

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE : Sciences

DEPARTEMENT Chimie

N°: ....



DOMAINE : Sciences de Matière

FILIERE : CHIMIE

OPTION: CHIMIE PHARMACEUTIQUE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

***Du diplôme de Master Académique***

**Par : Bentoumi Turquia**

**Ammari Rima**

**Intitulé**

**Contribution à l'étude phytochimique et biologique de la  
plante *Artemisia Campestris* de la région de Ouiltem de  
Boussaâda**

**Soutenu devant le jury de :**

Dr. Bennabila Nabila	Université de M'sila	Présidente
Dr. Hadroug Aldjia	Université de M'sila	Rapporteur
Dr. Laib Nouri	Université de M'sila	Examineur

**Année universitaire : 2018 /2019**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## إهداء

أهدي ثمرة نجاحي هذا .....

إلى من اشترت راحتي و سعادتي بتعبها و شقتها إلى أمي ثم أمي ثم أمي

حفظها الله ورعاها وأطال في عمرها

إلى من كان لي بمثابة الشمعة التي تحترق لتتير دربي إلى نعم المثل و نعم القدوة أبي

حفظه الله

لكما يا أغلى ما أملك في الحياة

إلى جدتي الراحلتين إلى دار الآخرة تركية و أم الخير جعلهما الله من أهل الفردوس الأعلى

إلى الذين يدخلون القلب إلى أخواتي و أخي الصغير محمد

إلى أعز صديقتاتي مروة جهيدة مليكة سمية سارة مروة فطيمة هدى وريمه

إلى كل الأهل و الأقارب كبيرا وصغيرا

إلى معلمي حيدش أمبارك حفظه الله ورعاها

إلى الأحباب الذين جمعنتي بهم أيام الدراسة بجامعة المسيلة من دون استثناء

إلى قارئ هذا الإهداء

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة عملي هذا

تركية

## إهداء

الحمد لله الذي أعاننا و زيننا بالحلم وأكرمنا بالتقوى وأجملنا بالعافية

أتقدم بإهداء عملي المتواضع إلى :

من كلله الله بالهيبة والوقار الى من احمل اسمه بكل افتخار أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى  
ثمارا قد حان قطافها بعد طول إنتظار... والدي العزيز أطل الله عمرك

الى سعادتي التي لم تكتمل بعدم وجوك الى المصباح الذي لطالما أثار دربي في الوجود...أمي  
أمي أمي رحمك الله وأدخلك جنة الفردوس

الى زوجة والدي الغالية على قلبي

إلى من كان دعمه لي سر نجاحي ورمز العطاء إلى من بوجوده اكتسب قوة ومحبة أريد شكرك  
على مواقفك النبيلة... زوجي حبيبي حسام

إلأهل زوجي الذين شجعوني وكانوا سنداً لي

إلى الجدة العزيزة أطل الله عمرها مسعودة

إلى الشموع المتقدة التي تنير حياتي... لإخوتي جمال خليصة عبد الرحمان حليمة الحواس

إلى توأما روحي ورفيقتا دربي صاحبتا القلب الطيب والنوايا الصادقة أمينة و وفاء وسميحة

إلى الغالية خالتي شوشو وإلى العممتين الغاليتين نعيمة ونوارة

إلى رمز الصداقة وحسن العلاقة زميلاتي و صديقاتي

وشكر خاص إلأروع صديقة كانت سنداً لي تركية

ريمة



## **Remerciements**

*Avant toute chose, nous avons remercié Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*Mon travail de master a été réalisé au sein de laboratoire de Chimie à l'Université Mohamed Boudiaf - M'sila et Ferhat Abbas-Setif*

*Nous remercier vivement tous les personnels de laboratoire,*

*Nous voudrions exprimer nous gratitude et nos sincères remerciements à notre directrice de recherche :*

***Mme. HadrougAldji*** pour leur accepté d'encadrer et diriger le présent

*Travail et pour leur encouragement et soutenu*

*Ce travail n'aurait pas pu aboutir à des résultats sans l'aide et les encouragements de plusieurs personnes que je remercie.*

*Nous voulons aussi à remercier les professeurs Benagouta.N et Belhaddad. O pour leurs aide et ses bons conseils.*

*Merci à tous les membres du jury pour avoir évalué notre travail et nous avoir offert cette belle journée qu'a été celle de notre soutenance de travail, quel beau souvenir*

*À tous les personnes qui ont impacter de près ou de loin dans la réalisation ce travail.*

*Enfin, nous remercier tous les enseignants de département de chimie.*

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait éthanolique de la plante médicinale Algérienne *Artemisia Campestris* récoltée de la région ouiltem de Boussaâda, en utilisant le radical libre DPPH.

Le screening phytochimique nous a révélé la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et coumarines dans l'extrait; tandis que les saponines et les anthraquinones sont absents dans l'extrait préparé. Les résultats du dosage montrent que l'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris* est plus riche en composés polyphénoliques ( $132,64 \pm 0,004 \mu\text{g EAG/mg}$ ), en flavonoïdes ( $18,87 \pm 0,47 \mu\text{g EQ/mg}$ ), en tanins ( $49,87 \pm 0,24 \mu\text{g EC/mg}$ ), en flavones et flavonols ( $26,02 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$ ).

L'activité anti-oxydante a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique possède une activité anti-oxydante remarquable par rapport au BHA un antioxydant synthétique.

**Mots clés :** Asteraceae, *Artemisia campestris*, extrait éthanolique, polyphénols, activité antioxydante.

## ملخص

الهدف من عملنا هذا هو الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي لنبته التقتت المزروعة بمنطقة ولتام ببوسعادة، باستخدامالجزر الحر DPPH.

التحليل الفيتوكيميائي أثبت وجود مركبات الفلافونويدات، الفلويدات، العفصياتوالكومارينات في المستخلص. بينما الصابونينات والأنثراكينونات غائبة في المستخلص المحضر. أظهرت نتائج المعايرة أن المستخلص الإيثانولي لنبته التقتتأغنى بالبوليفينول ( $0.004 \pm 132.64$  ميكروغرامتكافئ حمض الغاليكي/ ملغ) ، الفلافونويدات ( $0.47 \pm 18.87$  ميكروغرام تكافئ كورستين/ ملغ)، العفصيات ( $0.24 \pm 49.87$  ميكروغرامتكافئكاثيشين /ملغ) و في الفلافون والفلافونول ( $0.007 \pm 26.02$  ميكروغرام كورستين/ ملغ).

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق الجزر الحر DPPH. أظهرت النتائج أن المستخلص الايثانولي له نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ مقارنةً بمضاد الأكسدة الاصطناعية BHA.

**الكلمات المفتاحية:** Asteraceae, *Artemisia campestris*، المستخلص الإيثانولي ، البوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة.

## Summary

The objective of this work is the phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of ethanolic extract of the Algerian medicinal plant *Artemisia Campestris* harvested from the ouiltem region of Boussaâda, using the free radical DPPH.

Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and coumarins in the extract; while saponins and anthraquinones are absent in the prepared extract. The assay results show that the ethanolic extract of *Artemisia campestris* is richer compared to other polyphenolics extracts ( $132.64 \pm 0.004$   $\mu\text{g EAG} / \text{mg}$ ), flavonoids ( $18.87 \pm 0.47$   $\mu\text{g EQ} / \text{mg}$ ), in tannins ( $49.87 \pm 0.24$   $\mu\text{g EC} / \text{mg}$ ), in flavones and flavonols ( $26.02 \pm 0.007$   $\mu\text{g EQ} / \text{mg}$ ).

The antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical reduction method. The results showed that the ethanolic extract has a remarkable antioxidant activity compared to BHA a synthetic antioxidant.

**Key words:** Asteraceae, *Artemisia campestris*, ethanolic extract, polyphenols, antioxidant activity.

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>Figure I.1</b>	Photo d' <i>Artemisia campestris</i>	05
<b>Figure I.2</b>	Structure chimique générale des flavonoïdes	08
<b>Figure I.3</b>	Structure chimique des tanins	10
<b>Figure I.4</b>	Structure générale de tanins hydrolysables	11
<b>Figure I.5</b>	Structure générale de tanins condensés	11
<b>Figure I.6</b>	Structure chimique des coumarines	12
<b>Figure I.7</b>	Structure de ramification des coumarines simple	12
<b>Figure I.8</b>	Structure de ramification des coumarines complexes (6, 7 furocoumarines linière)	13
<b>Figure I.9</b>	Structure de ramification des coumarines complexes (7, 8 furocoumarines angulaire)	14
<b>Figure I.10</b>	Structure chimique des anthraquinones	15
<b>Figure I.11</b>	Structure chimique des saponines	16
<b>Figure I.12</b>	Les principaux squelettes stéroïdiques	16
<b>Figure I.13</b>	Les principaux squelettes triterpéniques	17
<b>Figure I.14</b>	Structure chimique de quelques alcaloïdes	18
<b>Figure II.1</b>	photo de la plante <i>Artemisia campestris</i>	23
<b>Figure II.2</b>	Schéma d'extraction des feuilles d' <i>Artemisia campestris</i>	24
<b>Figure II.3</b>	Montage d'hydrodistillation	25
<b>Figure III.1</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
<b>Figure III.2</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	39
<b>Figure III.3</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	38
<b>Figure III.4</b>	Courbe d'étalonnage de catéchine	41
<b>Figure III.5</b>	Activité antioxydante d'extrait d' <i>Artemisia campestris</i>	42
<b>Figure III.6</b>	Activité antioxydant du standard BHA	42

## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I.1</b>	Les noms de plante <i>Artemisia campestris</i>	04
<b>Tableau I.2</b>	Classification systématique d' <i>Artemisia campestris</i>	05
<b>Tableau I.3</b>	Différentes classes de métabolites secondaires	06
<b>Tableau I.4</b>	Les classes principales des flavonoïdes	09
<b>Tableau I.5</b>	Les classes principales des génines	13
<b>Tableau I.6</b>	Les classes principales des hétérosides	13
<b>Tableau I.7</b>	Les classes principales de 6,7 furocoumarine linéaire	14
<b>Tableau I.8</b>	Les classes principales de 7,8 furocoumarine angulaire	14
<b>Tableau II.1</b>	Protocole de dosage des polyphénols totaux	28
<b>Tableau II.2</b>	Protocole de dosage des flavonoïdes	29
<b>Tableau II.3</b>	Protocole de dosage des flavones et flavonols	31
<b>Tableau II.4</b>	Protocole de dosage des tanins	32
<b>Tableau III.1</b>	Criblage phytochimique d' <i>Artemisia campestris</i>	36
<b>Tableau III.2</b>	Résultats des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait d' <i>Artemisia campestris</i>	37

## Liste des abréviations

<b>Abs</b>	Absorbance
<b>BHA</b>	Butylated hydroxyanisole
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>DPPH</b>	2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl
<b>DO</b>	Densité optique
<b>H</b>	Heure
<b>HE</b>	Huiles essentielles
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration d'inhibition à 50%
<b>Mg</b>	Magnésium
<b>Min</b>	Minutes
<b>MV</b>	Poids en gramme de la poudre végétale utilisée
<b>Nm</b>	Nanomètre
<b>R</b>	Rendement par rapport au poids de la matière végétale utilisée
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>UV–Vis</b>	Ultra-violet–visible
<b>µgEAG/ mgPs</b>	Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait.
<b>µg EQ/mg Ps</b>	Microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait
<b>µgEC/mg Ps</b>	Microgramme d'équivalent de la catéchine par milligramme de poids sec de l'extrait

# Sommaire

Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	01
<b>Chapitre I : Etude bibliographique</b>	
I.1 La plante <i>Artemisia campestris</i> .....	04
I.1.1 Généralités.....	04
I.1.2 Les noms de plante <i>Artemisia campestris</i> .....	04
I.1.3 Présentation de l'espèce <i>Artemisia campestris</i> .....	04
I.1.4 Systématique de la plante.....	05
I.1.5 Composition chimique.....	06
I.1.6 L'utilisation traditionnelle.....	06
I.1.7 Activités biologiques.....	06
I.1.7.1 Activité antioxydante.....	07
I.1.7.2 Activité antibactérienne.....	07
I.2 Les métabolites secondaires.....	08
I.2.1 Définition.....	08
I.2.2 les flavonoïdes.....	08
I.2.2.1 Définition.....	08
I.2.2.2 Classifications des flavonoïdes.....	09
I.2.2.3 Les propriétés biologiques des flavonoïdes.....	10
I.2.3 Les Tannins.....	10
I.2.3.1 Définition.....	10
I.2.3.2 Classification des Tannins.....	10
I.2.3.3 Propriétés pharmacologiques des tannins.....	11
I.2.4 Les coumarines.....	12
I.2.4.1 Définition.....	12
I.2.4.2 Classification des Coumarine.....	12
I.2.4.3 Propriétés pharmacologiques des coumarines.....	14
I.2.5 Les Anthraquinones.....	15
I.2.5.1 Définition.....	15
I.2.5.2 Activités biologiques et pharmacologiques.....	15

I.2.6 Saponine.....	15
I.2.6.1 Définition.....	15
I.2.6.2 Classification de saponine.....	16
I.2.6.3 Activité biologiques des saponines.....	17
I.2.7 Les alcaloïdes.....	17
I.2.7.1 Définition.....	17
I.2.7.2 Classification selon la structure chimique.....	18
I.2.7.3 Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes.....	18
I.2.8 Huile essentielle .....	19
I.2.8.1 Définition.....	19
I.2.8.2 Les parties ou se trouve l'huile essentielle dans la matière Végétal.....	19
I.2.8.3 Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	20
I.2.8.4 Toxicité des huiles essentielles.....	20
I.2.8.5 Activité biologique.....	21

## **Chapitre II : Etude phytochimique et biologique**

II.1 Matériels et produits .....	23
II.1.1 Matériels .....	23
II.1.2 Produits .....	23
II.2 Récolte de la matière végétale .....	23
II.3 Méthodes d'analyse.....	24
II.3.1 Extraction.....	24
II.3.2 Extraction des huiles essentielle.....	25
II.4 Etude phytochimique .....	25
II.4.1 Détermination des rendements des huiles essent.....	25
II.4.2 Analyses qualitatives .....	26
II.4.3 Analyses quantitative.....	27
II.4.3.1 Dosage des polyphénols totaux .....	27
II.4.3.2 Dosage des flavonoïdes.....	28
II.4.3.3 Dosage des flavones et flavonols.....	30
II.4.3.4 Dosage des tanins .....	31
II.5 Activité antioxydante.....	32

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1 Le rendement.....	36
III.2 Analyse chimique.....	36
III.2.1 Analyse qualitative.....	36
III.2.1.1 Les résultats du screening photochimique.....	36
III.2.2 Analyse quantitative.....	37
III.2.2.1 Dosage des polyphénols tota.....	37
III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	39
III.2.2.3 Dosage des flavones et flavonols.....	40
III.2.2.4 Dosage des tanins.....	40
III.3 Activité antioxydante.....	41
<b>Conclusion.....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>47</b>



# **Introduction**

### Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents parties et parfois dans des cellules spécialisées de la plante, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne [1].

Pour se soigner contre plusieurs maladies, la majorité des populations à travers le monde ont recours à des plantes médicinales, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité et elles constituent des remèdes naturels bien acceptés par l'organisme humain. D'ailleurs, les plantes médicinales classées patrimoine universelle sont considérées comme une richesse pour les pays en voie de développement.

Les plantes médicinales utilisées dans la médecine populaire ne sont pas des recettes magiques dotées d'une action unique, leur efficacité est due à la présence des produits chimiques appelés les métabolites secondaires, qui ont une influence sur les différents systèmes du corps. L'industrie pharmaceutique elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques intéressantes [1].

La flore algérienne avec plus de 3000 espèces est à ce jour peu explorée [2]. Plusieurs plantes sahariennes fréquemment utilisées dans les pharmacopées traditionnelles, se sont vues reconnaître des effets thérapeutiques au cours des siècles. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques et biologiques ayant abouti à l'isolement et à l'identification de principes actifs.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'investigation chimique et l'évaluation de l'activité anti-oxydante de la plante *Artemisia campestris* plante saharienne connue en Algérie sous le nom de Dgouft, appartenant à la famille des Astéracées. Cette famille est bien connue pour sa richesse en flavonoïdes. Notre contribution consiste particulièrement à l'investigation chimique de l'extrait éthanolique et l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Notre travail sera présenté comme suit :

- Dans le premier chapitre de ce mémoire, nous présenterons :

- Une étude bibliographique sur les connaissances botaniques et phytochimiques de la famille Asteraceae et sur le genre *Artemisia* ;
  - L'utilisation en médecine traditionnelle des plantes du genre *Artemisia*.
  - Les travaux antérieurs effectués sur des plantes de la famille Asteraceae en général et du genre *Artemisia* en particulier ;
  - Un aperçu général sur les métabolites secondaires ;
    - Le deuxième chapitre sera sur les résultats obtenus avec une interprétation et discussion.
    - Le troisième chapitre concerne la présentation des différentes techniques.
- Ce travail s'achève par une conclusion et perspective d'investigation.

# **Chapitre I**

## **Etude bibliographique**

## I.1 La plante *Artemisia campestris*

### I.1.1 Généralité

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 [3]. Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes [4].

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 [5].

### I.1.2 Les noms de plante *Artemisia campestris*

**Tableau I.1** : Les noms de plante *Artemisia campestris*

<b>Nom vernaculaires</b>	Taguq, tguft, degoufet, tadjuq, tedjok, alala, hellala [6, 7, 8]
<b>Noms français</b>	Armoise champêtre, Armoise des champs, Armoise rouge [9]
<b>Noms anglais</b>	Field Sagenort, Field Sagewort, Field Wormwood [9]
<b>Nom arabe</b>	تقوت

### I.1.3 Présentation de l'espèce *Artemisia campestris* [10]

- Capitules très petits, limités (1 à 1,5mm), ovales, à involucre scarieux, ne contenant que 3 à 8 fleurs ; feuilles à division longues, étroites et séparées.
- Feuilles lisses, d'un vert foncé ; rameaux rougeâtres ; capitules coniques.



**Figure I.1:** Photo d'*Artemisiacampestris*.

#### I.1.4 Systématique de la plante [11]

La plante *Artemisia campestris* est classée dans le tableau suivant :

**Tableau I.2 :** Classification systématique d'*Artemisia campestris*.

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliophyta
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous tribu	Artemisiinae
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisiacampestris L.

### I.1.5 Composition chimique

Ont été mis en évidence dans la partie aérienne d'*Artemisa campestris*. Ces métabolites secondaires sont consignés dans le tableau I.2.

**Tableau I.3 :** Différentes classes de métabolites secondaires.

Métabolites secondaires	Molécule identifiée	Référence
Polyphénols	Flavonoïdes (flavones, flavanones) Polyphénols Tanins	Ghissi et al 2016 [11].
Huiles essentielles	Monoterpènes, sesquiterpènes	
Coumarines	Hydroxycoumarines, esculetin	Masotti. V et al. 2012[12].
Alcaloïdes	ND	
Saponines		

### I.1.6 L'utilisation traditionnelle

*Artemisa campestris* est largement utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés bactéricides, antifongiques, antiinflammatoires, antihelminthiques, antivenins et analgésiques [11].

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpent, les piqures de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est également utilisée pour traiter les infections urinaires, la fièvre la toux et les problèmes menstruels [13].

Les fleurs d'*Artemisia campestris* ont été utilisées comme agent hypoglycémique, dépurative, antilithiasique, ainsi que pour le traitement de l'obésité et pour diminuer le taux de cholestérol [14].

### I.1.7 Activités biologiques

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

### **I.1.7.1 Activité antioxydante**

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* et les extraits éthanol-eau, hexane et eau d'*Artemisia campestris* récoltés dans le sud de la Tunisie ont été étudiés pour leur activité antioxydant par l'utilisation de différentes méthodes (DPPH, ABTS et bêta-carotène) ils ont trouvé qu'il possède une activité antioxydant [15].

### **I.1.7.2 Activité antibactérienne**

*Artemisia campestris* est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaire. Ils ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris* et ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*) [16].

## I.2 Les métabolites secondaires

### I.2.1 Définition

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique [17].

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité [18].

### I.2.2 les flavonoïdes

#### I.2.2.1 Définition

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [19]. Ils ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne de trois carbones en formant ainsi l'hétérocycle (C) [20].

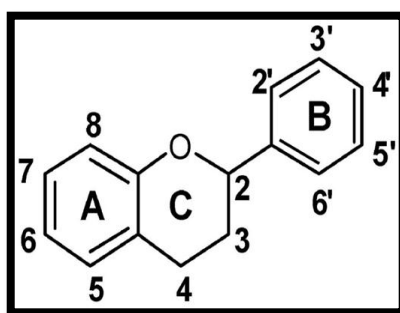


Figure I.2 : Structure chimique générale des flavonoïdes.

I.2.2.2 Classifications des flavonoïdes

Les flavonoïdes prédominants sont le plus souvent divisés en six sous-classes [21].

Tableau I.4 : Les classes principales des flavonoïdes.

Classe	Structure	Substitution						Exemple
		5	6	7	3	4'	5'	
Flavones								Apigénine
		OH		OH		OH		
Flavones								Lutéoline
		OH		OH	OH	OH		
Flavanols								Catéchine
		OH		OH	OH	OH		
Anthocyanes								Cyanidine
		OH	OH	OH	OH	OH		
Anthocyanes								Delphinidine
		OH	OH	OH	OH	OH	OH	
Flavonols								Myricétine
		OH		OH	OH	OH	OH	
Flavonols								Kamphérole
		OH		OH		OH		
Flavanones								Hespéridine
		OH		OH	OH	OMe		
Flavanones								Eriodictyol
		OH		OH	OH	OH		
Isoflavones								Diadzeine
		OH		OH		OH		
Isoflavones								Génisteine
		OH		OH		OH		

### I.2.2.3 Les propriétés biologiques des flavonoïdes

De nos jours les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités antioxydants, antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses [23].

## I.2.3 Les Tannins

### I.2.3.1 Définition

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire. Ces composés sont naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines [24]. En général, ils sont divisés en deux groupes les tanins hydrolysables et les tanins condensés [25].

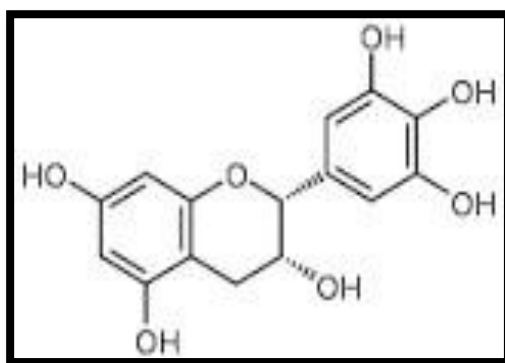


Figure I.3: Structure chimique des tanins

### I.2.3.2 Classification des Tannins

#### a. Les Tannins hydrolysables

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifié par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique [26].

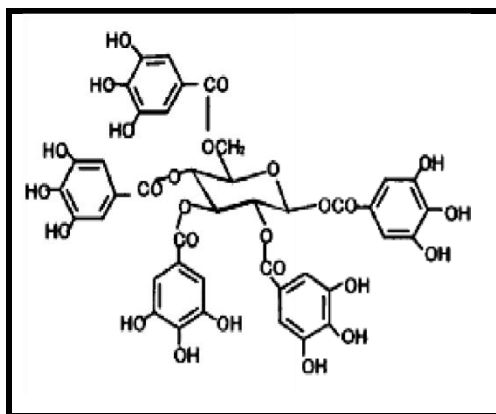


Figure I.4: Structure générale de tanins hydrolysables.

### b. Les Tannins condensés

Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leuco anthocyanidines). Ils sont aussi désignés sous le nom de «tannins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides [27].

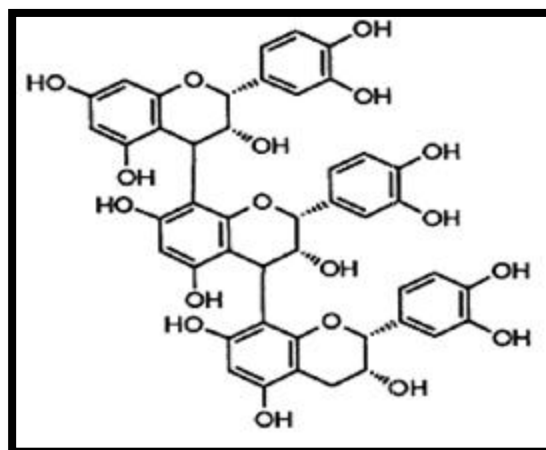


Figure I.5 : Structure générale des tanins condensés.

### I.2.3.3 Propriétés pharmacologiques des tannins

Les décoctions et les autres préparations à base de drogues riches en tannins sont employées le plus souvent extérieurement contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive [28]. En usage interne, elles sont utiles en cas de catarrhe intestinal, de diarrhée, d'affections de la vésicule, ainsi que comme l'antidote (contrepoison) lors d'empoisonnement par les alcaloïdes végétaux [29].

## I.2.4 Les coumarines

### I.2.4.1 Définition

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, substances naturelles aromatiques, la coumarine est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé[30].

Les coumarines sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub>, mais ils possèdent un atome d'oxygène hétérocycle dans le cadre de l'unité C<sub>3</sub>, généralement hydroxylée en position 7, en 6 et en 6, 7, 8[31].

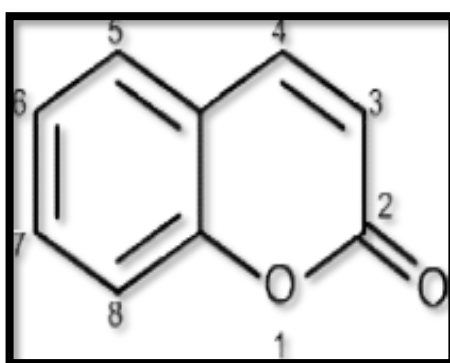


Figure I.6 : Structure chimique des coumarines.

### I.2.4.2 Classification des Coumarine[32, 33]

#### a. Coumarines simples

Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH<sub>3</sub>) en 6 et 7.

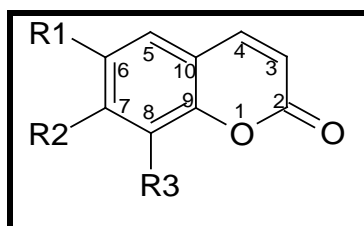


Figure I.7 : Structure de ramification des coumarines simples.

**Exemple****Tableau I.5 :** Les classes principales des génines.**Les génines**

	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
Herniarine	H	OCH <sub>3</sub>	H
Frax�tol	OCH <sub>3</sub>	OH	OH

**Tableau I.6 :** Les classes principales des hétérosides.**Les hétérosides**

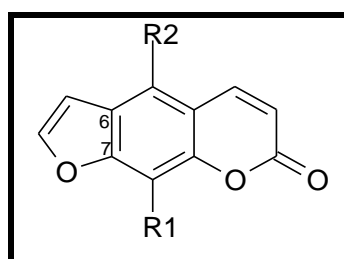
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
Esculoside (=Esculine)	O-Glu	OH	H
Cichorioside (=Cichorine)	OH	O-Glu	H

**b. Coumarines complexes**

On distingue :

- les furocoumarines (ou furanocoumarines) :

✓ 6,7 furocoumarines (linéaire):

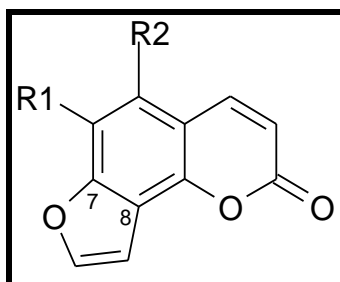


**Figure I.8 :** Structure de ramification des coumarines complexes (6,7 furocoumarines linéaire).

**Tableau I.7 :** Les classes principales des 6, 7 furocoumarines linéaire.

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
Psoralène	H	H
Bergaptène	H	OCH <sub>3</sub>

✓ 7,8 furocoumarines (angulaire):

**Figure I.9 :** Structure de ramification des coumarines complexe.

(7, 8 furocoumarines angulaire).

**Tableau I.8 :** Les classes principales des 7, 8 furocoumarines angulaire.

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
Angélicine	H	H
Pimpinelline	H	OCH <sub>3</sub>

### I.2.4.3 Propriétés pharmacologiques des coumarines

- Les coumarines se révèlent être des composés immunostimulantes provoquant l'augmentation des lymphocytes T dans la circulation sanguine [34].
- l'activité antibactérienne : les coumarines sont efficaces contre les bactéries à Gram positif [35].
- En 1957, O' Neal et son équipe ont montré l'efficacité des coumarines pour bloquer le cancer induit chimiquement par les radiations ultraviolettes. Ces molécules sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxydes [36].

## I.2.5 Les Anthraquinones

### I.2.5.1 Définition

L'antraquinone est une molécule dérivée de l'anthracène, elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. Il fait partie des quinones naturelles, c'est une substance oxygénée engendrée par l'oxydation des composés aromatiques [37].

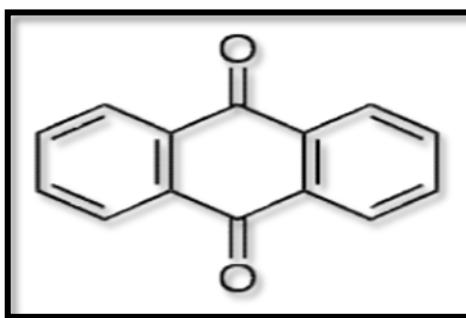


Figure I.10 : Structure chimique des anthraquinones.

### I.2.5.2 Activités biologiques et pharmacologiques

Chez les plantes, il a un effet répulsif à l'égard des oiseaux. Les plantes l'utilisent pour transporter les électrons dans les membranes de la mitochondrie interne de chaque partie de la plante. Ils entrent dans la fabrication de teinte et de pigment. En thérapeutique, il soigne les troubles de l'intestin grêle. Les dérivés naturels de l'antraquinone ont des effets laxatifs. Ils sont reconnus comme un pesticide naturel [38].

## I.2.6 Saponine

### I.2.6.1 Définition

Les saponines ou saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaires, produits naturels retrouvés abondamment dans le règne végétal [39].

Ce sont des substances tensio-actives, glycosides. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries

[40].Leurs noms proviennent du latin «soap» signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes stables dans des solutions aqueuses [41].

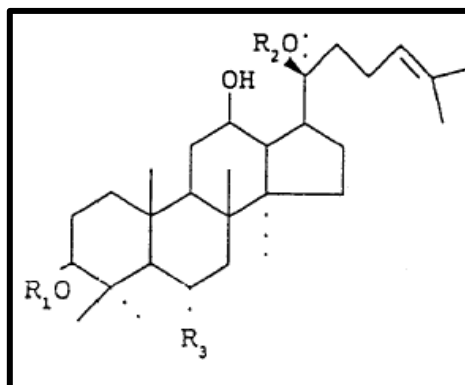


Figure I.11: Structure chimique des saponines.

### I.2.6.2 Classification de saponine

Les saponines se classent en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique.

#### ➤ Saponines à génines stéroïdiques

Les saponines stéroïdiens sont constituées d'un stéroïde aglycone, d'un squelette C27 [42].

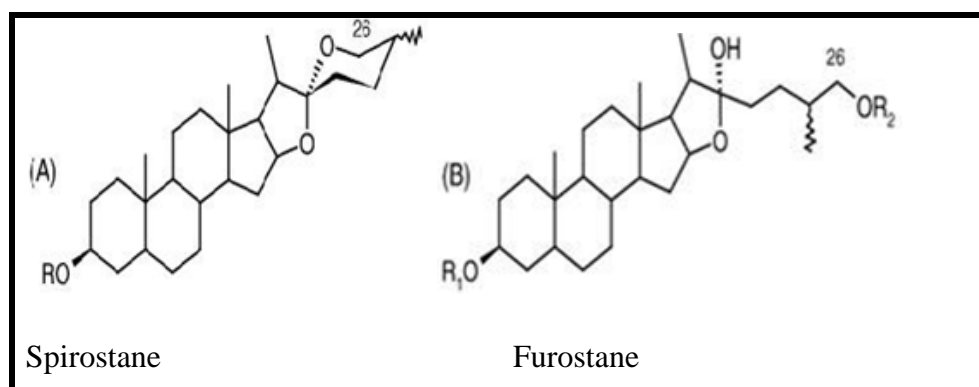
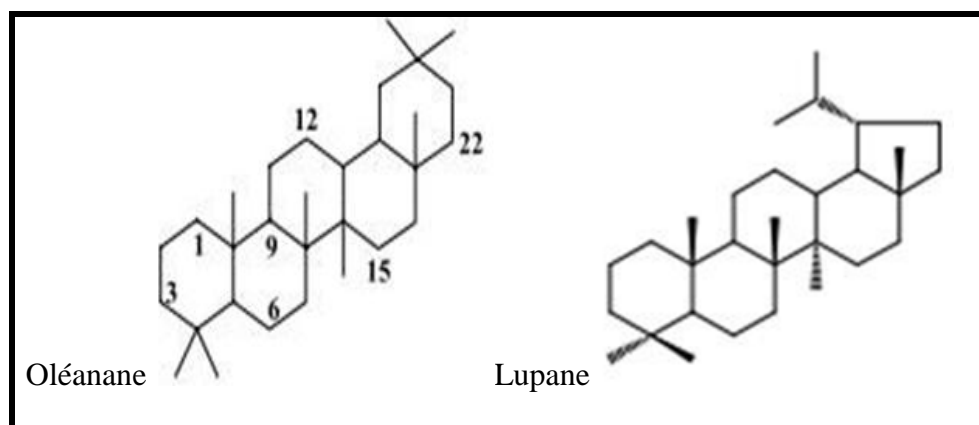


Figure I.12: Les principaux squelettes stéroïdiques.

#### ➤ Saponines à génines triterpènes

Les saponines triterpénoïdes consistent en un aglycone triterpénoïde, formé d'un squelette C30, de structure pentacyclique [43].



**Figure I.13 :** Les principaux squelettes triterpéniques.

### I.2.6.3 Activité biologiques des saponines

La présence de deux polaire (sucre) et non-polaires (stéroïde ou triterpène) fournir des groupes saponines ayant de fortes propriétés tensio-actives qui sont responsables de bon nombre de ses effets indésirables et effets biologiques bénéfiques[44].

Les saponines ont une propriété caractéristique : celle d'hémolyser les globules rouges, (érythrocytes), c'est-à-dire de libérer leur hémoglobine, ce qui explique l'effet toxique de certaines d'entre elles, qui les rend inconsommables. Les saponines irritent les muqueuses, causant un relâchement intestinal, augmentent les sécrétions muqueuses bronchiales (sont expectorantes). Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires [45].

## I.2.7 Les alcaloïdes

### I.2.7.1 Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, Azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées. Ils portent tous la terminaison « ine » [46]. La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que tryptophane, L'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés [47].

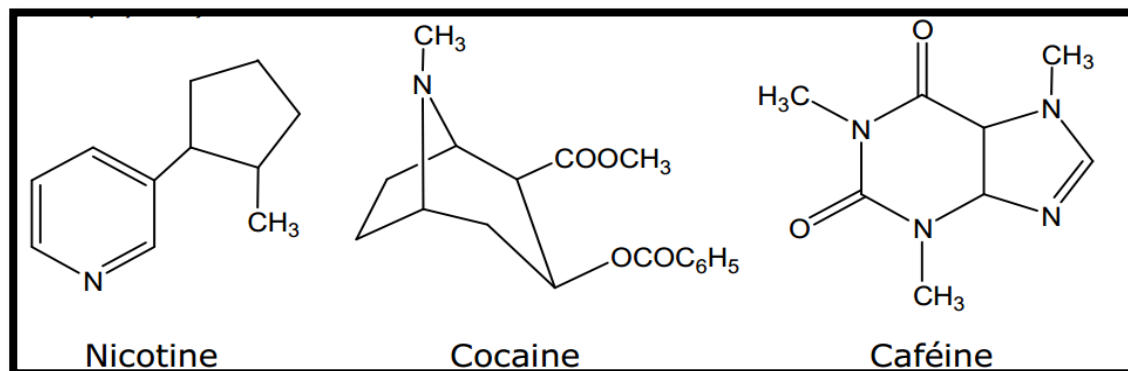


Figure I.14 : Structure chimique de quelques alcaloïdes.

### I.2.7.2 Classification selon la structure chimique

Selon leur structure chimique et surtout leur structure moléculaires, on peut diviser les alcaloïdes en plusieurs groupes [48] :

- **Des phénylalanines:** capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- **Des alcaloïdes isoquinoléiques:** morphine, ethylmorphine, codéine et papavérine contenus dans l'opium du pavot.
- **Des alcaloïdes quinoléiques:** tige feuillée de la rue commune.
- **Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques :** ricine du ricin, trigonelline du fenugrec.
- **Des alcaloïdes dérivés du tropane:** scopolamine et atropine de la belladone.
- **Des alcaloïdes stéroïdes :** racine de vératre, douce-amère ou acontie (aconitine).

### I.2.7.3 Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

Leurs propriétés sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques par exemple [49] :

- Action sur le système nerveux central comme antidépresseur :
  - Codéine.
  - Morphine.
- Action sur système nerveux autonome :
  - Hordéine.
  - Éphédrine.
- Action sur la circulation sanguine et améliore la circulation cérébrale :

- Vincamine.
- Action antitumorale :
  - Vinblastine.
- Action antibiotique, antiparasitaire, anthelminthique à des doses variées.

## I.2.8 Huile essentielle

### I.2.8.1 Définition

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation [50], par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent.

Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire [51]. Elles sont très utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire [52]. Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines. Plus de 2000 espèces de plante sont riches en huiles essentielles ; elles sont réparties sur 60 familles dont les principaux sont: Lauraceae, Labiatea, Umbelliferae, rutaceae, Compositae, Myrtaceae et les Pinaceae ..... [53]. Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues [54].

### I.2.8.2 Les parties où se trouve l'huile essentielle dans la matière végétale

Les huiles essentielles se trouvent dans des glandes minuscules situées dans les différentes parties de la plante aromatique [55].

- Dans les feuilles comme le basilic.
- Dans les fleurs comme la rose.
- Dans les fruits comme le citron.
- Dans les graines comme la coriandre.
- Dans l'écorce comme la cannelle.
- Dans les racines pour certaines plantes.

### I.2.8.3 Domaine d'utilisation des huiles essentielles

#### a. Pharmacie

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens, et anti fongique [56].

#### b. Cosmétique et parfumerie

L'utilisation des huiles essentielles dans les crèmes et les gels permet de préserver ses cosmétiques grâce à leurs activités antiseptiques, et antioxydants, tout en leur assurant leur odeur agréable [57].

Elles sont utilisées aussi dans l'industrie des produits de beauté, parfums, articles de toilette, et produits d'hygiène [58].

#### c. Aromathérapie

Les huiles essentielles sont utilisées en milieu clinique pour soigner les maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies, ou l'arthrite et ainsi pour traiter certaines maladies internes et externes : infection d'origine bactérienne ou virale, trouble humorale ou nerveuse [59].

#### d. Industrie agroalimentaire

En industrie alimentaire, le consommateur cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Une technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles [60].

### I.2.8.4 Toxicité des huiles essentielles

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines,

neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine [61].

### **I.2.8.5 Activité biologique**

Activité antimicrobienne et antiparasitaire : les terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977 a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinés jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acidebetulinique est de juste un de plusieurs qui ont montrés une action inhibitrice envers HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles [62].

# **Chapitre II**

Etude phytochimique et  
biologique

## II.1 Matérielles et produits

### II.1.1 Matériels

Spectrophotomètre (spectronic20genesys TM), Etuve, Rotavapeur (Büchi), Balance de précision, Agitateur, lampe UV (254 ; 366 nm), Mortier et pilon, Verrerie: (béchers, pipettes, micropipette, ballons, éprouvettes graduées, tubes à essais, entonnoir, erlenmeyers, flacons 1000 ml), support, spatule, papiers filtres.

### II.1.2 Produits

L'éthanol, l'eau distillée, HCl, FeCl<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>OH, Mg, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Dragendorff reagent, acidegallique, Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium, Quercétine, AlCl<sub>3</sub>, DPPH, BHA, vanilline.

## II.2 Récolte de la matière végétale

La récolte de la plante *Artemisia campestris* a été effectuée au mois de Décembre dans région : ouiltem de Boussaâda. La partie aérienne de la plante est nettoyée ensuite séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante puis conservées dans des sacs en papier jusqu'à l'utilisation.



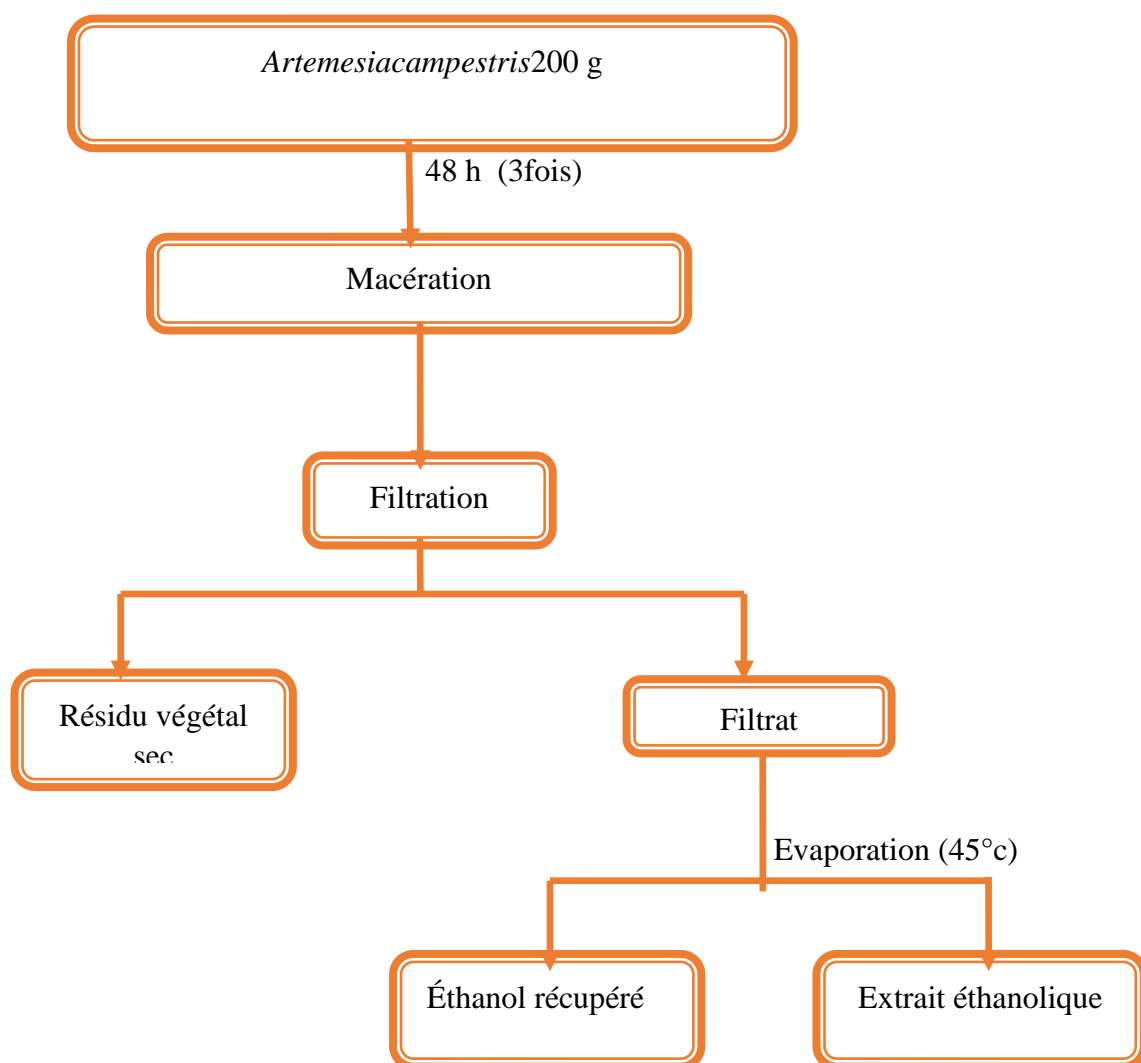
Figure II.1 : Photo de la plante *Artemisia campestris*.

## II.3 Méthodes d'analyse

### II.3.1 Extraction

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive en utilisant un solvant organique; il s'agit d'éthanol.

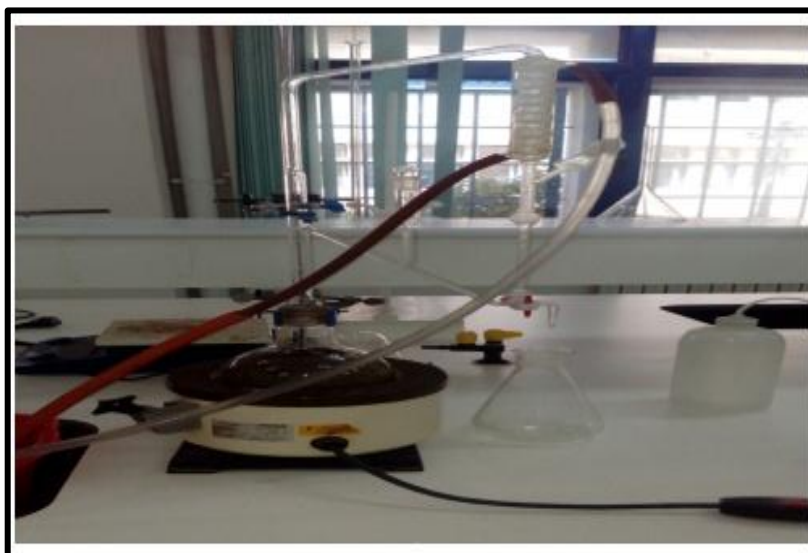
La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale à extraire. Dans notre cas la macération est faite avec 200 g de la plante dans 600ml d'éthanol pendant 48 heures suivi d'une filtration l'opération en tout à partir de la macération jusqu'à la filtration doit être répétée trois fois dans les mêmes conditions.



**Figure II.2:** Schéma d'extraction des feuilles d'*Artemisia campestris*.

### II.3.2 Extraction des huiles essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger [63]. Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant trois heures en mélangeant 50 g de matière végétal frais avec 500 ml d'eau dans un ballon de 1 litre surmonté d'une colonne réfrigérée de 60 cm de longueur. Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche [64].



FigureII.3 :Montage d'hydrodistillation.

## II.4 Etude phytochimique

Dans le but de caractériser les extraits d'*Artemesia campestris*, des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées.

### II.4.1 Détermination des rendements des huiles essentielles

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétal utilisée par cent. Il sera calculer comme mentionné par la formule suivante:

$$Rdt = \frac{m}{m_0} \times 100$$

Rdt: rendement en huiles essentielles (en %).

m : masse d'huiles essentielles récupérées (g).

$m_0$  : prise d'essai du matériel végétal (g).

## II.4.2 Analyses qualitatives

Les analyses qualitatives permettent de mettre en évidence la présence de quelque groupes chimiques (alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides...) dans les extraits.

### ✓ Détection des flavonoïdes

La réaction effectuée à partir de 5 ml d'extrait placé dans un tube à essai puis 1ml de l'acide chlorhydrique(HCl) et quelques copeaux de magnésium (Mg) sont ajoutés. L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes [9].

### ✓ Détection des tanins

La réaction effectuée à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube à essai dans lequel est ajouté un volume de 1ml de l'eau distillée puis quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (2%).L'apparition d'une coloration verte ou bleu vert indique la présence des tanins [9].

### ✓ Détection des saponosides

Pour les saponines, 2 ml d'extrait est introduite dans un tube à essai etajouter 2ml d'eau distillée chaudepuis le tube est agité fortement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides[9].

### ✓ Détection des alcaloïdes

La réaction effectuée à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube à essai dans lequel est ajouté un volume de 1ml d'eau distillée puis 3 gouttes de Dragendorff reagent ; L'apparition d'une coloration marron indique la présence des alcaloïdes[9].

### ✓ Détection des anthraquinones

La réaction effectuée à partir de 5 ml d'extrait placé dans un tube dans lequel est ajouté un volume de 2,5ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  ; L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones [65].

### ✓ Détection des coumarines (Fluorescence UV)

Introduire 1ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 0.5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25%, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines [9].

## II.4.3 Analyses quantitative

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits d'*Artemisia campestris*.

### II.4.3.1 Dosage des polyphénols totaux

#### ✓ Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

A partir d'une solution mère d'acide gallique de concentration massique de 1mg/ml dans l'éthanol, une série de dilutions a été faite pour obtenir des solutions filles à : (200, 150, 100, 75, 50, 25)  $\mu\text{g/ml}$ . Par la suite la lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc de l'éthanol ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage.

#### ✓ Principe du dosage

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les propriétés colorimétriques du réactif de Folin-Ciocalteu sont modifiées lorsqu'il est combiné à certaines molécules comme la fonction OH des phénols. Ce réactif est formé d'acide phosphomolybdique  $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_4$  et d'acide phosphotungstique  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène  $\text{W}_8\text{O}_{23}$  et de molybdène  $\text{MO}_8\text{O}_3$ , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée [66].

#### ✓ Protocole

- 200  $\mu\text{l}$  d'extrait sont ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée.
- La solution a été mélangée et incubée pendant 4 min.
- Après incubation 300  $\mu\text{l}$  de solution de Carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g/1000ml dans l'eau distillée) ont été ajoutés.
- Le mélange final a été bien mélangé, puis incubé pendant 2h dans l'obscurité à  $T^\circ$  ambiante.

- Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations : (200, 150, 100, 75, 50, 25) µg/ml.

L'absorbance de l'extrait a été mesurée par un spectrophotomètre à 765nm.

**Tableau II.1 :** Protocole de dosage des polyphénols totaux.

Concentration de l'acide gallique (µg/ml)	25	50	75	100	150	200		
Volume de l'acide gallique (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2		
Extrait (ml)							0.2	
Blanc : éthanol (ml)								1
Folin Ciocalteu (ml)								1
1 <sup>ère</sup> Incubation pendant 4min à température ambiante								
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (ml)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
2 <sup>ème</sup> Incubation pendant 2 h à température ambiante								
Mesure de DO à 765 nm								

### ➤ La Teneur en Polyphénols Totaux (TPT)

La teneur en Polyphénols Totaux est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

#### II.4.3.2 Dosage des flavonoïdes

##### ✓ Courbe d'étalonnage de la quercétine

A partir d'une solution mère de quercétine de concentration massique 200 µg/ml dans l'éthanol, une gamme de dilution est préparée pour obtenir des solutions filles de concentration (100, 75, 50, 25, 12.5) µg/ml.

##### ➤ Par la suite

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430nm contre un blanc de l'éthanol ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage.

✓ **Principe**

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans notre extrait [67].

Le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm [69].

✓ **Protocole**

- Une quantité de 1mg d'extrait a été dissoute dans un 1ml d'éthanol, puis un 1ml d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans l'éthanol) ont été ajouté.
- Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance lue après 10min d'incubation à 430nm.

**Tableau II.2 :** Protocole de dosage des flavonoïdes.

Concentration de quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ )	12.5	25	50	75	100		
Volume de quercétine (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2		
Extrait (mg)						1	
Blanc : éthanol (ml)							1
$\text{AlCl}_3$ (ml)							1
	Incubation pendant 10 min à température ambiante						
	Mesure de DO à 430 nm						

➤ **La Teneur en Flavonoïdes Totaux**

La Teneur en Flavonoïdes Totaux est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

### II.4.3.3 Dosage des flavones et flavonols

#### ✓ Courbe d'étalonnage de la quercétine

A partir d'une solution mère de quercétine de concentration massique 200 µg/ml dans l'éthanol, une gamme de dilution est préparée pour obtenir des solutions filles de concentration (100, 75, 50, 25, 12.5) µg /ml.

#### ✓ Par la suite

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 415 nm contre un blanc de l'éthanol ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage.

#### ✓ Protocole

- 500 µl d'extrait (1mg/ml), sont ajoutés à 1.5 ml de l'éthanol.
- Le mélange a été vigoureusement agité, puis 0.1ml de  $\text{AlCl}_3$  (10% dans l'éthanol), 0.1ml acétate de sodium (1M) plus 2.8 ml d'eau ont été additionnés.
- L'absorbance est lue après 30min d'incubation à 415nm.

**Tableau II.3 :** Protocole de dosage des flavones et flavonols.

Concentration de quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ )	12.5	25	50	75	100		
Volume de quercétine (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2		
Extrait (mg/ml)						0,5	
Blanc : éthanol (ml)							1
$\text{AlCl}_3$ (ml)							0.1
acétate de sodium (ml)							0.1
	1 <sup>ère</sup> Incubation pendant 30 min à température ambiante						
	Mesure de DO à 415 nm						

### ➤ La teneur en flavones et flavonoles

La teneur en flavones et flavonoles est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

#### II.4.3.4 Dosage des tanins

##### ✓ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide [69]. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 500 nm.

##### ✓ Mode opératoire

Un volume de 400  $\mu\text{L}$  d'extrait brut est ajouté à 3 ml de solution éthanolique de vanilline à 4 % puis homogénéisé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 15 minutes. L'absorption est mesurée à 500 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme control positif.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g EC/mg ext}$ ) [69].

**Tableau II.4 :** Protocole de dosage des tanins.

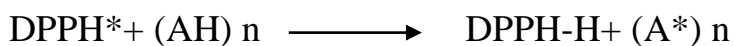
Concentration de catéchine ( $\mu\text{g/ml}$ )	50	100	150	200	300		
Volume de catéchine (ml)	3	3	3	3	3		
Extrait (mg/ml)						0,4	
Blanc : éthanol (ml)							1
HCl(ml)							1,5
	1 <sup>ère</sup> Incubation pendant 15 min à température ambiante						
	Mesure de DO à 500 nm						

## II.5 Activité antioxydante

### ➤ Test de DPPH

#### ✓ Principe

Le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur rose-violacée bien caractéristique. Les antioxydants présents dans l'extrait préparé le réduisent, ce qui entraîne une décoloration jaune, facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm, et par conséquent une diminution de l'absorbance. La méthode est généralement standardisée par rapport à un contrôle positif réalisé avec un antioxydant standard, dans notre cas c'est le BHA [70].



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) [71].

**✓ Protocole**

La solution de DPPH à 0.004% (0.004g dans 100 ml d'éthanol), est préparée au préalable dans une fiole, bien couvrir avec du papier aluminium et laisser sous agitation jusqu'à son utilisation.

**✓ Préparation des dilutions**

Nous avons préparé une gamme de dilution à (100, 80, 60, 40, 20) µg/ml partant d'une solution mère à 1mg/ml dissoute dans l'éthanol.

**✓ Dosage**

L'activité du piégeage du radical DPPH a été évaluée selon le protocole suivant :

- 1 ml de chaque dilutions (100, 80, 60, 40,20) µg/ml sont ajoutés à 1 ml de la solution du DPPH (0,004% dans l'éthanol).
- Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 1ml de l'éthanol avec 1 ml de la solution de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc (éthanol) à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.
- Le contrôle positif est réalisé avec une solution d'un antioxydant standard; le BHA dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que notre extrait et pour des concentrations de : (100, 70, 60, 40, 20) µg/ml.

**➤ Calcul des pourcentages d'inhibitions**

Les pourcentages d'inhibition sont calculés à l'aide de la formule suivante :

Avec : **% d'inhibition =  $100 (A_c - A_t) / A_c$**

$A_c$  : Absorbance du contrôle négatif

$A_t$  : Absorbance du test effectué

**➤ Calcul des concentrations efficaces IC<sub>50</sub>**

- L'IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

- Les  $IC_{50}$  sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.



# **Chapitre III**

## Résultats et discussion

### III.1 Le rendement

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia campestris* a fourni un taux de 0,3 %. Ce dernier taux est similaire par rapport résultat de Touil Souhila et Benrebiha Fatima Zohra[73] et plus faible par rapport à celui obtenu à partir d'*Artemisia campestris* de Tunisie et de la France qui est respectivement de 1,2 et 1,4% (ml/100 g) [73, 74].

### III.2 Analyse chimique

#### III.2.1 Analyse qualitative

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques [75].

##### III.2.1.1 Les résultats du screening phytochimique

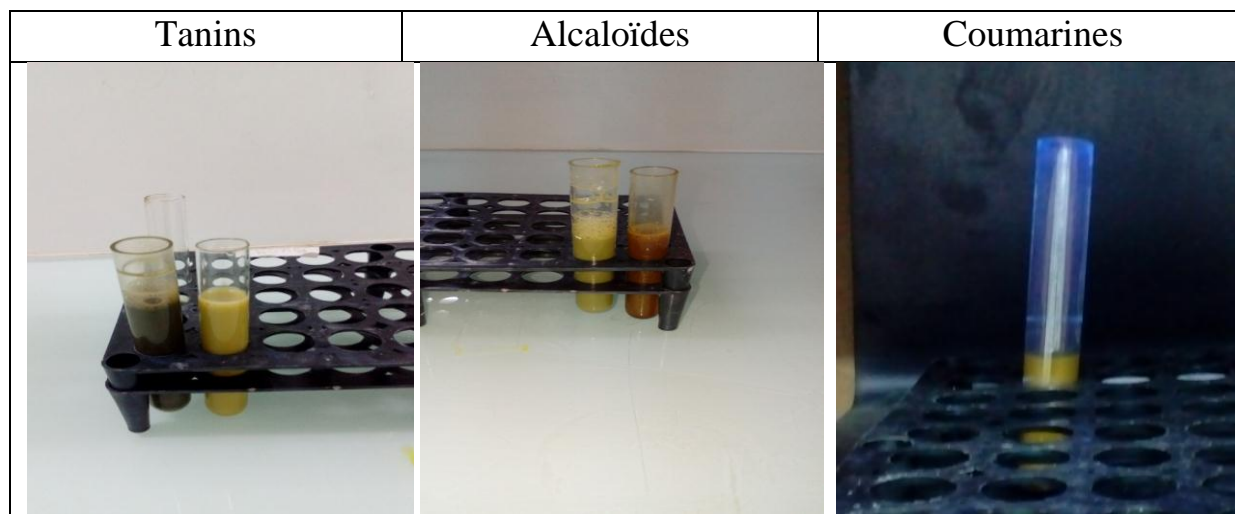
Les résultats de criblage phytochimique sont reportés dans le tableau ci-dessous

**Tableau III.1:** Criblage phytochimique d'*Artemisiacampestris*.

Composés recherchés	Couleur	Résultats
Flavonoïdes	Rose	+
Tanins	Vert	++
Saponines	Mousse persistante	-
Alcaloïdes	Maron	++
Anthraquinones	Violet	-
Coumarines	Une fluorescence intense	++

+ Positif ++ Fortement positif –Négatif

**Tableau III.2 :** Résultats des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait d'*Artemisia campestris*.



Selon les résultats, le screening phytochimique de la plante nous a permis de connaître les composants majoritaires présents : les flavonoïdes, les alcaloïdes, les coumarines et les tanins.

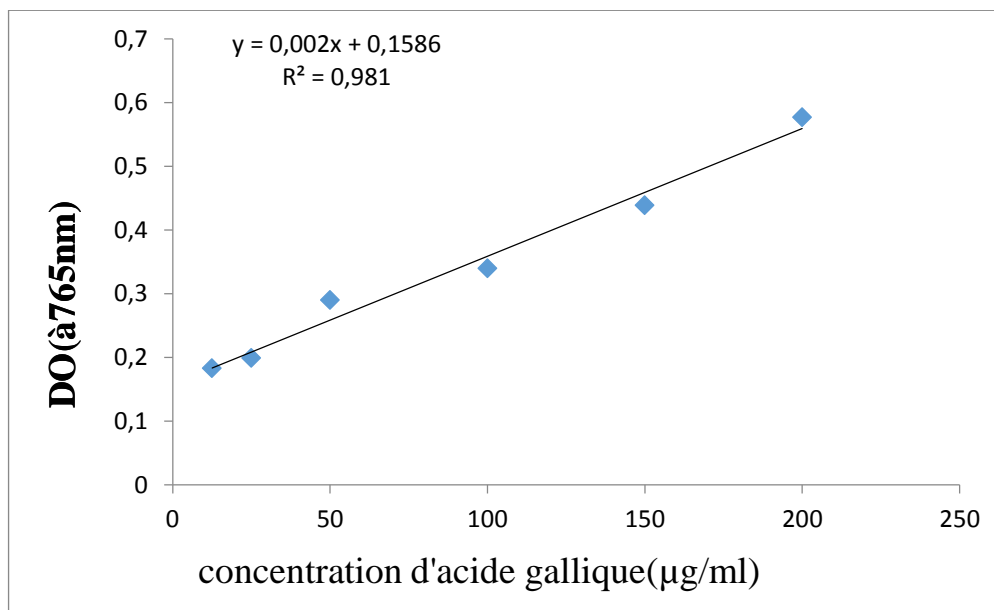
### III.2.2 Analyse quantitative

L'étude quantitative d'extrait brut d'*Artemisia campestris*, au moyen de dosage spectrophotométrique, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavones et flavanols et tanins.

#### III.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage figure (III.1).

La quantité des polyphénols a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg Ps}$ ).



**Figure III.1:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage d'acide gallique dont l'équation suivante ( $Y = 0,002x - 0,158$   $R^2 = 0,981$ ) prouve que la relation entre la concentration et l'absorbance est proportionnelle, donc la loi de Beer Lambert est vérifiée dans la gamme des concentrations utilisées.

Les résultats des calculs nous permettent d'obtenir une teneur en polyphénols totaux égale à :  $132,64 \pm 0,004 \mu\text{g}/\text{mg}$  d'extrait.

Le dosage quantitatif des polyphénols a donné une teneur très importante par rapport de celle trouvée par Boudjouref Mourad et al[76] dans son étude sur la même espèce avec une valeur enregistrée de  $88,61 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$ .

Cette différence peut être due par la faible spécificité du réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique.

Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et protéines...etc [77].

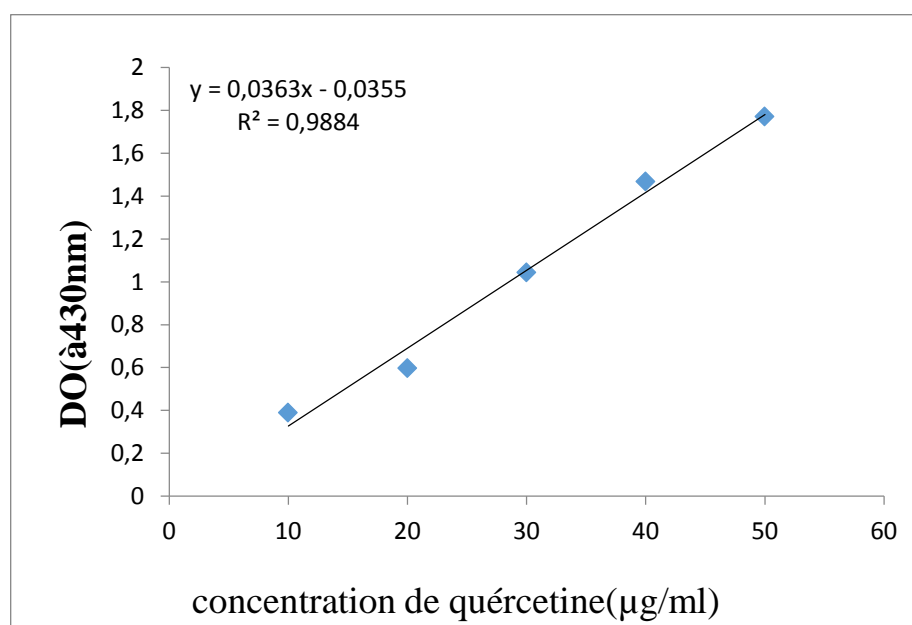
La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (température, sécheresse...) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tel que les polyphénols [78].

### II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 0,036x - 0,035 \quad R^2 = 0,988$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait ( $\mu gEQ/mg Ps$ ).



**Figure III.2 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur des flavonoïdes est  $18,87 \pm 0,47 \mu g EQ/mg$  d'extrait.

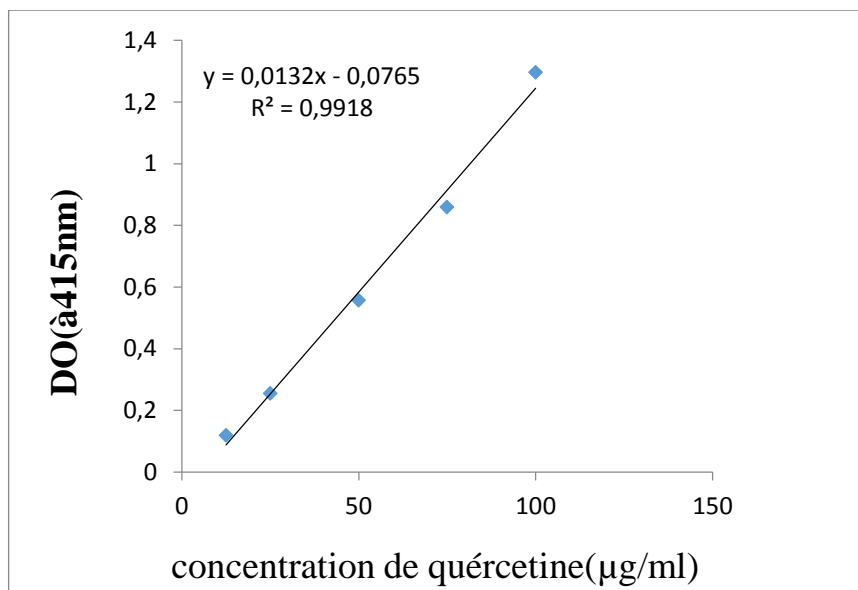
L'étude faite par Boudjouref Mouradet al[76] montre que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris de* même région est  $12,91 \pm 0,01 \mu g EQ/mg$  d'extrait. Ce résultat est proche à notre résultat.

### III.2.2.3. Dosage des flavones et flavonols

Le dosage des flavones et flavonols a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et l'étalonnage la quercétine, l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 415nm.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 0,013x - 0,076 \quad R^2 = 0,9918$$



**Figure III.3 :** Droite d'étalonnage pour le dosage des flavones et flavonols.

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur des flavones et flavonols est :  $26,02 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait.

Cette résultat est proche par rapport le résultat de Boudjouref Mourad et al [76] ils montrent la teneur de flavones et flavonols  $20,50 \pm 0,01$  d'extrait méthanolique.

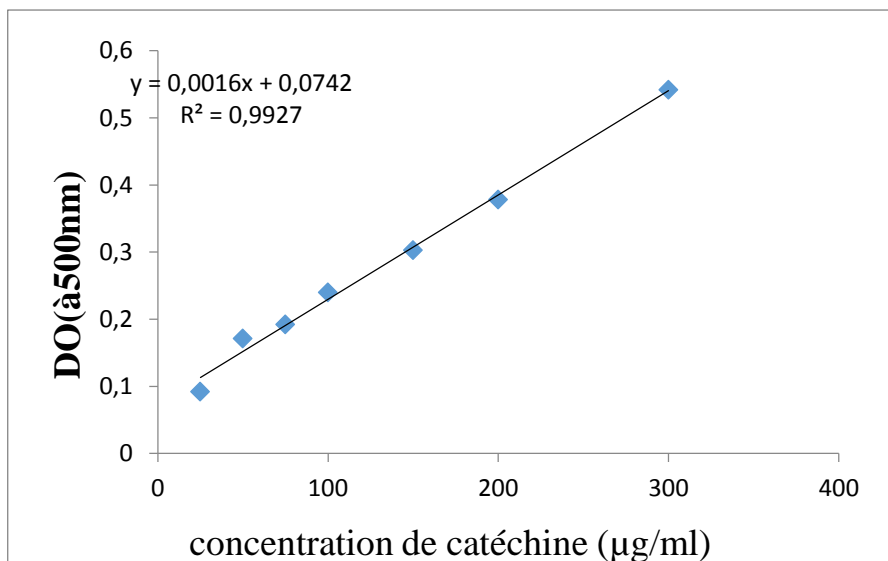
### III.2.2.4 Dosage des tanins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide.

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 500 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 0,001x + 0,074 \quad R^2 = 0,992$$

La quantité des tanins a été rapportée en microgramme d'équivalent de la catéchine par milligramme de poids sec d'extrait ( $\mu\text{g EC/mg Ps}$ ).



**Figure III.4 :** Droite d'étalonnage des tanins.

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur des tanins est :  $49,87 \pm 0,24 \mu\text{g EC/mg}$  d'extrait.

L'étude faite par Boudjouref Mouradet al [76] montre que la teneur de tanins est  $36,88 \pm 0,01$  dans l'extrait méthanolique de Boussaâda cette résultat est proche par rapport de notre résultat.

### III.3 Activité antioxydante

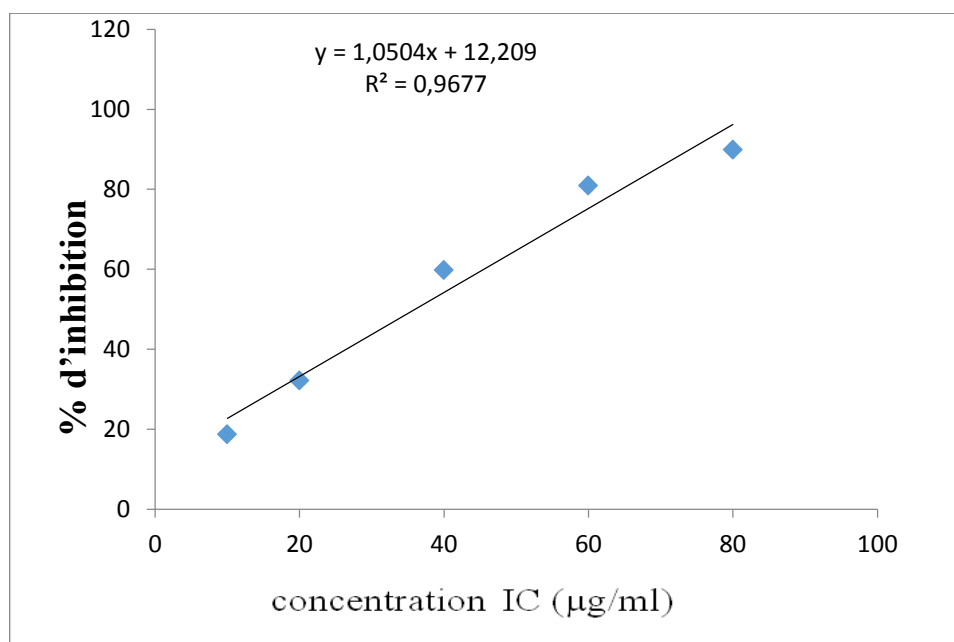
L'activité antioxydante d'extrait d'*Artemisia campestris* été évaluée in vitro par la méthode de réduction de radical libre DPPH.

#### Méthode de réduction du radical libre DPPH

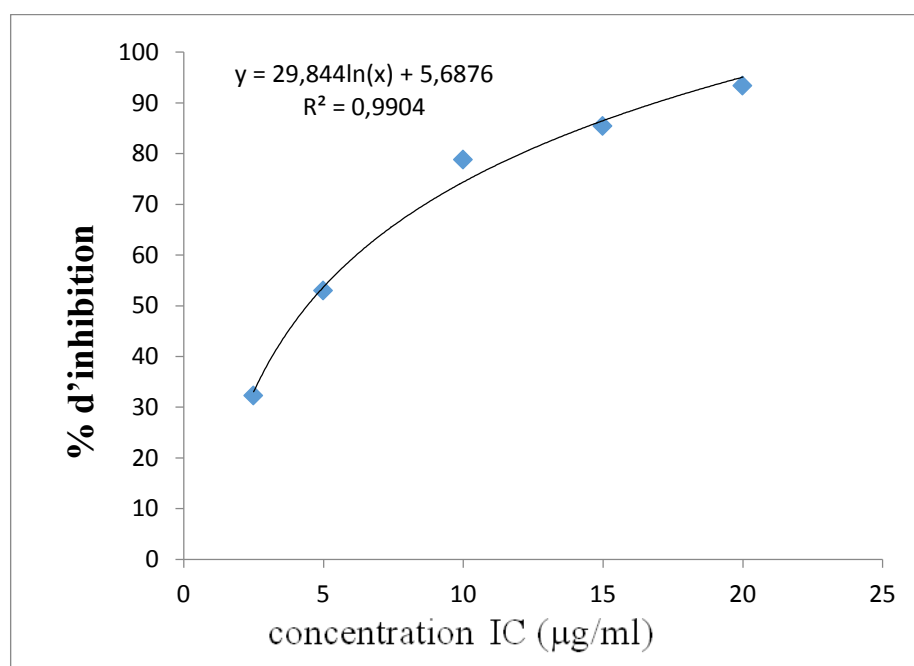
Les activités antiradicalaires d'extrait d'*Artemisia campestris* et du témoin positif BHA ont été déterminées par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus sont représentés sous forme de deux droites les figures (III.5 et III.6) dont les équations suivantes respectivement :

$$Y = 1,050x + 12,20 \quad R^2 = 0,967$$

$$Y = 29,84 \ln(x) + 5,687 \quad R^2 = 0,900$$



**Figure III.5 :** Activité antioxydante d'extrait d'*Artemisia campestris*.



**Figure III.6:** Activité antioxydante du standard BHA.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> d'extrait éthanolique et le BHA dans notre résultat sont 35,97±0,70 et 4,39 ±0,064 µg/ml respectivement. D'après ces résultats, On constate que l'extrait éthanolique possède une activité 9 fois moins que le standard.

Néanmoins, on remarque que l'extrait ethanologique présente une activité anti radicalaire significative vis-à-vis du radical DPPH• par rapport le résultat d'étude menée par Boudjouref Mourad et al [76] sur la même espèce. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques en particulier les flavonoides.



# **Conclusion**

### Conclusion

L'étude que nous avons présentée dans ce mémoire concerne l'investigation phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'espèce *Artemisia campestris*, plante saharienne appartenant à la famille Astéragées et utilisée en médecine traditionnelle.

Les testes phytochimiques réalisés sur l'extrait éthanolique des feuilles de la plante *Artemisia campestris*, a permis d'identifier plusieurs métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines).

Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux à l'aide de la méthode du Folin Ciocalteu a révélé une teneur estimée  $132,64 \pm 0,004 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, pour les flavonoïdes à l'aide de la méthode de trichlorure d'aluminium a révélé une teneur estimée  $18,87 \pm 0,47 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, et pour les flavones et flavonols en utilise la même méthode de trichlorure d'aluminium a révélé une teneur estimée à  $26,02 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait. Enfin pour le dosage des tanins condensés à l'aide du test de la vanilline avec HCl a révélé une teneur estimée à  $49,87 \pm 0,24 \mu\text{g EC/mg}$  d'extrait, ce qui démontre que les polyphénols sont les métabolites les plus présents dans l'*Artemisia campestris*.

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons évalué l'activité anti-oxydante de l'extrait EtOH par la méthode du DPPH. A l'issue de cette étude, il en ressort que l'extrait EtOH possède une activité anti-oxydante remarquable par rapport au BHA un anti oxydant synthétique. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques en particulier les polyphénols.

A la lumière de ces résultats, cette étude préliminaire nécessite d'autres recherches qui nécessitent ;

- Un fractionnement et une purification des molécules actives.
- Evaluation de l'activité antioxydante de cette plante par d'autres méthodes *in vitro*, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- Recherche d'autres activités biologiques (antidiabétique, antimicrobienne, anticancéreux...).



**Référence  
bibliographique**

## Référence bibliographique

- [1] Tabetic, J. R. S., Lye. K.A., Dhillion.S.S. 2003. Tradition alherbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. Journal of Ethnopharmacology, vol. 88, N°1, pp. 19-44.
- [2] Merzouk, B. 2009. Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. Et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri Constantine. P1.
- [3] Mucciarelli, M., 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.
- [4] Kundan, S., Anupam, S. 2010. The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. J.Pharm. Biol.pp:1-9.
- [5] Mirjalili, M. H., Tabatabaei, S.M.F., Hadian, J., NejadS, E., Sonboli, A. 2007. Phenological Variation of the essential oil of Artemisia scoparia from Iran. J. Essent. Oil Res.
- [6] Benchelah, A. C., Bouziane, H., Maka. M. 2004. Fleurs du Sahara, arbres et arbustes voyage au cœur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. Phytothérapie, vol. 2, no 6, p. 191-197.
- [7] Boudjlal, A., Henchiri, C., SARI. M. 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An Ethnopharmacology survey. Journal of ethnopharmacology, vol. 148, no 2, p. 395-402.
- [8] Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S et al. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. Industrial Crops and Products, vol. 46, p. 85-96.
- [9] Elbidi., A. 2016. Screening phytochimique de quelques plantes steppiques

*Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire Master professionnel Université Ziane Achoue de Djelfa.

- [10] Urquiaga, I., Leighton, F. 2000. Plant polyphénol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. 33(2):55-64.
- [11] Ghilissi, Z., Sayri, N., Kallel, R., et al. (2016). Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 84, p. 115-122.
- [12] Masotti, V., Jong, L., Moreau, X., et al. 2012. Larvicidal activity of extracts from *Artemisia* species against *Culex pipiens* L. mosquito: Comparing endemic versus Ubiquist species for effectiveness. *Comptes rendus biologies*, vol. 335, no 1, p. 19-25.
- [13] Bensassi, A., Harzallah, S. F., Aouni, M. 2007. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical biology*, vol. 45, no 5, p. 421-428
- [14] Lefloch, E. 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.
- [15] Akrouf, A., Gonzalez, L. A., Eljani, H., et al. 2011. Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelae ahirsuta* from Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 49, no 2, p. 342-347.
- [16] Naili, M. B., Alghazeer; O.A., Saleh, N.A., Al-Najjar, A. Y. 2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J.Chem*. 3: 79–84.
- [17] Huang, M. T., Ferraw, T. 1991. Phenolic compound in food and cancer prevention. *Phenolic compounds in food and their effects on health*. 3:83.
- [18] Hartmann, T. 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. p68, 2831–2846.

- [19] Volack, J., Stodola, J. 1983. Les plantes médicinales .Ed GRUND. Paris
- [20] Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A.M. 2001. Le préparateur en Pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- [21] Bruneton, J. 1993. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- [22] Erdman, J., Balentine, J. D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Hollman, J. P., L. Keen, C., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson G., Burrowes, J. 2007. Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition. 137 (3 suppl): 718 s-737 s.
- [23] Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., Krishna, D. R. 2001. Bioflavonoids Classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology. 33: 2-16.
- [24] Meddelton, E., Kardasmani, J.C. 1993. The flavonoids Advances, in: research since 1986, JB Harbone, chapman and Hall, London, p617-652.
- [25] Kamra, D. N, Agarwail, N., Chaudhary, L.C.2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series. (1293): 156–163.
- [26] Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research. (49): 241-256.
- [27] Peronny, S. 2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI Ethologie.
- [28] Ghazi, A. 2014. Essai de synthèse d'un conjugué acide gallique-inuline et étude in vitro de leurs activités anti-oxydante et prébiotique. Mémoire de magister.
- [29] Sayah, H. 2013. Le pouvoir antioxydant des polyphénols de l'espèce pennisisetum glaucum (millet) du sud d'Algérie. Mémoire de master. Université de Tlemcen.
- [30] Alilou, H. 2012. Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du sud du

- Maroc: *Asteriscus graveleolens* sub sp. *Odorus* (Schousb.) Greutter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC.. Thèse de doctorat. Université d'Agadir.
- [31] Casley-Smith, J. R. R. G., Piller N. B. 1993. Treatment of Lymphedema of the Arms and Legs with 5, 6-Benzo-pyrone, *New Engl. J. Med.* 329. 1158-1163.
- [32] Dean, F. M. 1952. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* 9 225.
- [33] Späth, E. 1937. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 70A. 83.
- [34] Havsteen, B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- [35] Delporte, G., Mascolo. N., Izzo. A. A. 1999. *Life. Scien.* 65(4), 337-53
- [36] Stefanova, T., Nikolova, N., Michailova, A., Mitov, I., Zlabinger, g.I., Neychev, H. 2007. Enhanced resistance to *Salmonella entericsero var typhimurium* infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection.* 9: 7-14.
- [37] Cottiglia, F., Loy, G., Garau, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R., Bonsignore, L. 2001. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne. Gnidium L.* *Phytomedicine.* 8: 302–305.
- [38] Anderson, C. M., Hallberg, A., Hogberg, T. 1996. Advances in the development of Pharmaceutical antioxidant drug. *Food Chemistry.* 28: 65-180.
- [39] Gerard, G. 2015. ALCALOÏDES. Document Word [en ligne]. Disponible sur <http://www.webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/Famille2/ALCALOIDES.htm> [consulté en janvier 2015] [16] Heron J.F. 2010. Oncoprof [en ligne]. Disponible sur [http : //www.oncoprof.net](http://www.oncoprof.net)[consulté : septembre 2014].
- [40] Buchanan, Métabolites secondaires [en ligne]. Disponible sur [http// : Www.biologie.univ-mrs. fr/upload /p222/2Metabolite segondaire. PDF](http://www.biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/2Metabolite%20secondaire.PDF) [consulté en Mars 2015]
- [41] Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., Becker, K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br. J. Nutr.* 88. 587–605
- [42] Kren, V. 2001. Glycosides in Medicine: "The Role of Glycosidic Residue in Biological Activity". *Current Medicinal Chemistry*, 8. 1303-1328.
- [43] Gauthier, C. 2008. Amélioration du comportement biopharmaceutique de triterpenes naturels anticancéreux par synthèse de saponines mono- et bidesmosidiques.
- [44] Abid, A., Naqvi, T.S., Naqvi, M.S. 2012. Identification of Phytosaponins as Novel Biodynamic Agents: An Updated Overview. *ASIAN J.EXP.BIOL.SCI.* 3 459-467
- [45] Yücekutlu, N. A., Bildacı. I. 2008. Determination of Plant Saponins and Some of

- Gypsophila Species: A review of the literature. Hacettepe J. Biol. & Chem. 36. 129-135.
- [46] Zenk, M.H, Juenger, M., phytochemistry, review 68, P 2757-2772, 2007.
- [47] Cyril, T. 2001. Étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.
- [48] Elbidi, A. 2016. Screening phytochimique de quelques plantes steppiennes *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Master professionnel. Université Zaine Achour de Djelfa.
- [49] Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P. 2002. Botanique Systématique: une perspective phylogénétique. Ed 1: DEBOECK. P: 84-336.
- [50] Oakes, R. S., Clifford, A. A., Rayner, C. M. 2001. The use of supercritical fluids in synthetic organic chemistry. J. Chem. Soc. 1, 917-941.
- [51] Angus, S., Amstrong, B., Reuck, K. M. 1976. International thermodynamic table of the fluid state: carbon dioxide. vol. 3. IUPAC. Pergamon Press. Oxford.
- [52] Eckert, C. A., Knutson, B. L. 1993. Molecular charisma in supercritical fluids. Fluid Phase Equilibria, 83, 93-100.
- [53] Castro, M.D., Valcarcel, M., Tena M.T.1994. In Analytical supercritical fluid extraction. Springer laboratory, Berlin, p 321.
- [54] Jitaru, M., Lowy, D. A., Toma, M., Toma, B. C., Oniciu, L. 1997. Electrochemical reduction of carbon dioxide on flat metallic cathodes, Journal of Applied Electrochemistry 27, 875-989
- [55] Bruneton, J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, techniques et documentation ,2ème édition .Lavoisier(France) ,422-266.
- [56] Zambonelli, A., D'aurelio, A.Z., Severi, A., Benvenuti, E., Maggi, L., Bianchi A. 2004. Chemical composition and fungidal activity of comercial essential oils of *thymus vulgaris* L. journal of essential oil of research, vol 16, N0 1, p 69-74.
- [57] Vargas, I., Sanz, I., Prima-Yufera, E. 1999. Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil. Journal of Foods protection, vol 62, N0 8. P 929-932.
- [58] Sparg, G.S., Light, M.E., Van staden, J. 2004. Biological activities and distribution of plant saponine .Journal of Ethnopharmacology. 94. 219-243
- [59] Maruyama, N., Sekimoto, N., Ishibashi, H. 2005. Suppression of neutrophil

accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of inflammation*, vol.2, p.1-11.

- [60] Lachowicz, K.j., Jones, G.P., Briggos, D.R., Wilcock, A. 1998. Coventry M.J. the synergistic preservative effects of the essential oil of sweet basil (*ocimum basilicum* L) against acid-tolerant food microflora. *Letter applied microbiology*, vol.26, N0 .3, p.p. 209-214.
- [61] Eisenhut, M. 2007., El Kolli, M. 2008. The toxicity of essential oils, Article in pressed, *International Journal of Infectious Diseases*. 11(4): 36 -Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desp. d'*Athemis punctata* Vahl. Et de *daucuscrinitus* Desf. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- [62] Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical biology Reviews*. 12 (4), 564–582.
- [63] Clevenger, J. F. 1928. Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* 467–503
- [64] Afnor. 2000. Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1) -Monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2. volumes 1 et 2) mars.
- [65] BAOSHAN, SUN.1998. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (10), 4267-4274.
- [66] Wong J.G., Anderson, R.A., Graham, G.M., Chu M.C., Sauer, M.V., Guarnaccia M.M., Lobo, R.A. 2006. The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycysticovary syndrome: a pilot study.
- [67] Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. 97; 654-660.
- [68] Boudiaf, k .2006. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *nigellasativa*. Mémoire de magister. Setif.

- [69] Sun, B.,conceição, L., Ricardo, da silva, J. M., Spranger I. 1998. Journal of Agricultural and Food chemistry46(4), 1390-1396.
- [70] Rebaya, A., Igueld,S., Béatrice, B., Baghdikian., Mabrouki, F., Olivier, E. Jamila, k., Cherif, M., Trabelsi, A.2014. Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of Halimium halimifolium (Cistaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 5 (01), pp. 052-057.
- [71] Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Sci. Technol. 28 ; 25–30.
- [72] Touil, S., Benrebiha, F. Z. 2012. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'artemisia herba alba et artemesia campestris L de la région aride de Djelfa.
- [73] Abdelgaleil, S.A.M., Abbassy, M.A., belal, A.H. 2007. Bioactivity of two major Constituents isolated from the essential oil of Artemisia judaica L, Bioresour Technol, V. 99 n° 13, (2007), 5947–50.
- [74] Akrouf, A., Chemli, M., Simmonds, G., Kite, M., Hammami, M., Chreif, I. 2003. Seasonal variation of the essential oil of Artemisia campestris L, Journal of Essential Oil Research, n°15, 333-336.
- [75] Kholkhal, F., Lazouni, H., A, BENDAHO., Mourad, et al. 2013. Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de Thymus Ciliatus ssp. Coloratus. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, vol. 9, no 1, p. 151-158.
- [76] Boudjouref, M., Belhattab, R., Bouteghrine, S. 2014. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Artemisia Campestris from Two Regions of Algeria.
- [77] Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in

products derived from bees. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41; 1220-1234.

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

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait éthanolique de la plante médicinale Algérienne *Artemisia Campestris* récoltée de la région ouiltem de Boussaâda, en utilisant le radical libre DPPH.

Le screening phytochimique nous a révélé la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et coumarines dans l'extrait; tandis que les saponines et les anthraquinones sont absents dans l'extrait préparé. Les résultats du dosage montrent que l'extrait éthanolique d'*Artemisia campestris* est plus riche en composés polyphénoliques ( $132,64 \pm 0,004 \mu\text{g EG/mg}$ ), en flavonoïdes ( $18,87 \pm 0,47 \mu\text{g EQ/mg}$ ), en tanins ( $49,87 \pm 0,24 \mu\text{g EC/mg}$ ), en flavones et flavonols ( $26,02 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$ ).

L'activité anti-oxydante a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique possède une activité anti-oxydante remarquable par rapport au BHA un antioxydant synthétique.

**Mots clés :** Asteraceae, *Artemisia campestris*, extrait éthanolique, polyphénols, activité antioxydante.

## ملخص

الهدف من عملنا هذا هو الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي لنبته التفتت المزروعة بمنطقة ولتام ببوسعادة الذي ، باستخدام الجذر الحر DPPH.

التحليل الفيتوكيميائي أثبت وجود مركبات الفلافونويد والقلويدات والعفصيات والكومارينات في المستخلص. بينما الصابونينات والأنثراكينونات غائبة في المستخلص المحضر. أظهرت نتائج المعايرة أن المستخلص الإيثانولي لنبته التفتت أغنى بالبوليفينول ( $132.64 \pm 0.004$  ميكروغرام / ملغ) ، الفلافونويدات ( $18.87 \pm 0.47$  ميكروغرام / ملغ) ، العفصيات ( $49.87 \pm 0.24$  ميكروغرام / ملغ) ، و في الفلافون والفلافونول ( $26.02 \pm 0.007$  ميكروغرام / ملغ).

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق جذر DPPH. أظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي له نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ مقارنة بمضاد الأكسدة الاصطناعية BHA.

**الكلمات المفتاحية :** Asteraceae ، *Artemisia campestris* ، المستخلص الإيثانولي ، البوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة.

## Summary

The objective of this work is the phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of ethanolic extract of the Algerian medicinal plant *Artemisia Campestris* harvested from the ouiltem region of Boussaâda, using the free radical DPPH.

Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and coumarins in the extract; while saponins and anthraquinones are absent in the prepared extract. The assay results show that the ethanolic extract of *Artemisia campestris* is richer compared to other polyphenolics extracts ( $132.64 \pm 0.004 \mu\text{g EG / mg}$ ), flavonoids ( $18.87 \pm 0.47 \mu\text{g EQ / mg}$ ), in tannins ( $49.87 \pm 0.24 \mu\text{g EC / mg}$ ), in flavones and flavonols ( $26.02 \pm 0.007 \mu\text{g EQ / mg}$ ).

The antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical reduction method. The results showed that the ethanolic extract has a remarkable antioxidant activity compared to BHA a synthetic antioxidant.

**Key words:** Asteraceae, *Artemisia campestris*, ethanolic extract, polyphenols, antioxidant activity.