*Artémisia herba alba*



Photo 3 : Diamètre d'inhibition en (mm) d'*E.coli* vis-à-vis de l'extrait éthanolique d'*Artémisia herba alba*

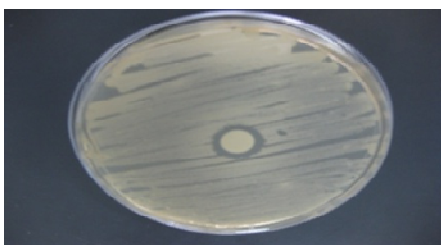


Photo 4 : Diamètre d'inhibition en (mm) d' *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait éthanolique d'*Artémisia herba alba*

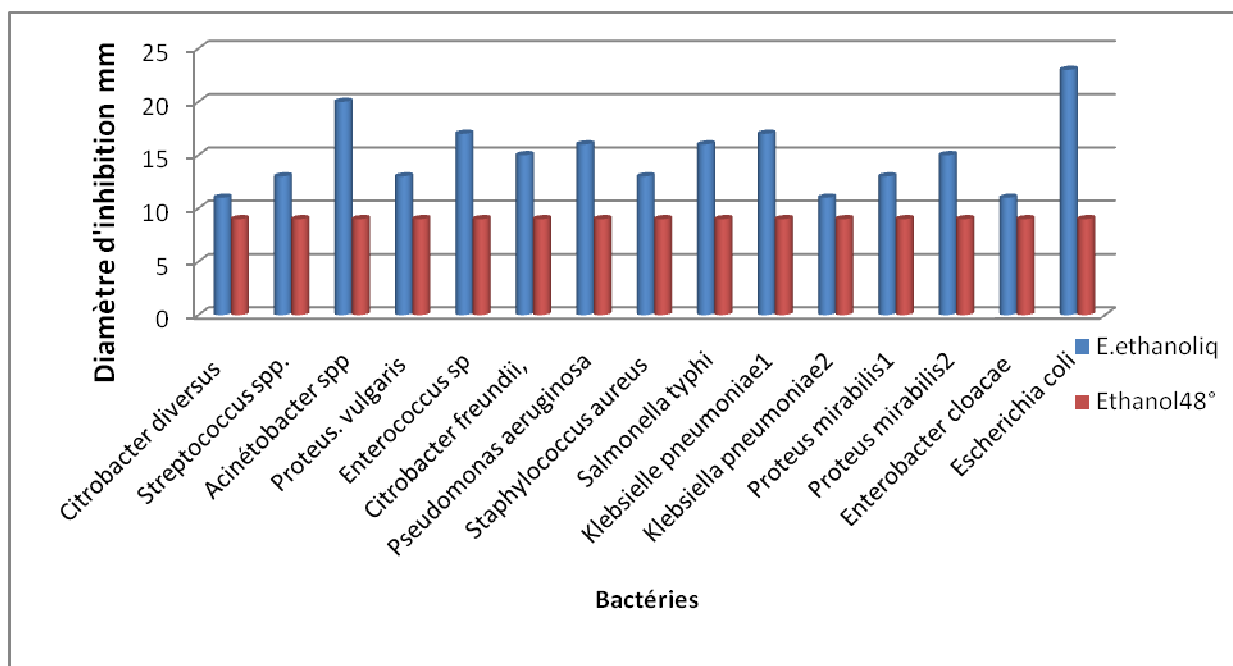


Figure 18 : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait éthanolique et l'éthanol à 48° d'*A herba alba*.

Les résultats de cette étude montrent que le solvant utilisé pour dissoudre les résidus secs de ces extraits alcooliques (alcool à 48°) n'a donné aucune zone d'inhibition.

Alors que l'extrait éthanolique s'est révélé actif vis-à-vis des 4 souches bactériennes Gram- : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter ssp* et *Enterococcus sp* avec des diamètres d'inhibition variant de 15 à 23 mm, les autres souches bactériennes étudiées se montrent avec une faible sensibilité selon les diamètres d'inhibition variant de 10 à 13 mm.

Les résultats de (Mohsen & Ammar, 2009) ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par l'eau ce qui pourrait expliquer le résultat déjà mentionné.

Cette observation est soutenue par plusieurs travaux dont ceux de Moroh et al. (2008) et Bagré et al. (2011) qui ont montré que l'éthanol permet une meilleure concentration des principes actifs comparativement à l'extrait aqueux.

L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique peut s'expliquer par les différents constituants chimiques. L'alcool permettant une meilleure extraction de composés moins polaires comme des dérivés terpéniques, tels que ceux identifiés dans *A herba alba*. (Verma et al., 1997).

Les poly-phénols, tels que les tannins et les flavonoïdes, comme la catéchine, la myricétine, et la quercétine, (**Shan et al., 2007**) et lutéoline (**Askun et al., 2009**) sont des substances antibactériennes importantes.

Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes sont produits en réponse à l'infection microbienne par les plantes. Par conséquent l'efficacité de ces substances évaluée *in vitro* a montré une action inhibitrice sur la majorité des souches bactériennes étudiées. De nombreuses études ont montré une relation contradictoire entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir antimicrobien.

Chabot et al., (1992) rapporte que les composés les moins polaires comme les flavonoïdes manquant le groupement hydroxyle sur leur cycle B sont plus actifs vis-à-vis des microorganismes que ceux portant le groupe OH. D'autre part, **Mori et al., (1987)** ont trouvé que les flavonoïdes trihydroxylés 3', 4' et 5' sur le cycle B et substitués 3-OH sont nécessaires pour l'activité antimicrobienne.

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et les effets biologiques des extraits organiques et des extraits aqueux de l'Armoise herbe blanche de la région de Tlemcen.

Les testes phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence : les flavonoïdes, les tannins, les glycosides, les terpènes, les coumarines, les saponosides et les alcaloïdes. Ces métabolites ont de grande valeur thérapeutique.

Concernant les activités biologiques nous avons aboutit à :

- Le pouvoir oxydant de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* par la capacité de piégeage du radical libre DPPH• ; nous avons constaté que l'activité anti oxydante par le piégeage du radical libre DPPH• et en comparant le IC₅₀ de l'extrait aqueux de l'Armoise blanche par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité oxydante très importante de l'extrait aqueux (IC₅₀ = 0,35 mg/ml) qui n'est pas loin de la capacité de piégeage DPPH• de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 0,28 mg/ml).

L'étude du pouvoir anti oxydant par cette méthode a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres ; cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique comme elle peut trouver aussi une application dans l'industrie alimentaire.

- Les résultats obtenus de l'activité spasmolytique et l'activité anti inflammatoire indiquent que les extraits aqueux d'*Artemisia herba-alba* inhibent la douleur provoqué par l'acide acétique et réduisent l'œdème provoqué par la carraghénine dans la patte de souris , ces résultats et ceux d'autres études antérieures confirment la validité de l'indication traditionnelle des extrait aqueux de cette plante dans la perspective de la mise en point d'un médicament traditionnel améliorés pour la prise en charge par exemple des dysménorrhées .

- L'activité antibactérienne a été déterminée sur l'ensemble des souches testées selon la méthode de diffusion sur disque , les résultats obtenus indiquent que l'extrait alcoolique possède une importante activité antibactérienne.

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

- Faire une étude phytochimique sur toute les parties d'*Artemisia herba-alba* , car la partie souterraine (racines) de chih - selon Dr Kaddem .S (1990)- est indiquée contres certains troubles nerveux(sédatif) , tics , convulsion et spasmes .

- Faire une étude toxicologique d'Armoise herbe blanche .

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

- Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité anti-oxydante.

Références Bibliographiques

- ☞ **Adrian, J ; Frangne, R (1991).** La science Alimentaire de A à Z, Ed. *Lavoisier, Paris*.
- ☞ **Aganga AA, Julish W.D, Kusunick C, Lindesquist U, 2001.** Screening of yamani medicinal plant and cytotoxic activites. *Journal of enthenopharmacology*, 74: 173-179.
- ☞ **Akrout A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* 16: 337–339.
- ☞ **Akrout A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.
- ☞ **Alaoui J.F, Lagorce Y, Cherrah M, Amarouche H et Roquehert M., 1998.,** Annales pharmaceutiques Françaises. 220-228.
- ☞ **Ali-Emmanuel N, Moudachirou M, Akakpo A. J et Quetin-Leclercq J., 2002.** Activités antibactériennes in vitro de *Cassia alata*, *Lantana Camara* et *Mitracarpus Scaber* sur *dermatophilus congolensis* isolé au Bénin. *Revue Elev-Méd-Vét. Pays trop*, 55(3) : 183-187.
- ☞ **Al-Wailins,** *Clin Exp Pharmacol Physiol.* Jul. (1986) 13(7):569-73.
- ☞ **Antwerpen P.V. (2006).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système Meyloperoxydase/ Peroxyde d'hydrogène/Chlorure. Thèse de doctorat. Université libre de Bruxelles. pp: 3-5.
- ☞ **AOUADHI Samia , 2010 .** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle , étude de 57 plantes recommandées par les herboristes , ,Faculté de médecine de Tunis – Master spécialisé en toxicologie.
- ☞ **Askun, T., Tumen, G., Satil, F., Ates, M. 2009.** *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chem.*,116: 289-294.
- ☞ **Atawodi S. E. (2005).** Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec.*4 (2): 128133.
- ☞ **Avissar N., Whitin J.C., and Allen P.Z. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase.*J. Biol. Chem.* 2: 15850-15855.
- ☞ **Avril J.L, Dabernat H.(1992) ;** Montiel: Bactériologie clinique, édition ELLIPES : p149-183-185-187-188.
- ☞ **Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , p 83.
- ☞ **Bagré I, Bahi C, Ouattara K, Zirihi GN, Djaman AJ, Coulibaly A, N'guessan JD, 2011.** Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance in vitro de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie* 9: 136–141.

- ☞ **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.(2007).** Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46 : 446–475.
- ☞ **Barboni, T. (2006).** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.
- ☞ **Barnes Peter J (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.
- ☞ **Barton G M (2008)** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, 413-420.
- ☞ **Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. (2007).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.
- ☞ **Beta, T; Nam, S; Dexter, J.E; Sapirstein, H.D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled ulreat and roller – milled fractions, *Creal Chem*: 390 -393.
- ☞ **Bouraoui N., Lafi B. (2003)** , Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine , Tunis.
- ☞ **Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B.(2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience& Nutrition*. 4 (6):7.(cited in Mohammedi Z, 2005).
- ☞ **Bruneton, J. (1993).** Pharmiognosie et phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc Lavoisier*. Paris, p 278-279.
- ☞ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie , Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- ☞ **Carson CF, Hammer KA, Riley TV.(2006)** ; *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*: (1):50-62
- ☞ **Cavin, A. (1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p 241 .
- ☞ **Chabot S., Bel-Rhlid R., Chênevert R., Piché Y. ; 1992.** Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂- enriched conditions. *New Phytol.*, **122**, 461-467.
- ☞ **Charles N Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010).** Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*, 2-3.
- ☞ **Chen, Y.F; Tsai, H.Y; Wu, T.S. (1995).** Anti-Inflammatory and analgesic activities from the roots of *Angelica pubescens*, *Planta Med.*, 61: 2-8.

- ☞Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39:756-761.
- ☞Cuendet, M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- ☞Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev*,12 : 564-582.
- ☞Daglia M .(2011) ; Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 3,1-8.
- ☞Da Silva E.J.A., Oliveira, A. B., Lapa, A.J., 1994. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 46(2) : 118-22.
- ☞Denis François et al.(2007) ; Bactériologie médicale : techniques usuelles, édition Elsevier Masson SAS : p11-135-136-140-197.
- ☞De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R and Bellid I.S. (1984). Phenolic derivatives from *Artemisia campestris Subsp Glutinosa*. *Phytochemistry*. **23 (8)**: 1819-1821.
- ☞De Pooter H.L. et Schamp N. (1986). Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150p.
- ☞Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds *Food Chemistry* **97**, 654–660.
- ☞Diallo A., 2005. Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat. Mali.
- ☞Dixon, R.A; Dey, P. M; Lamb, C. J. (1983). Phytoalexins: Enzymology and molecular biology, *Adv. Enzymol* ,55 : 1-136.
- ☞El-kalamouni Chaker .(2010) ; Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse ;Discipline ou spécialité : Sciences des Agroressources
- ☞El Rhaffari Lhoussaine , Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes, juin 2008.
- ☞Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.pp: 108-115.
- Francis Joannès,. Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont 2001, ISBN 2221092074.

☞Fujioka, T ; Furumi, K ; Fujii, H ; Okabe, H ; Mihashi, K ; Nakano, Y ; Mastunga, H ; Katano, M. et Mori, M. (1999). Antiproliferative constituents from umbelliferae plants., V.A., New furanocoumarin and falcariindiol furanocoumarin ether from the root of *Angelica japonica*, *Chem. Pharm. Bull*, 47,96-100.

☞Galati E. M., Monforte M. T., Kirjavainen S., Forestieri A. M., Trovato A., Tripodo M., 1994. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco* 40(11) : 709-12.

☞Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble.

☞Garcia-Aguez, A. N ; Apan, T. O. R ; Delgado, H. P ; Velazquez, G. et Maetinez-Vazquez, M. (2000). Anti-Inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model, *Planta Med*, 66: 279-281.

☞Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. pp: 91-96.

☞Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharm Sci*. 5 (2):5p.

☞Gerard-Monnier, D ; Chaudière, J., (1996). Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion, *Path Biol* , 44 : 77 – 85.

-Gharabi Z Sand RL., 2008. *Artemisia herba alba* Asso. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa* : 49 - 49.

☞Gherib A.(1988). Travaux pratiques de chimie thérapeutique. Diagnose des médicaments, P40-50.

☞Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

☞Gonzalez, A. G ; Estevez-Braun, A. (1997). Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14 : 465-475.

☞Gravot, A. (2008). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.

☞Gutteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*. 19: 141-158.

☞Harborne J.B. (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).

☞Harborne J.B., and Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.

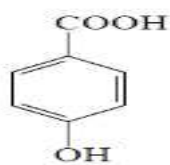
- ☞ **Hemingway, R.W. (1992).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. Laks P.E, Hemingway R.W New York.
- ☞ **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., 1994.** Bergy's Manual of determination Bacteriology, *Ninth Edition*: 836.
- ☞ **Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., and Van de Putte, B., 1993.** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wine and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41,. 1242-6.
- ☞ **Huang, D; Ou, B; Prior, R.L. ,2004.** "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6): 1841-1856.
- ☞ **Igor Passi, L.B. (2002).** Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
- ☞ **IPNI.** The International Plant Name Index.
- ☞ **Jacques B, and André R. (2004).** Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219220-223-225.
- ☞ **Joao O.M., Vasconcelos., Artur M.S.S and Jose A.S.C. (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry*. **49 (5)**: 1421-1424.
- ☞ **Kansole, M.M.R. (2009).** Etude ethnobotanique, phytocimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppossta vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- ☞ **Kayser, O; Kolodziej, H. (1997).** Antibacterial activity of extrats and constituents of *Pelargonum sidoides* and *Plelargonium reniforme*, *Planta Med*, 63: 509-510.
- ☞ **Krieg N.R., Holt J.G., 1984.** Bergy's Manual systematic Bactériology. *Édition Barbara.Tansil* ; 1: 941.
- ☞ **Kundan S., and Anupam S. (2010).** The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J.Pharm. Biol.* pp:1-9.
- ☞ **Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology*. **50 (3)**: 358-361.
- ☞ **Lebham, (2005).** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- ☞ **Leminor Michel Veron . (1989) ;** Bactériologie médicale, 2^{ème} édition : p389-429-444.
- ☞ **Levy L., 1969.** Carragenan paw edema in the mouse. *life Sci*. 8. 601-606.
- ☞ **Lois, R. (1994).** Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV resistance in *Arabidopsis*, *Planta*; 194: 498-503.

- ☞ **Lugasi, A ; Hovari, J ; Sagi, K.V ; et Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegediensis* 1-4: 119-125.
- ☞ **Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10-
- ☞ **Martinez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77: 147161.
- ☞ **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.
- ☞ **MESSAI . Laid , (2011).** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est algérien (*Artemisia herba alba*), Université MENTOURI Constantine , Faculté des sciences exactes , Département de chimie .
- ☞ **Middleton, E. J., 1996.** Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J.Pharmacol.* 34(5): 344-348.
- ☞ **Milane, H ; (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg.
- ☞ **Mirabaud Madeleine Irène . (1996) ; «Entérobactéries à bêta- lactamases à spectre élargi en pédiatrie»** thèse de doctorat en Médecine : université de Genève : p2-5- 7-8.
- ☞ **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
- ☞ **Mohsen, S.M., Ammar, A.S.M., 2009.** Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*, 112: 595-598.
- ☞ **Molyneux.P (2004)** .The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity . *Songklanakarin .J.Sci.Technol.*26(2),211-219.
- ☞ **Mori A .,Vishino C., Enoki N., Twata S.,1987.** Antibacterial activity and mode of action of plant Flavonoids against *Proteus Vulgaris* and *Staphylococcus Aureus*. **26:2231-2234.**
- ☞ **Moroh JLA, Bahi C, Djè K, Loukou YG, Guédé-Guina F., 2008.** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (*rubiaceae*) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bull de la SR des Scien de Liège*, 77 : 44 – 61.
- ☞ **Mucciarelli M and Maffei M. (2002).** *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- ☞ **Nabli M. A.,** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed.MAB 1989 (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.

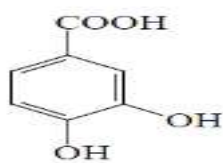
- ☞ **Nathan C (2002)**. Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.
- ☞ **Nauciel Charle.(2000)** ; Bactériologie médicale ; édition Masson, Paris : p69-71-72.
- ☞ **Nauciel. C., and Vildé J.L. (2005)**. Bactériologie médicale, 2^{ème} Ed. Masson . Paris. pp: 5-10.
- ☞ **Patrick B., Jean L., and Michel S.(1988)**; Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.
- ☞ **P.ISERIN ,2001** : Encyclopédies des plantes médicinales ; Larousse
- ☞ **Pendneault K. Leonharts, Angenol, Gosselin A, Ramputh A, Arnason J.T, 2001**. Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence, Canada, 1-5
- ☞ **Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordon, M. (2001)**. Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.
- ☞ **Ponce A.G, Fritz R, Del Valle C et Roura S.I., 2003**. Antimicrobial activity of essential oils in the native microflora of organic swiss chard. *Lebensmittel. Wissenschaft und technologic*, 36, 679-684.
- ☞ **Rabahi Samia ,2012/2013** . Etude phytochimique et activités biologiques des extraits d'*Artemisia herba alba* de la région de Ghardaïa, université de Saad Dehleb – Blida.
- ☞ **Rahman M.E., Soharb M.H., Hassan C.M., Rashid M.A., 2005**. « Antibacterial activity of *Claussena heotaphylla* » . *Fitoterapia*. 72: 547-549.
- ☞ **Rauter A.P., Branco I., Tostao Z ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. (1989)**. Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry*. 28 (8): 2173-2175.
- ☞ **Recio,M.C; Rios, J. L;Villar, A. (1989)**. A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988, *Phototherapy. Res.*, 3,117-125.
- ☞ **Resch, M; Steigel, A; Chem, Z . L; et Bauer, R. (1998)**. 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase-1 inhibitory active compounds from *Atratyloides lancea*, *J. Nat. Prod.*, 61 : 347-350.
- ☞ **Rice-Evans, C.A; Miller, N. J; Bolwer, P.G; Bramley, P.M. and Ridham, J.B. (1995)**. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.*, 22:375-383.
- ☞ **Saleh NAM, El- Negoumy S I, Abd-Alla, M F, Abou- Zaid M M, Dellamonica G, Chopin J., 1985**. Flavonoid glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba alba*. *Phytochemistry*, 24 : 201 - 203.
- ☞ **Saleh NAM, El-Negoumy SI, Abou-Zaid MM.,1987**. Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 26 : 3059 - 3064.
- ☞ **Sandhar H K, Kumar B , Prasher S, Tiwari P, Salhan M and Sharma P.(2011.)**; A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 25-41.
- ☞ **Scalbert A . (1991)**; Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.

- ☞ Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* **48**: 1986–1993.
- ☞ Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H., 2007. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food Microbiology*, 117: 112-119.
- ☞ Steven. P., Rachel. C., Martha. E., Paul. H., Jane. S., and Peter W.J.(2004); Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132
- ☞ Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K. (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. **67**: 2058–2070.
- ☞ Verma d.k., singh s.k., tripathi v., 1997. A rare antibacterial flavone glucoside from *Lantana camara*. *Indian Drugs*, **34**: 332-335.
- ☞ Vermerris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
- ☞ 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.
- ☞ VIGOR Clair , vercauterne .Joseph , MONTELS Jérôme ; Travaux Pratiques de pharmacognosie , les substances naturelles dans « la chaine du médicaments » , 1^{ère} partie : Initiation , 3^{ème} année de la FCB , 2010-2011.
- ☞ Winter CA., Risley FA., Nuss GW.,1962. Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* ; **111** : 544-547.

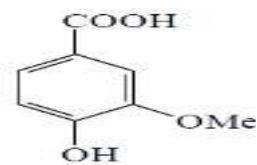
Annexe I :



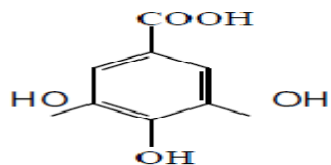
Acide p-hydroxybenzoïque



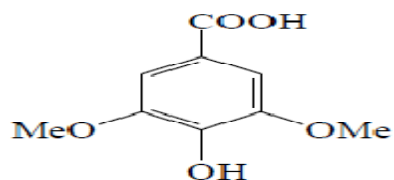
Acide protocatéchuïque



Acide vanillique

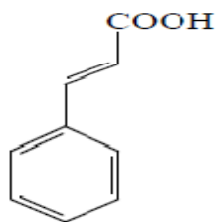


Acide gallique

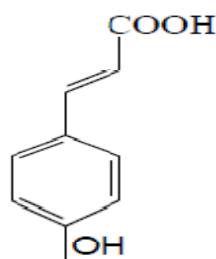


Acide syringique

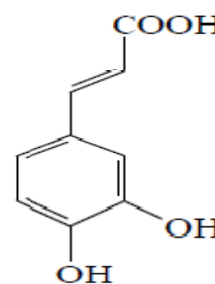
Figure 4 : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Ribereau, 1968).



Acide cinnamique



Acide p-coumarique



Acide caféique

Figure 5 : Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique. (Ribereau, 1968).

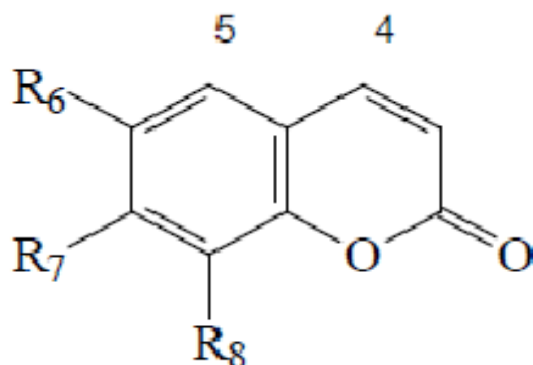
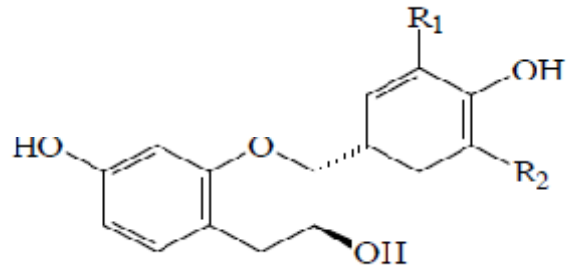


Figure 6 : Structure de base de Coumarine. (Igor, 2002).



$R_1 - R_2 - H$: Afzéléchol

$R_1 - OH$; $R_2 - H$: Catéchol

$R_1 = R_2 = OH$: Gallocatéchol

Figure 7 : Structure de quelques tanins. (Bessas et al, 2007).

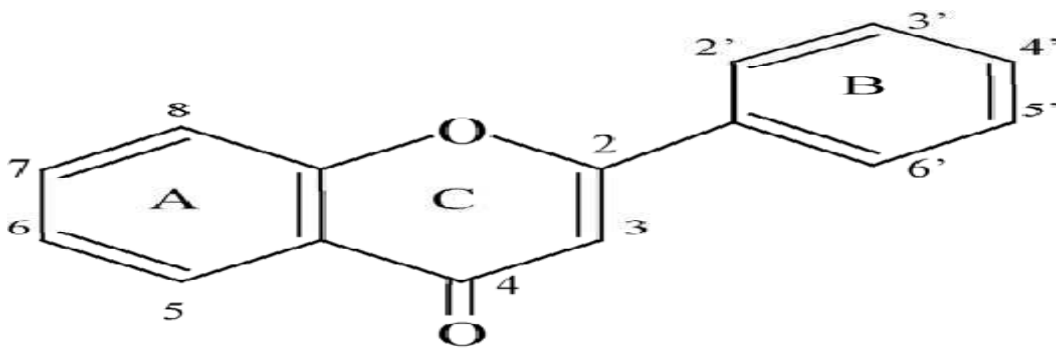
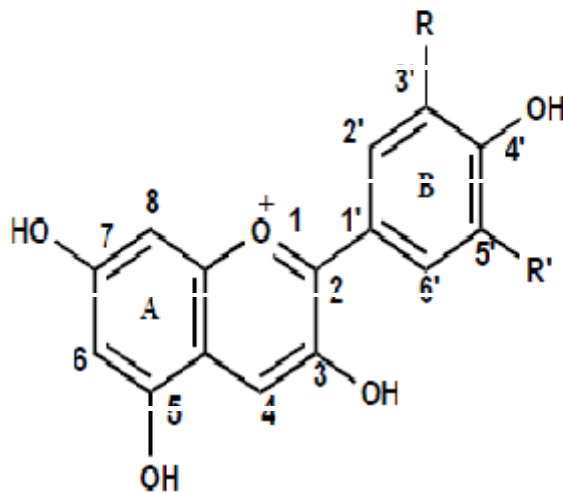


Figure 8: Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo et al., 1999).



$R=OH, R'=H$: cyanidol

$R=R'=OH$: delphinidol

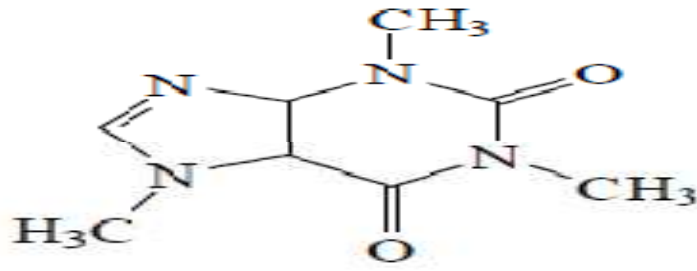
$R=H, R'=OCH_3$: péonidol

$R=OH, R'=OCH_3$: pétunidol

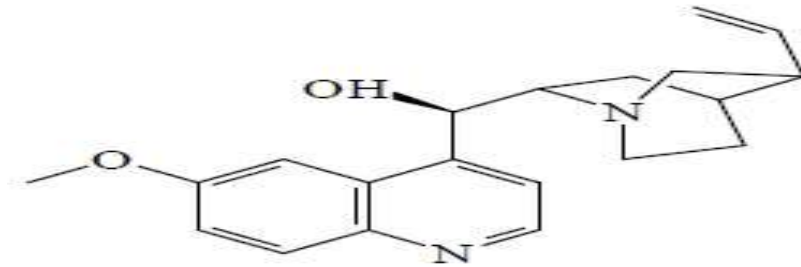
$R=R'=OCH_3$: malvidol

Figure 9 : Structure générale des anthocyanes (Le cation flavylium)

(Bessas et al,2007).



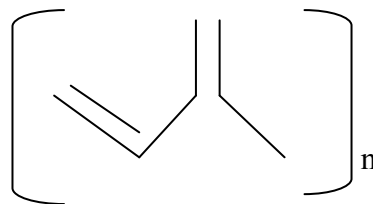
Caféine



Quinine

Figure 10 : Structure de quelques alcaloïdes. (Kansole, 2009).

Isoprène = terpène



n			
1	C5	Hémiterpène	Isoprène
2	C10	Monoterpène	Nérol,myrcène
3	C15	Sesquiterpène	La chaine de la chlorophylle , vitamine E
4	C20	Diterpènes	Huiles essentielles
6	C30	Triterpène	Phytostéroïls
8	C40	tetraterpènes	Caroténoïdes
>8	>40	Polyterpène	Protéïnes , cytoquinine

Figure 11 : Quelques exemples de différents types de terpenoïdes (Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998).

Annexe II :

Verreries et autres matériels :

- ✓ Boit de pétrie.
- ✓ Bécher gradué.
- ✓ Eprouvettes graduées
- ✓ Entonnoirs.
- ✓ Erlenmeyers.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Fiole conique stérile.
- ✓ Pipetes gradués à 5ml et à 10ml stériles.
- ✓ Pipettes pasteur stériles.
- ✓ Spatules métalliques.
- ✓ Bec bunsen.
- ✓ Boite de pétri.
- ✓ Disque bactérienne stérile.
- ✓ Gant.
- ✓ Papier aluminium.
- ✓ Pissette.
- ✓ Pince.

Appareillage:

- ✓ Balance pour animaux de laboratoire (GIBERTINI).
- ✓ Cages en makrolon avec grilles en inox et des biberons spéciaux pour les souris.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Etuve et autoclave pour stérilisation.
- ✓ Incubateurs à 37° C.
- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Centrifugeuse.
- ✓ Reflux.
- ✓ Haute.
- ✓ pied à coulisse manuel.

➤ Réactifs et solutions

- ✓ Eau distillée
- ✓ Méthanol
- ✓ Iode (I₂).
- ✓ Ethanol absolu
- ✓ Acide sulfurique concentré (96%) (H₂SO₄).
- ✓ Acide phosphomolybdique.
- ✓ Alcool éthylique.
- ✓ la solution alcoolique de KOH à 10%.
- ✓ HCL concentré à 37%.
- ✓ Hydroxyle d'ammoniac concentré à 30%.
- ✓ Acétate de plomb.
- ✓ solution de FeCl₃ à 1%.
- ✓ Réactif de valser Mayer.
- ✓ solution DPPH.
- ✓ AlCl₃.

Annexe III :

Tableau n°3: Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram- (Krieg *et al.*, 1984 et Holt *et al.*, 1994).

Bactéries Gram-	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>S.sonnei</i>	<i>S.enteridis.</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Caractères cultureux Sur gélose nutritive	Colonies ; bombées, moyennes, lisses et transparentes, 2 à 3 mm de diamètre	Colonies, rondes muqueuses, bombées, , lisses et transparentes, 3 à 4mm de diamètre	Colonies rondes légèrement irisées ou plates, bombées et muqueuses	Colonies lisses, à bords réguliers, 3 à 4 mm de long et 0.6 um de large	Colonies assez grandes plus au moins opaques, de 1.5 à 3 mm de diamètre	Colonies moyennes, légèrement bombées opaques, brillantes et pigmentées en vert de 1.5 à 3 um de long et de 0.5 à 0.8 um de large
Examen microscopique	- Cocobacilles droits isolés ou en amas - Gram-	- Gros bacilles, droits entourées d'une capsule - Gram-	- Bacilles - Gram-	- Petites bacilles - Gram-	- Bacilles - Gram-	- Bacilles droits - Gram-
Respiration	- Aerobie-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie Facultatif	- Aérobie-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie facultatif	-Aérobie-anaérobie facultatif	- Aérobie strict
Oxydase	-	-	-	-	-	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
ONPG	+	+	+	+	-	-
ADH	-	-	+	+	+	+
LDC	+	+	-	-	+	-
ODC	+	-	+	+	+	-
Indole	+	-	-	-	-	-
Citrate	-	+	+	-	+	+
Urée	-	+	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-	+	-
TDA	-	-	-	-	-	-
VP	-	+	+	-	-	-
Nitrates	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	-	+	-
Saccharose	+	+	+	-	-	-

Lactose		+	+	+	-	-	-
MEVAG	Aérobie	+	+	+	+	+	+
	Anaérobie	+	+	+	+	+	-
Mannitol		+	+	+	+	-	+
Mobilité		+	-	+	-	+	+
Gaz		+	+	+	-	+	-
King A et King B							+
Croissance à -4°C							-
Croissance à 41°C							+

Tableau n°4 : Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram+

(Krieg *et al.*,1984 et Holt *et al* ; 1994).

Bactéries Gram+	<i>B.cereus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.faecium</i>
Caractères cultureux sur gélose nutritive	Colonies rondes à contour irrégulier plat opaque, surface rugueuse et de couleur blanc jaunâtre de 3 à 5um de long sur 1 à 1.2 um de large	Colonies rondes à contour irrégulier plat opaque,	Colonies opaques arrondies bombées brillantes et à teinte blanche en jaune doré de 1 à 2 um de diamètre	Colonies petites lisses et opaques
Caractérisation de la spore	Elliptique, centrale et non déformante	Ovale centrale et non déformant		
Examen microscopique	- Bâtonnet droit (gros bacilles isolés ou en groupes sous forme de chaînettes) - Gram+	- Bâtonnet droit (gros bacilles isolés ou en groupes sous forme de chaînettes) - Gram+	- Coccis regroupés en diplocoques ou en amas (grappes de raisins) - Gram+	- Coccis libres en paires ou en chaînettes - Gram+
Respiration	- Aerobie-anaérobie facultatif	- Aérobie strict	- Aéro-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie Facultatif
Oxydase	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	-
ONPG	-	NF	NF	NF
ADH	+	NF	NF	NF
LDC	-	NF	NF	NF
ODC	-	NF	NF	NF
Indole	-	-	-	NF
Citrate	-	-	NF	NF
Urée	-	-	+	NF
H2S	-	NF	NF	NF
TDA	NF	NF	NF	NF
VP	+	+	NF	NF
Nitrates	+	+	NF	NF
Glucose	+	+	+	NF
Saccharose	+		+	+
Lactose	NF	NF	+	NF
coagulase	NF	NF	+	+
Aérobie	+	+	+	+

MEVAG	Anaérobie	+	-	+	+
Mannitol		-	+	+	NF
Mobilité		+	+	-	NF
Xylose		-	+	-	NF
Hydrolysed'amidon		+	+		NF
Lécitinase		-	+		NF
Gélatinase		+	+		NF
Hémolyse sur gélose nutritive		NF	NF	Bêta	Bêta

Annexe IV :

Préparation d'acide phospho-molybdique :

On a : 05g d'acide phospho-molybdique dans 100 ml d'eau distillée

X g d'acide phospho-molybdique dans 05 ml d'eau distillée

Alors : $x = 0,25 \text{ g} / 5 \text{ ml}$.

Préparation des réactifs pour les alcaloïdes :

Réactif de VALSER-MAYER :

- Chlorure mercurique..... 1,35 g
- Iodure de potassium05 g
- Eau distillée 100 ml

Réactif de DRAGENDORFF :

- Nitrate basique de Bismuth.....0,85g
- Iodure de potassium.....08g
- Acide acétique glacial10 ml
- Eau distillée70 ml

Réactif de BOUCHARDAT :

- Iode.....02g
- Iodure de potassium.....02g
- Eau distillée100 ml

Préparation des réactifs de l'anti-oxydant :

- **Pour la méthode de DPPH :**
 - Préparation de la solution DPPH : 2,5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.
 - Blank : 0,075 ml d'eau distillée + 2,925 ml de méthanol .
 - Solution contrôle (SC) : 0,075 ml d'eau distillée + 2,925 ml de DPPH .
 - Echantillons témoins (plante G et K) : 0,075 ml d'extrait aqueux de 10% de chaque plante + 2,925 ml de DPPH .

- **Préparation des dilutions :**

Pour 01% : 01 ml de l'infusé (extrait aqueux) complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,50% : 0,5 ml de l'infusé (extrait aqueux) complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,25% : 0,25 ml de l'infusé (extrait aqueux) complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,10% : 0,10 ml de l'infusé (extrait aqueux) complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,08% : 0,8 ml de la dilution 01% complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,06% : 0,6 ml de la dilution 01% complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,02% : 0,2 ml de la dilution 01% complété à 10ml d'eau distillée .

Pour 0,01% : 0,1 ml de la dilution 01% complété à 10ml d'eau distillée .

- **Expérience :**

- Prendre 0,075 ml de chaque dilution dans un tube à essai .
- Ajouter 2,925 ml de DPPH dans chaque tube à essai .
- Mettre les tubes à l'ombre pendant 30 mn .

Préparation du blank : 0,075 ml d'eau distillée + 2,925ml du méthanol mettre à l'ombre pendant 30mn .

Préparation de la solution contrôle : 0,075 ml d'eau distillée + 2,925ml de DPPH mettre à l'ombre pendant 30mn .

Lire l'absorbance au biais du spectrophotomètre mesuré à 430nm

Les milieux de culture de l'activité antibactérien :

- **Composition du milieu Mueller-Hinton :**
 - Extrait de viande de bœuf2.0g
 - Peptone de caséine17.5g
 - Amidon de maïs1.5g
 - Agar17.0g
 - pH7.4

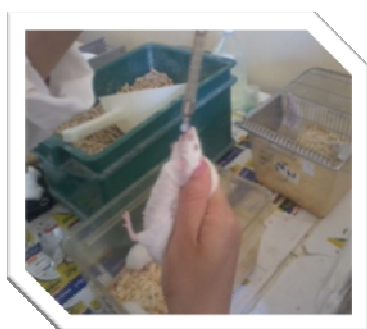
Annexe V :



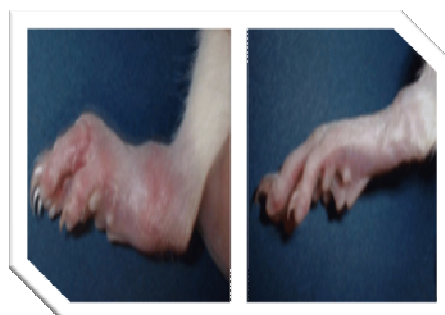
pied à coulisse manuel (originale 2013)



Balance pour les petits animaux (originale 2013)



Gavage des souris (originale 2013)



la patte avant et après injection(originale 2013)



Filtration de l'infusé de (originale 2013)



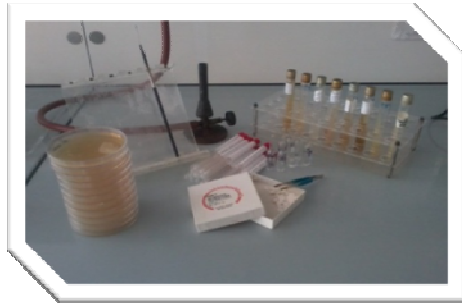
Centrifugeuse (originale 2013)



Balance analytique (originale 2013)



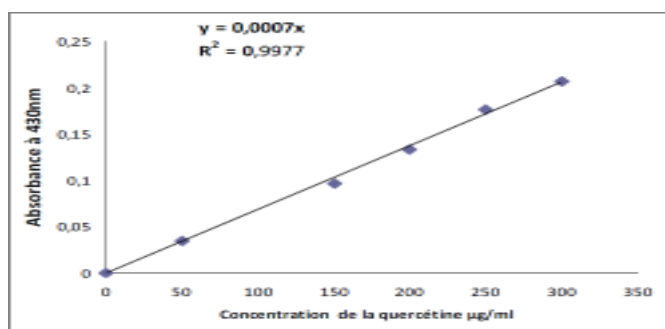
Un agitateur magnétique (originale 2013).



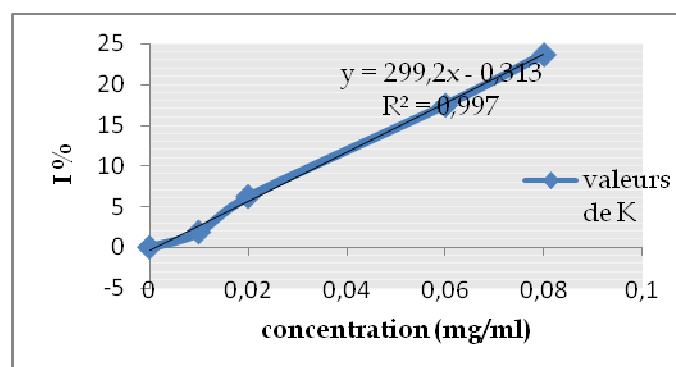
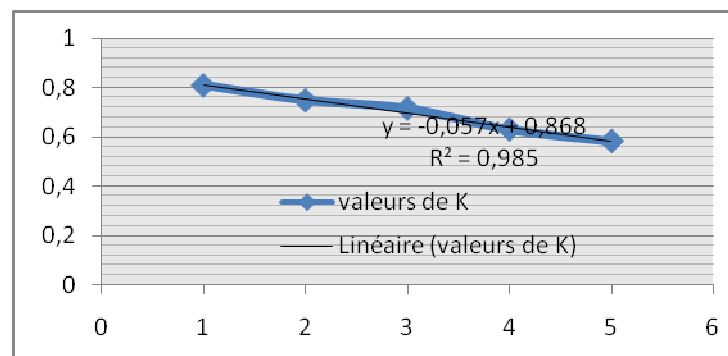
Matériel utilisé en microbiologie (originale 2013) .

Annexe VI :

- Dosage des flavonoides :



La courbe d'étalonnage de la quercétine



Annexe VII :

- **Activité anti inflammatoire :**

Tableau n°09 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème des pattes des souris en fonction du temps

	30 mn	60 mn	90 mn	120 mn	150 mn	180 mn	210 mn
EP	00	00	00	00	00	00	00
Diclo	42,88	100	100	100	100	100	100
C = 50mg/ml	00	66,66	83,35	100	100	100	100
C = 100 mg/ml	00	69,63	84,70	100	100	100	100
C = 200 mg/ml	00	77,77	100	100	100	100	100

Tableau n°10: résultats statistique de l'activité anti-inflammatoire.

Tukey HSD test; variable **x min** (Spreadsheet2.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = ,01444, df = 12,000

	00 mn	30 mn	60 mn	90 mn	120 mn	150 mn	180 mn	210 mn
T- vs T+	0,641970	0,002092	0,261984	0,037234	0,058484	0,902794	0,902794	0,902794
T- vs K 5%	0,999701	0,010404	0,006110	0,000795	0,000682	0,749141	0,749141	0,749141
T- vs 10%	1,000000	0,006859	0,041984	0,000795	0,000682	0,749141	0,749141	0,749141
T- vs 20%	0,721550	0,002092	0,015883	0,001261	0,001164	0,902794	0,902794	0,902794

Annexe VIII :

- **Effet spasmolytique :**

Pourcentage de protection = 100 . (moyenne de spasmes Témoins-Moyenne de spasmes d'essai / moyenne de spasmes témoins)

Tableau n ° 11 : les pourcentages de protection enregistrés chez les souris en fonction de différentes concentrations .

Concentration de l'extrait aqueux	Médicament	Plante K
Extrait aqueux 05 %	100 %	79,16 %
Extrait aqueux 10 %		81,25 %
Extrait aqueux 20 %		89,58 %

Introduction

Partie

Bibliographique

Matériels

Et

Méthode

Résultats

Et

Discussion

Conclusion

Références

Bibliographiques

Annexes