République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :

Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Extraction, caractérisation et évaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L.

Préparé par :

Mr. BOUALLAOUI Ibrahim

Mr. KHALDI Abdenour

Mr. BRIKAT Abderrahmane.

Membres de jury d'évaluation :

Mr. AGUEDAL Hakim	**Président**	**MCA**	**Univ. Adrar**
Mr. ABISMAIL Youcef	**Encadreur**	**MAA**	**Univ. Adrar**
Mr. BOULAL Ahmed	**Examinateur**	**MCA**	**Univ. Adrar**

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

Tout d'abord, On tient à présenter toute notre reconnaissance et notre gratitude à notre encadreur : Mr ABISMAIL YOUCEF pour sa disponibilité, son aide précieuse qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

On tient aussi à adresser nos plus vifs remerciements à Mr. AGUEDAL Hakim Maitre-conférence à l'université Ahmed Draya Adrar qui nous ont fait le grand honneur de présider le jury.

Nos remerciements s'adressent également à Mr. BOULAL Ahmed Maitre-conférence l'université Ahmed Draya Adrar pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Merci à tous les autres qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.

Merci

Dédicace

Je dédie cet événement de ma vie à ma mère, mon père qui ont fait des sacrifices et crus en moi tout au long de mon parcours scolaire...

À vous mes frères et sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui…

À ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité…

À ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité…

À mes amies et mes collègues sans oublier personne, Nous avons partagé ensemble les peines et les joies pendant ces années…

À tous les étudiants de biologie de département Adrar...

À tous ceux qui aiment la science...

Et finalement, Que Dieu vous protège tous…

Merci à tous … Abderrahmane

Dédicace

Je dédie ce travail qui est un événement très important dans ma vie à ma mère, mon père pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières… tout au long de mes études.

À mes frères et mes sœurs qui m'a encouragé et soutenu pour arriver là où je suis aujourd'hui …

A toute ma famille pour leur intérêt et leur souci tout au long de mon parcours universitaire.

A mes chères amies, mes chère collègue qui nous avons partagé nos joies et nos peines dans cette période de ma vie.

Sans oublier ma grande famille (mes professeurs et tous les étudiants de département de la Biologie de Adrar).

Merci à tous …

Abdennour

Dédicace

Je dédicace ce mémoire

A mes très chers parents

A mes sœurs et frères

A toute ma famille,

Proche ou éloignée

IBrahim

Table des matières

Remerciements…….....I

Dédicaces……..... II

Table des matières ……...…….……....V

Liste des figures …….. IX

Liste des tableaux …….……..... XI

Liste des abréviations …….....XII

Introduction générale…….....1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Présentation de la plante *Artemisia campestris* L.

1. Généralités : 3
2. Systématique de la plante 3
3. Nom vernaculaire 4
4. Description botanique 4
5. Origine et distribution 5
6. Composition chimique 6
7. Activités biologiques 6
   - 7.1 Activité antioxydante 6
   - 7.2 Activité antimicrobienne 7
   - 7.3 Activité anti-inflammatoire 7
   - 7.4 Activité anti-hyperlipidémique 7

Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires d'*Artemisia campestris* L.

1. Les composés phénoliques 8
   - 1.1 Les flavonoïdes 8
     - 1.1.1 Définition 8
     - 1.1.2 Structure chimique et classification des flavonoïdes 8
       - 1.1.2.1 Les flavones vrais 8
       - 1.1.2.2 Les flavanols 9
       - 1.1.2.3 Les flavanones 9
       - 1.1.2.4 Les dihydroflavonols 10
       - 1.1.2.5 Les chalcones 10
     - 1.1.3 Activités biologiques des flavonoïdes 10
   - 1.2 Les coumarines 11
     - 1.2.1 Définition 11
     - 1.2.2 Structure chimique et classification des coumarines 11

1.2.2.1 Les coumarines simples 11
1.2.2.2 Les coumarines complexes 12
1.2.3 Activités biologiques des coumarines 13
1.3 Les tanins 13
1.3.1 Définition 13
1.3.2 Structure chimique et classification des tanins 14
1.3.2.1 Les tanins hydrolysable 14
1.3.2.1.1 Les tanins galliques 14
1.3.2.1.2 Les tanins ellagiques 14
1.3.2.2 Les tanins condensés 14
1.3.3 Activités biologiques des tanins 15
2. Les huiles essentielles 15
2.1 Définition 15
2.2 Etat naturel, répartition et localisation 15
2.3 Chimie des huiles essentielles 16
2.3.1 Terpénoides 16
2.3.1.1 Les monoterpènes 16
2.3.1.2 les sesquiterpènes 16
2.3.2 Composés aromatiques 16
2.4 Propriétés physico-chimiques 16
2.5 Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles 17
2.6 Méthodes d'extraction des huiles essentielles 17

Partie expérimentale

Chapitre I : Etude botanique d'*Artemisia campestris* L.

1. Matériels et Méthodes 19
1.1 Matériels 19
1.1.1 Matériel végétal 19
1.1.2 Matériel du laboratoire 19
1.1.2.1 Appareils 19
1.1.2.2 Matériels consommables 19
1.1.2.3 Réactifs et solutions 20
1.2 Méthode d'étude botanique 20
2. Résultats 21
2.1 Examen botanique macroscopique 21
2.1.1 La morphologie de la feuille 21

2.1.2 La morphologie de la fleur 22
2.2 Examen botanique microscopique 22
2.2.1 Coupe histologique transversal au niveau de la tige 22
2.2.2 Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris* 23
3. Discussions 24

Chapitre II : Extraction et analyse de l'huile essentielle

1 Matériels et Méthodes 26
1.1 Matériels 26
1.1.1 Matériel végétale 26
1.1.2 Matériels laboratoires 26
1.1.2.1 Montage d'extraction 26
1.1.2.3 Appareils 26
1.1.2.3 Verrerie et matériels simple du laboratoire 27
1.1.2.4 Réactifs et solution……..……27
1.2 Méthodes 27
1.2.1 Technique utilisé dans l'extraction de l'HE 27
1.2.2 Technique utilisé dans CCM 28
2. Résultats 28
2.1 Résultats d'extraction 28
2.2 Rendement de l'extraction 29
2.3 La densité de l'HE 30
2.4 Résultat d'analyse CCM 30
3. Discussion 32
3.1 Extraction de l'huile essentielle 32
3.2 Analyse CCM 32
4. Discussion 33

Chapitre III : Activité antibactérienne

1. Matériels et Méthode 34
1.1 Matériels 34
1.1.1 Matériel végétal ....……..…….....34
1.1.2 Matériel du laboratoire …….……34
1.1.3 Réactif et solution……...34
1.1.4 Souches bactériennes utilisées……....34
1.2 Méthode …….……..35

1.2.1 Définition de technique de micro-dilution successive en milieu liquide ……...35
1.2.2 La concentration minimale inhibitrice (CMI) …….35
1.2.3 La concentration minimale bactéricide (CMB)..……..…35
1.2.4 Mode opératoire…….……...……35
1.2.4.1 Milieu de culture …….……....……..……35
1.2.4.2 Préparation des suspensions bactériennes (inoculum) ……...…….36
1.2.4.3 Remplissage de la microplaque d'Elisa……...……36
1.2.4.4 Incubation……...……..37
1.2.4.5 Lecture des résultats …….……...……37
1.2.4.6 Ensemencement ……...……38
1.2.4.7 Lecture des résultats …….. ….……...38
2. Résultats …….……..38
3. Discussion …….……...41
Conclusion générale ……....…….42
La bibliographie ..……...……..43

Liste des figures

Figure 1. Planche d'illustration d'*A. campestris* par Carl Axel Magnus Lindman.....5

Figure 2. Structure chimique générale des flavonoïdes.....8

Figure 3. Structure de base des flavones vrais.....8

Figure 4. Structure de base des flavonol.....9

Figure 5. Structure de base des flavanones.....9

Figure 6. Structure de base des dihydroflavonols.....10

Figure 7. Structure de base des chalcones.....10

Figure 8. Structure de base des coumarines.....11

Figure 9. Structure de base des coumarines.....11

Figure 10. Structure de base 6,7 furocoumarines.....12

Figure 11. Structure de base 7,8 furocoumarines.....12

Figure 12. Structure de base des pyranocoumarines.....13

Figure 13. Structure de base des tanins galliques.....14

Figure 14. Structure de base d'acide ellagique.....14

Figure 15. Structure de base des tanins condensés.....14

Figure 16. Montage d'extraction des huiles essentielles d'après la Pharmacopée Européenne.....18

Figure 17. Photo d'*Artemisia campestris* L. de la région de Batna.....19

Figure 18. Feuille découpée d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire.....21

Figure 19. Feuille simple d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire.....21

Figure 20. Fleur d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire.....22

Figure 21. Une coupe transversale de tige *d'A.campestris* sous le microscope optique a Gx10.....22

Figure 22. Une coupe transversale de tige d'*A. campestris* l'entouré par cercle sous le microscope optique a Gx40.....23

Figure 23. Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris* présente les vaisseaux conducteurs sous le microscope optique a Gx10.....23

Figure 24. Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris* présente les stomates sous le microscope optique a Gx40. 24
Figure 25. Dispositif d'hydrodistillation des HE.....26
Figure 26. Montage de la plaque CCM dans la cuve …….....28
Figure 27. Photo de la plaque CCM après la révélation.....31
Figure 28. Les solutions utilisées dans l'expérience.....36
Figure 29. L'arrangement des souches bactériennes dans la microplaque d'Elisa.....37
Figure 30. Les souches bactériennes dans microplaque d'Elisa traité par l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* après incubation.....38

Liste des tableaux

Tableau 1. Systématique de la plante selon Cronquist 1981……..….....3

Tableau 2. Noms vernaculaires d'armoise rouge dans certains pays…….....4

Tableau 3. Teneur totale en composés phénoliques de la plante……...6

Tableau 4. Quelques exemples sur les flavones vrais……9

Tableau 5. Quelques exemples sur les flavanols……...……9

Tableau 6. Quelques exemples sur les flavanons…….....10

Tableau 7. Quelques exemples sur les génines des coumarines…….11

Tableau 8. Quelques exemples sur les hétérosidesdes coumarines…….12

Tableau 9. Quelques exemples sur les 6, 7 furocoumarines…….……..….12

Tableau 10. Quelques exemples sur les 7, 8 furocoumarines…….…...…..…13

Tableau 11. Quelques exemples sur les pyrannocoumarines……...13

Tableau 12. Le volume d'huile essentiel d'*Artemisia campestris* obtenue par l'hydrodistillation……..29

Tableau 13. Les Rfs des composés chimiques révélés……...…….31

Tableau 14. Résultats de l'extraction de l'huiles essentielles l'*Artemisia campestris* dans les différentes régions algériennes (Djelfa, Tlemcen, Batna), France et Tunisie……...…32

Tableau 15. Liste des bactéries utilisés dans l'étude……...……...……..…...35

Tableau 16. Résultats de l'effet d'huile essentiel d'AC sur les trois bactéries ……...39

Tableau 17. Comparaison des CMI des antibiotiques par rapport aux CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* des trois souches bactériennes ATCC par méthode microdilution en milieu liquide …….…...39

Liste des abréviations

AC	*Artemisia campestris.*
A. campestris	*Artemisia campestris*
ATCC	American Type Culture Collection.
B. subtilis	*Bacillus subtilis*
C. albicans	*Candida albicans*
CCM	Chromatographie sur couche mince.
CFU	Colony forming unit
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
Da	Dalton
E. coli	*Escherichia coli*.
E	Etamine.
Elisa	Enzyme-Linked immunoassay
HE	Huile essentielle
m/m	masse / masse
MHLAC	Muller Hinton liquide ajusté en cations
P. aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*.
Sacc. Cerevisiae	*Saccharomyces cerevisiae*
S. aureus	*Staphylococcus aureus*.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

L'existence de système de médecine à base des plantes peut être attestée depuis le Paléolithique moyen, il y a près de 60 000 ans , et parmi les civilisations anciennes ayant fait grand usage des plantes pour se soigner figurent bien entendu les Chinois et les Egyptiens **(1)**.

Le fondement de la pharmacologie moderne est issu de toutes ces connaissances sur les médecines à base de plantes. Actuellement, environ 25 % des médicaments modernes sont développés à partir des plantes **(2).**

Cependant, le processus d'obtention d'un médicament à partir d'une plante reste complexe, avec de nombreuses étapes telles que l'identification du composé d'intérêt (tests *in vitro* et *in vivo*, fractionnement bioguidé), l'optimisation de ce composé (hémisynthèse, chimie combinatoire et médicinale), le développement du produit (études toxicologiques, pharmacologiques, pharmacocinétiques…) pour obtenir un candidat médicament, et enfin les essais cliniques. La durée de ce processus peut-être estimés à 10 ans environ, et son coût à plus de 800 millions de dollars **(3).**

L'Algérie, de parte sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité des plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des intérêts thérapeutiques. On compte environ 3000 espèces des plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques **(4)**

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, (Chih) ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia campestris*. Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée, etc. a constitué le sujet de plusieurs études qui font déterminer leurs compositions chimiques ainsi que les propriétés biologiques **(5).**

Dans ce cadre, nous allons essuyer de mettre en lumière une espèce proliférant dans la région de Batna, il s'agit d'*Artemisia campestris* L. dont les objectifs essentiels sont d'effectuer :

- Un contrôle botanique d'*A. campestris* (contrôle macroscopique et microscopique).
- Etude phytochimique de l'huile essentielle de la plante.
- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle.

Dans le contexte de la réalisation de ces objectifs; notre mémoire se répartie en deux parties :

- **Partie bibliographique** : elle est subdivisée en deux chapitres (Chapitre **I :** présentation de la plante *Artemisia campestris* L., Chapitre **II :** Généralités sur les métabolites secondaire d'*Artemisia campestris* L.)
- **Partie expérimentale** elle est répartis en trois chapitres (Chapitre **I :** Etude botanique d'*Artemisia campestris* L., Chapitre **II :** Extraction et Analyse de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L., Chapitre **III :** Activités Antibactérienne).

Partie Bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante

Artemisia campestris L.

1 . Généralités

L'Artemisia est un genre vaste et diversifié avec environ 400 espèces appartenant à la famille des Astéracées **(6).**

L'*Artemisia campestris* L. appartient au genre *Artemisia* de la famille des *Astéracées* qu'elle est utilisée dans la médecine traditionnelle comme hypoglycémiques, cholagogues, cholérétiques, digestives, dépuratives, antilithiasiques, et pour le traitement de l'obésité et la diminution du cholestérol. Elle était utilisée en décoction comme antivenin, anti-inflammatoire, antirhumatismale et antimicrobienne **(7).**

2 . Systématique de la plante

La classification botanique de la plante *Artemisia campestris* L. se présente dans **le tableau 1.**

Tableau 1. Systématique de la plante selon Cronquist 1981 **(8)**.

Règne	*Plantae*
Sous règne	*Tracheobionta*
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Sous classe	*Asteridae*
Ordre	*Asterales*
Famille	*Asteraceae*
Genre	*Artemisia*
Espèce	*Artemisia campestris* L. 1753

3 . Nom vernaculaire

Cette plante est connue par plusieurs noms vernaculaires qui sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. noms vernaculaires d'armoise rouge dans certains pays**.(9)**

Pays	**Nom vernaculaire**
Algérie	**Taguq, Tguft, Degoufet, Tadjuq, Tedjok, Alala, Hellala, Tamemmayt, Um nefsa**
Morocco	**Allal, Chih lakhrissi**
Tunisie	**Dguft, Tgouft**
Libye	**Sc'ahâl, Togoft, Tegoft, Taghert, Tâghiat, Teghoch**
Spain	**Escoba de río, Mojariega, Tomillo, GranilloPegano Salsoletea**
Italie	**Tammarice**

4 . Description botanique

A. campestris L. est un sous-arbrisseau vivace, qui peut atteindre 30-150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées et ascendantes qui forment une panicule ; il est généralement rouge brunâtre et glabre, et acquiert une forme lignifiée dans la partie inférieure et une forme pubescente au sommet.

Les feuilles sont vertes, séreuses quand elles sont jeunes, souvent glabres à maturité ; les feuilles basales sont 2-3 pinnatisées, pétiolées ou même auriculées, les supérieures sont les plus simples.

La plante possède une inflorescence composée : le capitule, ovoïde et hétérogène, contenant 8 à 12 fleurs, organisées sur des réceptacles convexes et glabres, et entourées de bractées glabres involucrées organisées en plusieurs rangées.

Les fleurs rayonnantes sont femelles, pistillées et fertiles, tandis que les fleurs discoïdales sont stériles, et fonctionnellement mâles avec des ovaires abortifs réduits. Les fleurs mâles sont tubulaires, jaunâtres, sans calice, avec 5 pétales fusionnés et 5 étamines fusionnées, avec la

présence de sacs sécrétoires sur les lobes de la corolle des fleurs disques Le fruit est un akène ovoïde dépourvu de pappus **(9)**.

.

Figure 1. Planche d'illustration d'*A. campestris* par Carl Axel Magnus Lindman **(10)**.

5 . Origine et distribution

Les données géologiques complétées par des données phytogéographiques suggèrent que le genre *Artemisia* L. est originaire des zones arides ou subarides existantes d'Asie tempérée au milieu du Cénozoïque **(11).**

Cette plante peut l'on trouve dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord, dans la plupart des régions d'Europe , l'Asie et le bassin méditerranéen **(12).**

6 . Composition chimique

Le criblage phytochimique de cette plante a révélé la présence des tanins, des polyphénols, des flavonoïdes, des saponosides et des huiles essentielles. **(5)**

Les variations chimiques de l'huile essentielle des parties aériennes d'*Artemisia campestris* var. glutinosa ont été étudiées par la récolte du matériel végétal à chaque état phénologique (végétatif, avant anthèse, pleine floraison et portant des graines) qui est analysé par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS) ; ces huiles essentielles ont permis d'identifier 51 composants **(13).**

Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* contient **les monoterpènes** (qui représentent 86.4% de H.E) et **les sesquiterpènes** (qui représentent 12.7% de H.E) ; les constituants de l'huile essentielle les plus abondants de cette espèce sont : β-pinene (41.1%) , p-cymene (9.9%) , α-terpinene (7.9%), qui représentent plus de 58% de l'huile essentielle **(14).**

Les acides phénoliques qui contient dans l'*Artemisia campestris* sont : l'acide caféique et caféine-D-glucose **(15).**

Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont: **les flavones** (l'apigénine, la lutéoline, la chrysine, la 6-hydroxylutéoline, eupatiline), **les flavonols** (quercétine, kaempférol, myricétine, kaempférol rhamnoside, rutine, rhamnetine, hyperoside, isorhamnetine), **Les flavanones** (naringénine, hespéridine, pinocembrine, sakuranetine, ériodictyol) **(16).**

Cinq coumarines ont été identifiées chez *Artemisia campestris* qui sont : hydroxycoumarine, esculétine , fraxidine, Scopoline et la scopolétine **(17).**

Tableau 3. Teneur totale en composés phénoliques de la plante **(18)**

Plante	**Phénols totaux (a)**	**Flavonoïdes (b)**	**Dérivés hydrox cinnamiques (c)**	**Dérivés hydrox benzoïques (d)**
Artemisia Campestris	103.4	5	95	0

a: mg EAG/g ps, **b** : EQ(m/m), **c** : EAC (m/m), **d** : EAG (m/m).

La plante d'*Artemisia campestris* contient aussi les tanins condensés dans leurs feuilles **(19).**

7 . Activités biologiques

7.1 Activité antioxydante

Les études in vivo ont confirmé que l'*Artemisia campestris* possède une activité anti-oxydante par son extrait aqueux qu'elles ont révélé un effet antioxydant considérable. Cet effet s'est

traduit par l'inhibition de la peroxydation lipidique et l'inhibition de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique (TBARS), suivies d'une amélioration des activités enzymatiques antioxydantes comme la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GSH- Px), dans les reins, le foie et le cerveau **(20)**.

7.2 Activité antimicrobienne

Les études de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de cette plante sur deux espèces bactériennes à Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), deux espèces bactériennes à Gram négatif (*Escherichia. coli*, *Pseudomonas. aeruginosa*), deux espèces de levures (*Saccharomyces Cerevisiae*, *Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus niger*) ont montré que l'*Artemisia campestris* présente une très forte activité antibactérienne et notamment contre la moisissure **(21)**. En outre, **Ghlissi Z. et *al.*** ont montré que l'extrait aqueux des feuilles d' *Artemisia campestris* possède une activité antibactérienne faible par rapport aux extraits méthanoïques **(22).**

7.3 Activité anti-inflammatoire

L'administration de l'huile essentielle d'*A. campestris L.* aux souris injecté par voie sous-cutanée avec le venin ophidien *Cerastes cerastes* sur la patte droite, neutralisé l'effet inflammatoire dû à l'envenimation, et donc la réduction de l'effet œdémateux sur la patte **(23).**

De plus, les flavones 2 ', 4', 5,7-tétrahydroxy-5 ', 6-diméthoxyflavone et cirsiliol extraits des feuilles de *A. campestris* L. ont exprimé la plus forte activité anti-inflammatoire, révélée par l'activité anti-lipoxygénase respective de 46,85 et 48,51%, qui sont considérés comme activité modérée que l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) (54,0%) **(24).**

7.4 Activité anti-hyperlipidémique

Des études antérieures ont rapporté l'effet antidiabétique de 200 mg / kg, intra-péritonéale de l'extrait aqueux, une fois administré aux rats diabétiques induit par l'alloxane. Cet effet a été évalué après 21 jours de traitement, par la réduction du glucose sérique (147 mg / dL), simultanément à une augmentation du taux d'insuline sérique (30%), en plus d'une baisse de 63% du taux de glucose après 2 heures du test de tolérance au glucose **(25).**

Chapitre II

Généralités sur les métabolites secondaires d'*Artemisia campestris L.*

1 . Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont un groupe de petites molécules caractérisées par leurs structures ayant au moins une unité phénol. En fonction de leurs structures chimiques, les composés phénoliques peuvent être divisés en différents sous-groupes, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les quinones, les stilbens et les curcuminoïdes **(26).**

Ils sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants chez les végétaux, avec plus de 8 000 structures phénoliques actuellement connues **(27).**

1.1 Les flavonoïdes

1.1.1 Définition

Les flavonoïdes sont des pigments hydrosolubles représentent une classe de phénylpropanoïde de métabolites secondaires des végétaux, ces pigments colorent les fleurs et les autres parties des plantes **(28, 29)**.

.

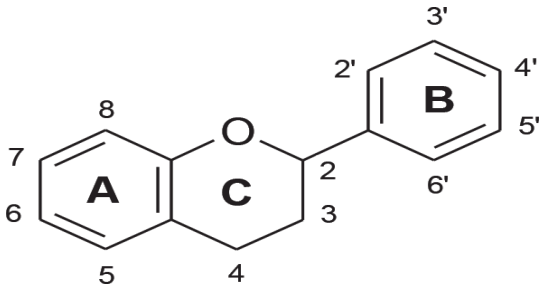

Figure 2. Structure chimique générale des flavonoïdes **(28, 29)**

Aujourd'hui, plus de 4000 types de flavonoïdes ont été identifiés ou synthétisés **(30).**

1.1.2 Structure chimique et classification des flavonoïdes

1.1.2.1 Les flavones vrais

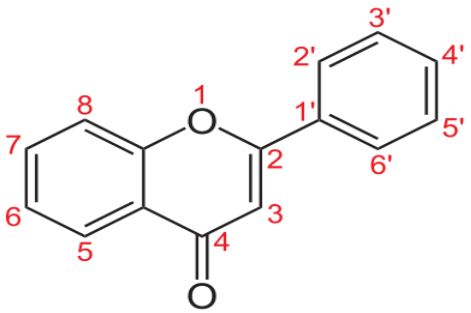

Figure 3. Structure de base des flavones vrais **(31)**

Tableau 4. Quelques exemples sur les flavones vrais (**31**)

	5	6	7	4’
Apigénine	OH	-	OH	OH
Lutéoline	OH	-	OH	-

1.1.2.2 Les flavanols possédant un OH en C 3

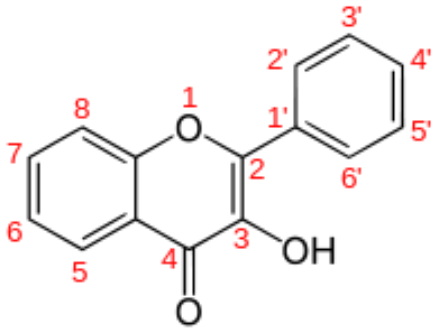

Figure 4. Structure de base des flavonol (**31**)

Tableau 5. Quelques exemples sur les flavanols (**31**)

	5	7	3’	4’	5’
Quercétine	OH	OH	OH	OH	-
Kaempférol	OH	OH	-	OH	-
Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH

1.1.2.3 Les flavanones ne comportant pas de double liaison en 2-3.

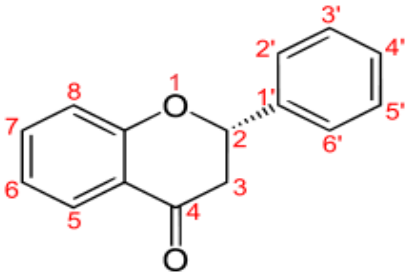

Figure 5. Structure de base des flavanones (**31**)

Tableau 6. Quelques exemples sur Les flavanones (**31**)

	5	7	3’	4’
hesperetin	OH	OH	OH	OCH_3
naringenin	OH	OH	-	OH

1.1.2.4 Les dihydroflavonols

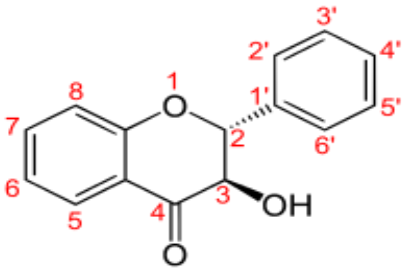

Figure 6. Structure de base des dihydroflavonols (**31**)

1.1.2.5 Les chalcones le cycle pyronique est ouvert.

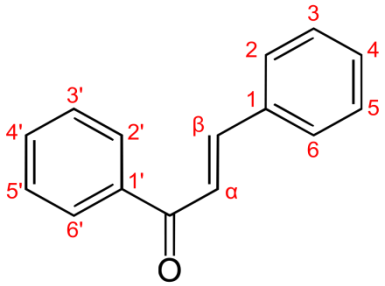

Figure 7. Structure de base des chalcones (**32**)

1.1.3 Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont des activités biologiques étendues qui promouvent la santé humaine et aident à réduire le risque des maladies, parmi ces activités sont : l’activité antioxydante, l’activité hépatoprotectrice, l’activité antibactérienne, l’activité anti-inflammatoire, l’activité anticancéreuse et l’activité antivirale (**33**).

1.2 Les coumarines

1.2.1 Définition

La coumarine est un métabolite secondaire largement répandu qui se produit naturellement dans plusieurs familles des plantes, le nom de cette famille chimique est dérivé de *Coumarouna odorata Aube* (*Dipteryx odorata*), dont a été isolé, pour la première fois, le noyau coumarine correspond au benzo-α- pyrone (**34**).

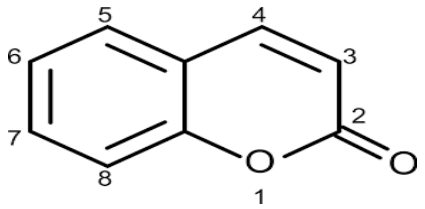

Figure 8. Structure de base des coumarines (34)

1.2.2 Structure chimique et classification des coumarines

1.2.2.1 Les coumarines simples

Dans ce type une très grande variété de dérivés naturels proviennent de la substitution des atomes d'hydrogène (dans les positions 5 à 8) par des radicaux OH ou OCH, ou d'une façon générale OR (**35**).

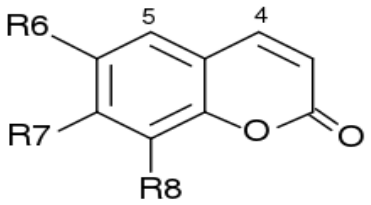

Figure 9. Structure de base des coumarines (**35**).

Tableau 7. Quelques exemples sur les génines des coumarines (**35**).

	R6	R7	R8
Ombelliférone	H	OH	H
esculétine	OH	OH	H
scopolétine	OCH_3	OH	H
fraxidine	OCH_3	OCH_3	OH

Tableau 8. Quelques exemples sur les hétérosides des coumarines (**35**)

	R6	R7	R8
scopoline	OCH_3	O-Glu	H
Fraxoside	OCH_3	O-Glu	OH
Esculoside	O-Glu	OH	H

1.2.2.2 Les coumarines complexes

On distingue :

- furocoumarines (ou furanocoumarines) :
  - ❖ 6,7 furocoumarines (linéaire)

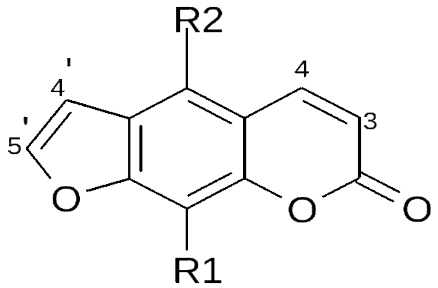

Figure 10. Structure de base 6,7 furocoumarines (**36**)

Tableau 9. Quelques exemples sur les 6,7 furocoumarines (**36**)

	R1	R2
Psoralène	H	H
Xanthotoxine	OCH_3	H

  - ❖ 7,8 furocoumarines (angulaire)

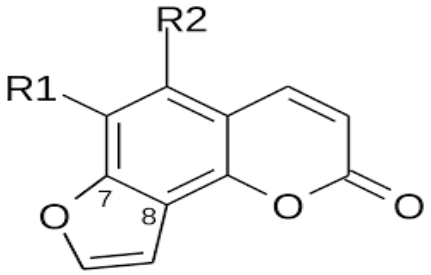

Figure 11. Structure de base 7,8 furocoumarines (**36**)

Tableau 10. Quelques exemples sur les 7,8 furocoumarines (**36**)

	R1	R2
Angélicine	H	H
Pimpinelline	OCH_3	OCH_3

- Les pyrannocoumarines :

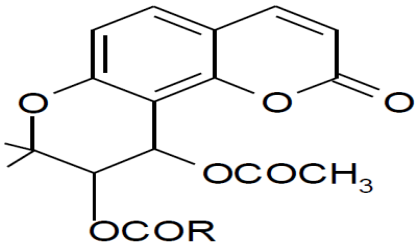

Figure 12. Structure de base des pyranocoumarines (**36**)

Tableau 11. Quelques exemples sur les pyrannocoumarines (**36**).

	R
Samidine	H
Visnadine	OCH_3

1.2.3 Activités biologiques des coumarines

La diversité structurelle conduit à de multiples activités pharmacologiques. Ces différentes activités pharmacologiques des coumarines comprennent :l'activité antituberculeux - l'activité antidiabétique - l'activité anti-VIH - l'activité anticanceureux - l'activité anti-inflammatoire - l'activité antioxydante - l'activité antidépresseur et l'activité antimicrobienne (**37**).

1.3 Les tanins

1.3.1 Définition

Les tanins sont définis comme des composés phénoliques de haut poids moléculaire allant de 500 Da à plus de 3000 Da qu'ils ont trouvés dans les feuilles, l'écorce, les fruits, le bois et les racines des plantes situés essentiellement dans les vacuoles (**38**).

1.3.2 Structure chimique et classification des tanins

1.3.2.1 Les tanins hydrolysables

1.3.2.1.1 Les tanins galliques

Ils sont les tanins hydrolysables les plus simples, contenant un résidu polyphénolique et un résidu polyol, la plupart des tanins galliques isolés des plantes contiennent un résidu de polyol dérivé du D-glucose.

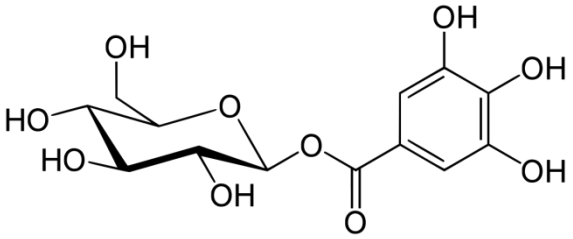

Figure 13. Structure de base des tanins galliques (**39**)

1.3.2.1.2 Les tanins ellagiques

Ils sont formés à partir des tanins galliques par l'oxydation couplage d'au moins deux unités galloyl liés via le 4, 6 ou les positions 2, 3 de leur unité D-glucosyle (**39**).

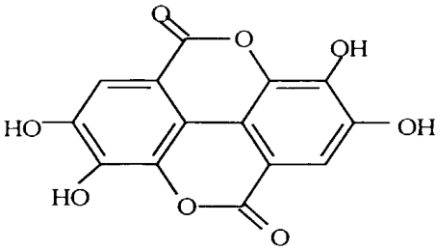

Figure 14. Structure de base d'acide ellagique (**39**)

1.3.2.2 Les tanins condensés

Ils sont des proanthocyanidines oligomères et polymères constituées de flavan-3-ol couplés (catéchine) (proanthocyanidines oligomères ou polymères = proanthocyanidines condensées = tanins condensés) (**39**).

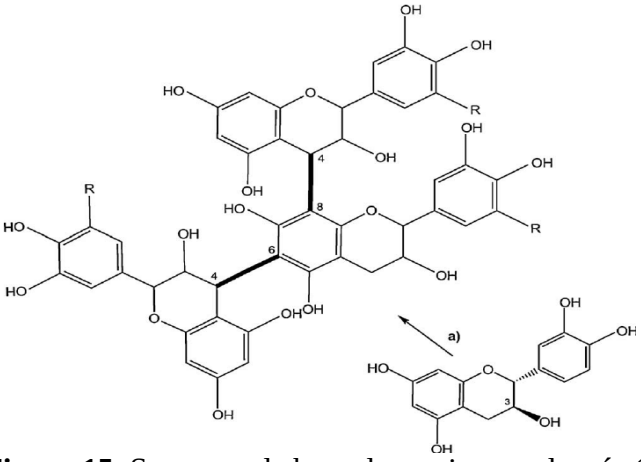

Figure 15. Structure de base des tanins condensés (**39**)

1.3.3 Activités biologiques des tanins

Les tanins possèdent plusieurs activités biologiques et pharmacologiques qui sont : l'activité antioxydant, l'activité anticancéreuse, l'activité antimicrobienne, l'activité cardioprotectrice et l'activité antidiabétique (**40**).

2 Les huiles essentielles

2.1 Définition

Les huiles essentielles appelées couramment essences, sont des substances odorantes volatiles contenues dans les végétaux (**41**).

La pharmacopée européenne définit l'huile essentielle comme un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche soit par un procède mécanique approprie sans chauffage.(**42**)

Les huiles essentielles sont utilisées dans de nombreux domaines comme : la pharmacie, la parfumerie ainsi qu'en l'aromathérapie (**43**).

2.2 Etat naturel, répartition et localisation

Les HE existent seulement chez les végétaux supérieur : environ 17 500 espèces des plantes dont la plupart appartiennent aux familles : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae et Piperaceae (**44**).

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (**45**).

Il existe en fait quatre structures sécrétrices :

Les cellules sécrétrices : Chez les Lauracées et les Zingibéracées.

Les poils glandulaires épidermiques : Chez les Lamiacées, Géraniacées… etc.

Les poches sphériques schizogénes : Les glandes de type poche se rencontrent chez les familles des : Astéracées, Rosacées, Rutacées, Myrtacées, … etc.

Les canaux glandulaires schyzolysigènes : On les retrouve chez les Conifères, Ombellifères, … etc.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité

extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des kifles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**46**).

2.3 Chimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils et semi-volatils, il appartiennent essentiellement à 2 groupes caractérisés par des origines biogénitiques distinctes :

- Le groupe des **terpénoïdes** : monoterpènes et sesquiterpènes.
- Le groupe **des composés aromatiques** dérivés du phénylpropanes.

2.3.1 Terpénoïdes

Les terpènes les plus souvent retrouvés dans les huiles essentielles sont les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$).

La biosynthèse des terpènes implique deux précurseurs universels: l'isopentényl pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP).

La prénylation ou couplage tête à queue des unités d'IPP permet :

La formation des monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)

La formation des sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)

2.3.1.1 Les monoterpènes

Les monoterpènes peuvent être trouvés dans presque toutes les huiles essentielles et sont les constituants les plus représentatifs, atteignant environ 90% de nombreuses huiles .Ils sont formés par la fixation de deux unités isoprène (10 atomes de carbone et au moins une double liaison). Ces composés pevent être : acyclique , monocyclique ou bicyclique.

2.3.1.2 Les sesquiterpènes

Ce sont des composés en C15 : monocyclique ou polycyclique de volatilités plus faibles et des points d'ébullition plus élevés que les monoterpènes.

2.3.2 Composés aromatiques

Ce sont des phénylpropanoïdes contiennent une ou plusieurs unités C6-C3. Ils sont moins fréquants que les terpénoïdes

De nombreux phénylpropanoïdes présents dans les huiles essentielles sont des phénols ou des éthers de phénol (**47**).

2.4 Propriétés physico-chimiques

- Généralement sont des liquides lucides et mobiles à température ambiante.
- La majorité des HE sont incolores ou jaune pâle, bien que quelques-unes soient profondément colorées (**48**).
- Ce sont des huiles volatiles.

- Un indice de réfraction élevé et une rotation optimale, résultant de nombreux composés asymétriques.
- La densité relative des HE est généralement inférieure à celle de l'eau, mais plusieurs exceptions existent.
- Les HE sont généralement reconnus comme hydrophobes, mais ils sont largement solubles dans les graisses, les alcools et la plupart des solvants organiques.
- Ils sont sensibles à l'oxydation pour former des produits résineux par polymérisation (très artérables) (**49**).

2.5 Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont d'importantes sources de nouvelles molécules thérapeutiques et un grand nombre des HE peuvent être utilisées dans l'industrie médicinale.

De nombreuses études affirment que les propriétés biologiques des HE et de leurs composants aromatiques ont des effets pharmacologiques, notamment :

Effets antimicrobiens, antiviraux, antibactériens, antifongiques, insecticides, antioxydants, anticancéreux, antimutagènes, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antihypertenseurs, vagolytiques, immunomodulateurs et antiprotozoaires.(**50**)

2.6 Méthodes d’extraction des huiles essentielles

Il y a plusieurs méthodes conventionnelles d’extraction des huiles essentielles comme l’expression du froid, l’extraction de solvants, la méthode "Enfleurage", et principalement l’hydro-distillation. Cette dernière méthode d'extraction la plus couramment utilisée est la distillation de la vapeur de l'eau (**figure 16**). Ce processus d'extraction peut durer entre 1 et 10 h. La quantité d’huile produite dépend de la durée de la distillation, de la température, de la pression et du type de matière végétale.

Au cours de la distillation, les matières végétales sont exposées à l'eau bouillante ou à la vapeur d'eau afin de libérer l'huile essentielle qu'elles contiennent par évaporation. Lorsque la vapeur d'eau et les vapeurs d'huile essentielle sont condensés, on les récupère. (**51**).

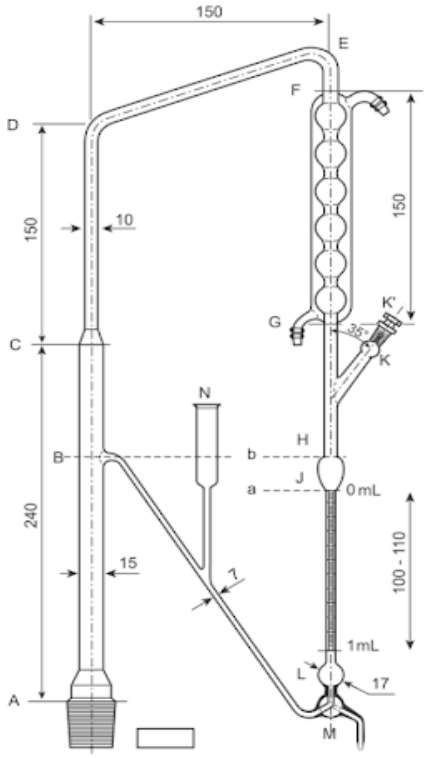

Figure 16. Montage d’extraction des huiles essentielles d'après la Pharmacopée Européenne(**51**).

Partie Expérimentale

Chapitre I

Etude Botanique d'*Artemisia campestris* L.

1 Matériels et Méthodes

1.1 Matériels

1.1.1 Matériel végétal

La partie aérienne de d'*Artemisia campestris* L. (armoise rouge) a été récoltée manuellement à la saison d'automne (Octobre-Novembre) 2021 à partir de la région Batna (Est de l'Algérie). Les feuilles et les tiges de la plante sont séchées à l'air, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante puis conservées dans des sacs en papier jusqu'à l'utilisation.

Figure. 17. Photo d'*Artemisia campestris* L. récolté de la région de Batna

1.1.2 Matériel du laboratoire

1.1.2.1 Appareils

- Microscope optique (ZEISS).

-Loupe (MoticSMZ-140 SERIES).

- Appareil photo.

1.1.2.2 Matériel consommable

- Lame et lamelle.

- Pissette.

-Tamis.

- Pince.

- Verre de montre.

1.1.2.3 Réactifs et solutions

- NaOH.

- Vert de méthyle.

- Rouge de Carmen.

-Acide acétique.

1.2 Méthode d'étude botanique

Des coupes ont été réalisée sur les feuilles et les tiges d'AC pour l'étude histologique et anatomique par la technique de double coloration.

Mode opératoire

Des coupes transversales aussi fine que possible sont réalisées sur les feuilles et les tiges à l'aide d'un rasoir et mises dans un tamis, puis placées dans un milieu contenant l'eau de javel pendant 15 min, ensuit elles sont mises dans une solution d'Hydroxyde de Sodium NaOH à 5% pendant 30 secondes.

Après, les coupes sont placées dans l'acide acétique pendant 30 secondes, et traitées directement par le vert de méthyle pendant 1 min.

Entre chaque étape des différents milieux, les coupes sont lavées par l'eau distillée.

Ensuite elles sont traitées par le rouge de Carmin pendant 15 min, et rapidement lavée par l'eau distillée pour être introduites entre lame et lamelle après additionnement d'une goutte d'eau distillée.

Les coupes sont prêtes pour l'observation au microscope au Gx 10 puis Gx 40.

2 Résultats

2.1 Examen botanique macroscopique

2.1.1 La morphologie de la feuille

Les feuilles sont vertes et séreuses d'après l'observation binoculaires (**les figures 18 et 19**).

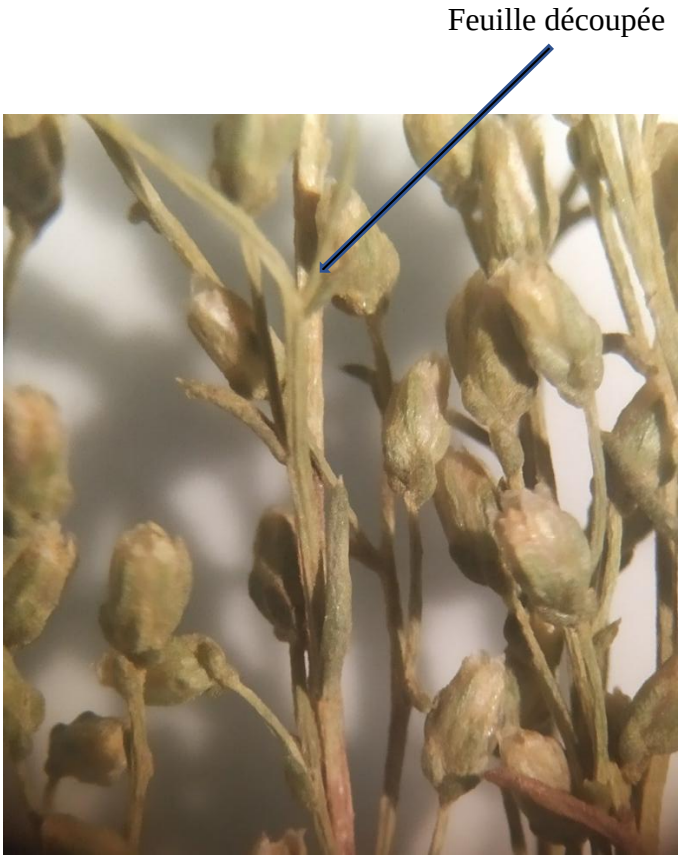

Figure 18. Feuille découpée d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire

Figure 19. Feuille simple d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire

2.1.2 La morphologie de la fleur

Les fleurs rayonnantes sont femelles, pistillées et fertiles comme il est illustrée dans la figure 20.

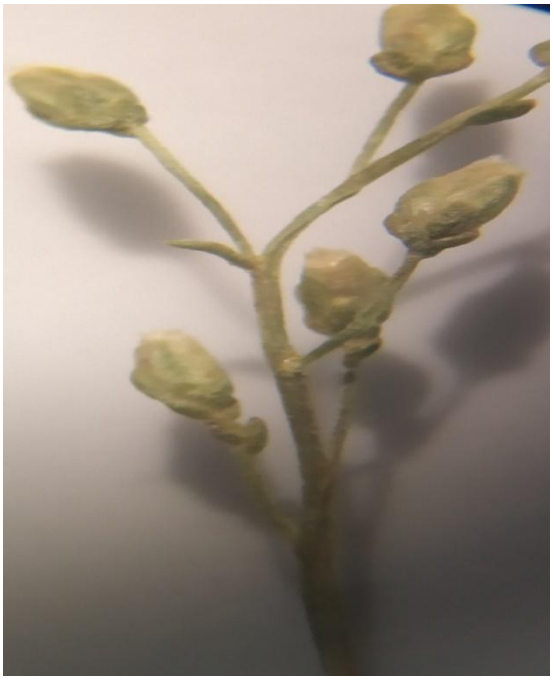

Figure 20. Fleur d'*A. campestris* L. sous la loupe binoculaire.

2.2 Examen botanique microscopique

L'observation sous le microscope optique pour les coups histologiques est montrée dans les photos ci-dessous :

2.2.1 Coupe histologique transversal au niveau de la tige

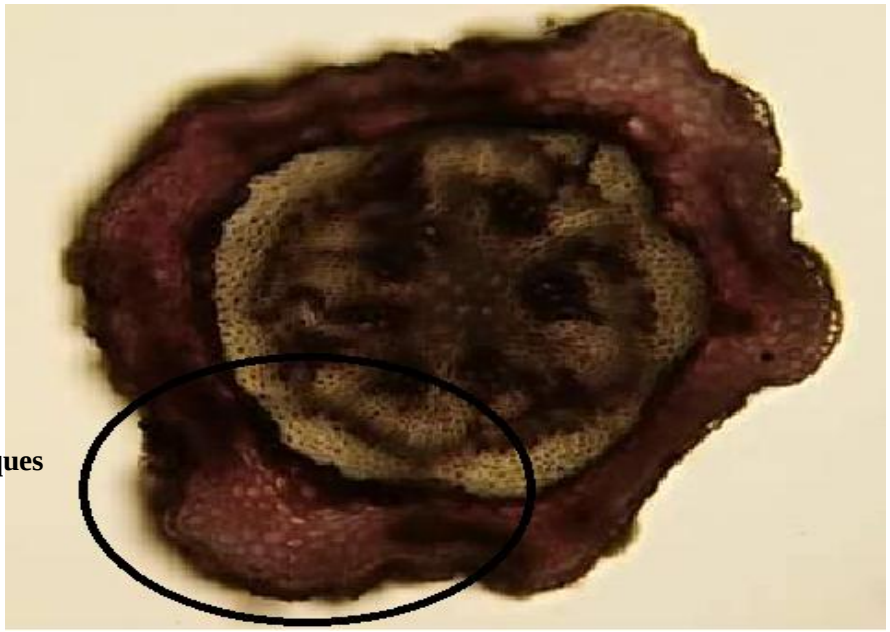

Figure 21. Une coupe transversale de tige *d'A. campestris* sous le microscope optique à Gx10.

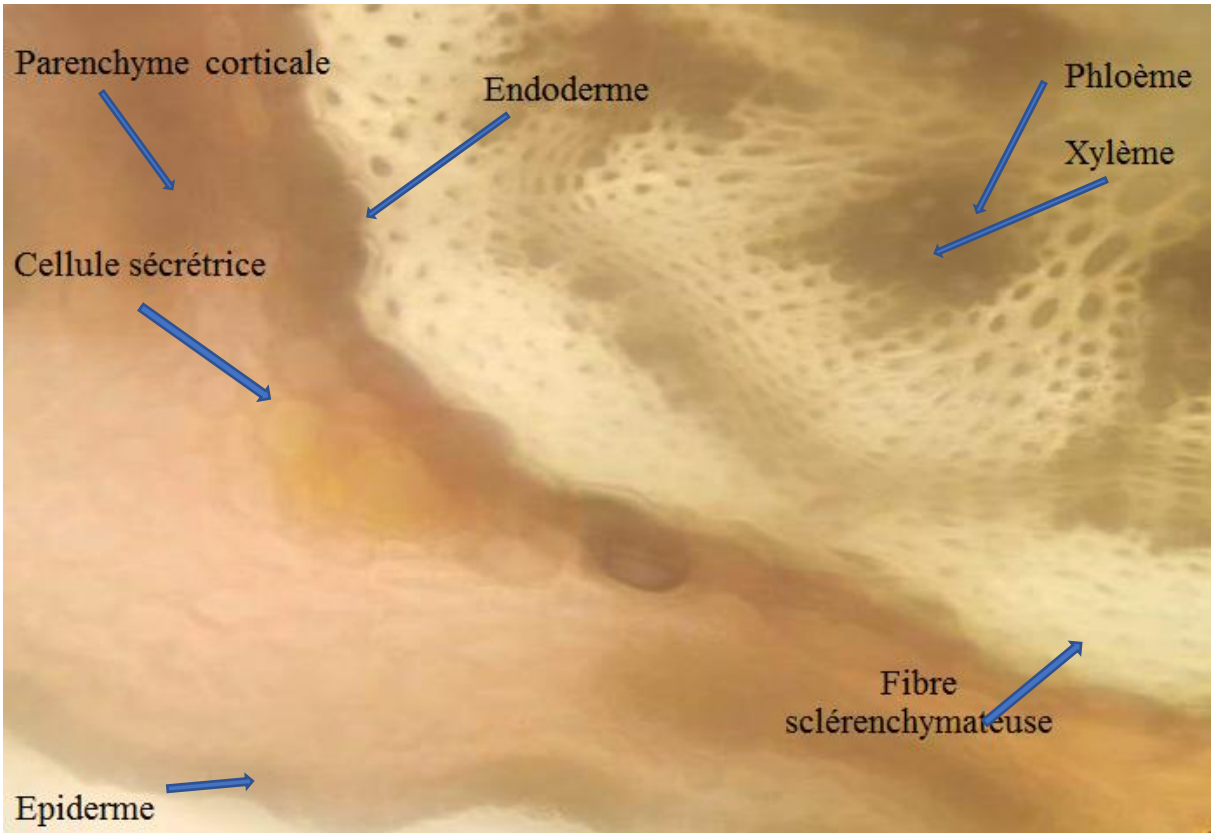

Figure 22. Une coupe transversale de tige d'*A. campestris* l'entouré par un cercle sous le microscope optique a Gx40.

2.2.2 Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris*

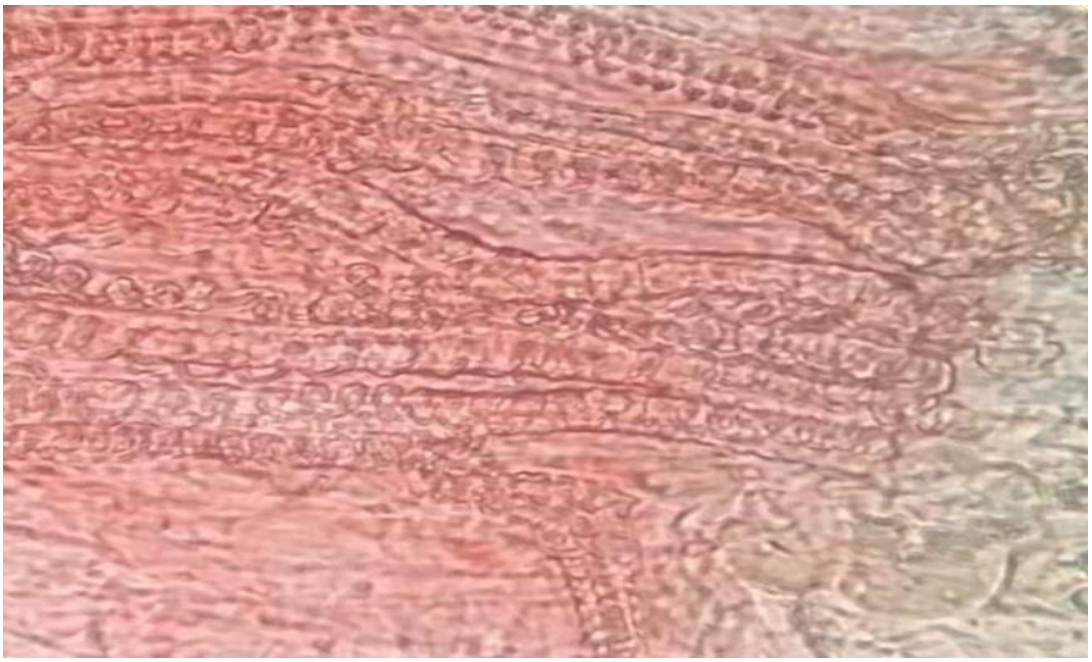

Figure 23. Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris* présente les vaisseaux conducteurs sous le microscope optique a Gx10.

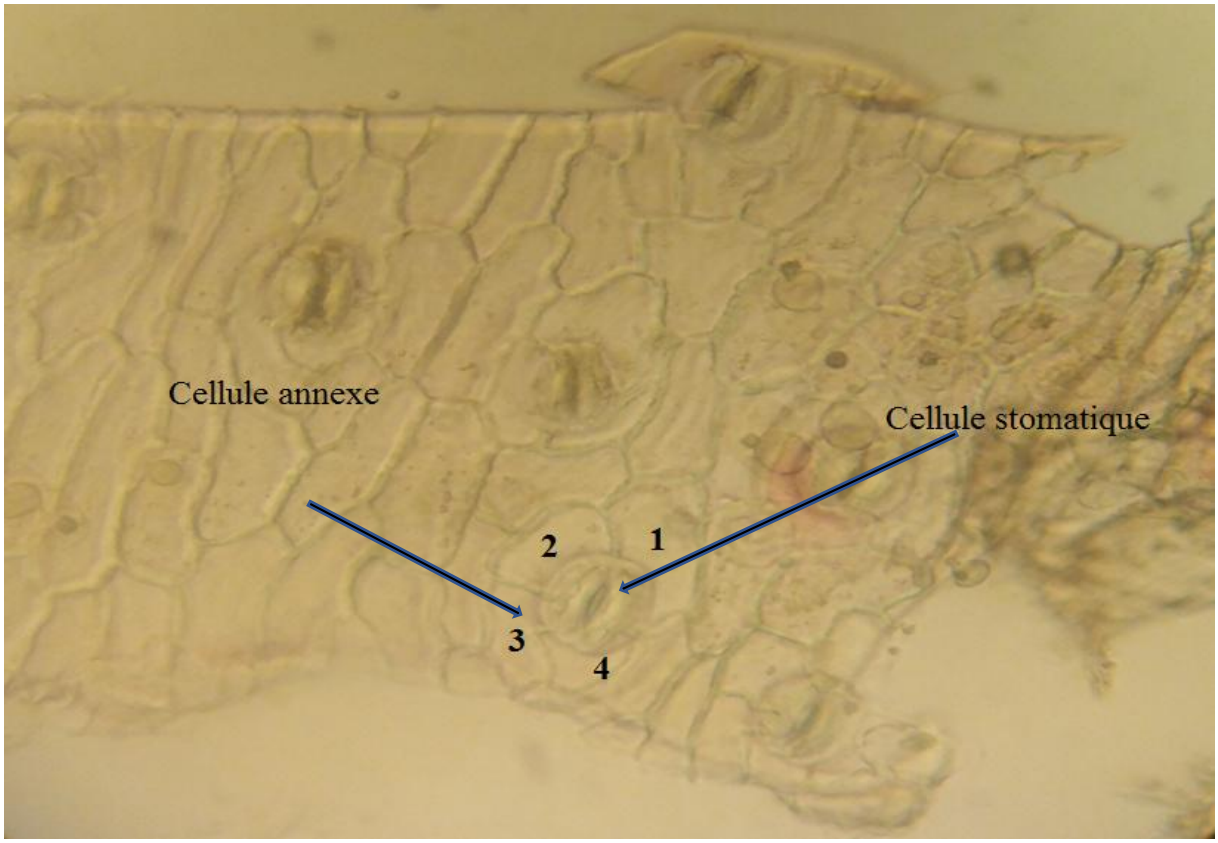

Figure 24. Débris d'épiderme de la feuille d'*A. campestris* présente les stomates sous le microscope optique a Gx40.

3 Discussions

Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques montrent que l'échantillon étudié fait partie de la famille des *asteraceae*.

Cette plante est une herbe annuelle.

Les feuilles sont vertes ou vert-brunâtre divisées en fines lanières, et elles sont divisées deux fois, les supérieures sessiles simples et les inférieures pétiolées découpées.

L'inflorescence de cette plante est en capitule terminale.

La tige est constituée de deux parties : l'écorce et le cylindre centrale

L'épiderme comprend une seule assise de cellules sans poils tecteurs et sécréteurs. Le parenchyme cortical est un parenchyme à méat.

Le cylindre central comprend des cellules scléreuses, des faisceaux de phloème et de xylème. La moelle est occupée par un parenchyme à méat.

Sur le plan microscopique, la présence des poches sécrétrices indique que cette plante est une plante aromatique (renferment des huiles essentielles).

Le type d'arrangement stomatique : Fragment d’épiderme avec quatre cellules annexes de tailles différentes entourant les cellules de gardes (aucun arrangement régulier), donc le type de stomate est anomocytique.

Chapitre II

Extraction et analyse de l’huile essentielle

1 Matériels et Méthodes

1.1 Matériels

1.1.1 Matériel végétal

La partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de la plante AC a été utilisé comme échantillon d'extraction.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée au niveau du laboratoire de département SNV par la méthode d'hydrodistillation.

1.1.2 Matériel du laboratoire

1.1.2.1 Montage d'extraction

L'extraction de l'huile essentiel d'*Artemisia campestris* (partie aérienne) a été réalisée à l'aide d'un dispositif d'extractions des huiles essentiels d'après la pharmacopée européenne (**52**)

La mise en place de ce montage est montrée dans la figure ci-dessous :

Figure 25. Dispositif d'hydrodistillation des HE.

1.1.2.2 Appareils

- Balance de précision (Sartorius)

- Plaque chauffante (Heidolph).

-Pompe (Fisher Biobleck Scientific).

-Bain marie (Bioblock 12L).

- Etuve(ECOCELL).

1.1.2.3 Verreries et matériels simple de laboratoire

-Installations des tuyaux.

- Ballons de 1L et 2L.

- Éprouvette graduée.

- Flacon en verre.

- Plaque CCM (Feuille en aluminium-SIL G UV254 Alugram R).

- Cuve et Couverture en verre.

-Capillaire en verre.

1.1.2.4 Réactifs et solutions

- Eluant acétate d'éthyle.

- Vanilline sulfurique.

1.2 Méthodes

1.2.1 Technique utilisé dans l'extraction de l'HE

Les HE ont été obtenues par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un dispositif d'extraction d'huile essentiel , la méthode appliquée est décrite dans la Pharmacopée européenne (**52**).

La durée de l'extraction est de 3 h. Le mélange est composé de matière végétale (partie aérienne de la plante) et l'eau distillée. 7 essais répétitifs dans les conditions opératoires optimales ont été effectués.

Le matériel végétal, baignant dans l'eau bouillante, est disposé dans un ballon à un cols et relié à un réfrigérant. La vapeur d'eau produite entraine les constituants volatils, qui après condensation dans le réfrigérant, sont recueillis dans le récipient de recette.

L'essence (l'huile) est ensuite récupérée dans un flacon en verre, hermétiquement fermés pour éviter toute dégradation de l'essence, les huiles essentielles sont sensibles pour la lumière, le flacon est conservé à basse température et à l'abri de la lumière.

La quantité d'essence obtenue est mesuré à chaque fois pour le calcul du rendement.

1.2.2 Technique utilisé dans CCM

- **Mode opératoire**

Des gouttes de l'huile essentielle sont placées à l'aide d'un capillaire au niveau de point de départ de la plaque CCM, ensuit la plaque est introduite dans une cuve étanche contenant l'éluant (acétate d'éthyle), qui se migre par capillarité sur la plaque, dans cette étape les constituant de l'essence se sépare différentiellement.

La plaque doit être séchée avant révélation, elle a été révélée par le réactif de la vanilline sulfurique, après l'avoir mis dans l'étuve à 100-105 C° pendant 1 min.

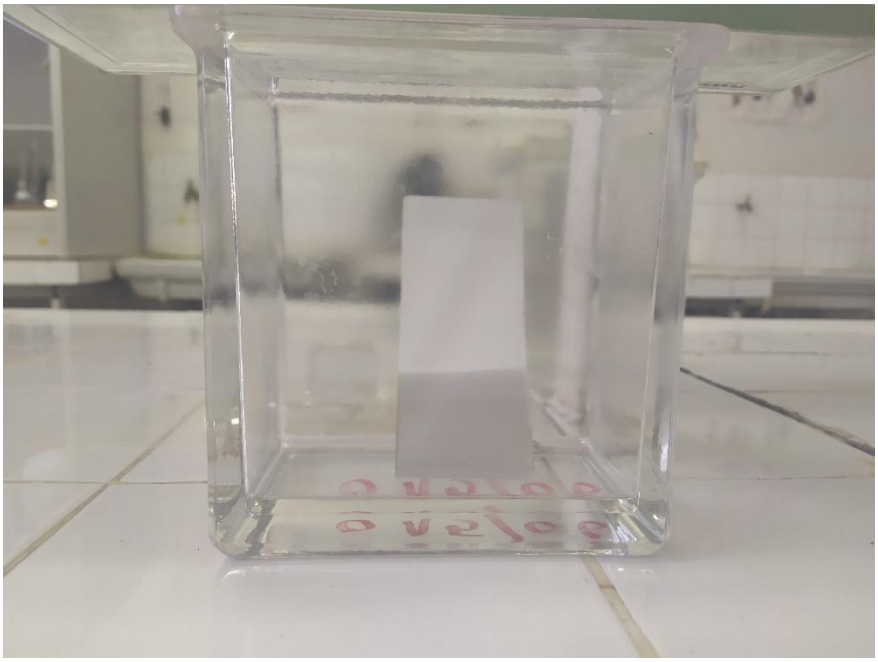

Figure 26. Montage de la plaque CCM dans la cuve

- **Facteur de retardement (Rf)**

La valeur du Rf est définie comme suit :

$$Rf = Di / Ds$$

Di : Distance parcourue par la substance.

Ds : Distance parcourue par le solvant.

2 . Résultats

2.1 Résultats d'extraction

L'huile essentielle obtenue à partir de la partie aérienne de la plante est de coloration jaune pâle, avec une odeur intense distinctif.

Le volume de l'huile essentielle obtenue à chaque fois est montré dans le tableau suivant :

Tableau 12. Le volume d'huile essentiel d'*Artemisia campestris* obtenue par l'hydrodistillation

La masse de la plante entracte	Nombre d'extraction	Le volume d'huile essentiel Obtenu	Le volume d'huile essentiel dans 1 kg
100 g de masse végétale dans 1litre d'eau distillé.	1ère	0.35 mL	3.5 mL
	2ème	0.42 mL	4.2 mL
	3ème	0.43 mL	4.3 mL
200 g de masse végétale dans 1.5 litre d'eau distillé.	1ère	0.97 mL	4.85 mL
	2ème	0.65 mL	3.25 mL
	3ème	0.9 mL	4.5 mL
	4ème	0.7 mL	3.5 mL

2.2 Rendement de l'extraction

Le rendement a été calculé comme mentionner par la formule suivante :

$$\bar{x} = \frac{\sum xi}{ni}$$

$\bar{x}$:la moyenne

xi : Le volume d'huile essentiel dans 1 kg

ni :effectif total

$$\boxed{\text{Le moyenne} = 4.014\ ml/kg}$$

Calcul de l'écarte type :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{ni}}$$

σ : l'écarte type

$\bar{x}$:la moyenne

xi : Le volume d'huile essentiel dans 1 kg (mL)

ni: effectif total

l'écarte type =0.6 ml/kg

Le rendement en huile essentielle est 4.014 ± 0.6 ml/kg

2.3 La densité de l'HE

100 µL d'huile essentielle après la pesée équivalent à 91.2 µg

La densité est calculée par cette relation :

$$d = \frac{\rho\ HE}{\rho\ eau} = \frac{91.2}{100} = 0.912$$

ρ HE est la masse volumique de l'huile essentiel.

ρ l'eau est la masse volumique de l'eau (1 000 kg·m^{-3}).

La densité de l'huile essentielle est 0.912

2.4 Résultats d'analyse CCM

La révélation par la vanilline sulfurique à permet d'apprécier 9 composés sans connaître sa nature chimique dont les facteurs de retardement sont les suivants :

Tableau 13. Les Rf des composés chimiques révélés.

Rf	Valeur
Rf 1	4.7/11.7 = 0.4017
Rf 2	5.4/11.7= 0.4615
Rf 3	6/11.7= 0.5128
Rf 4	6.9/11.7= 0.5897
Rf 5	8/11.7= 0.6837
Rf 6	8.4/11.7= 0.7179
Rf 7	9.2/11.7 = 0.7863
Rf 8	9.9/11.7=0.8461
Rf 9	10.5/11.7=0.8974

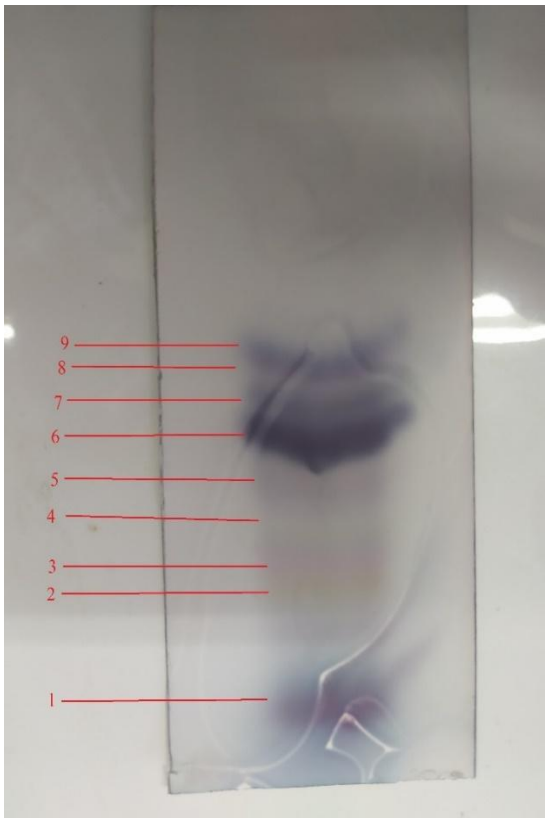

Figure 27. Photo de la plaque CCM après la révélation.

3 Discussion

3.1 Extraction de l'huile essentielle

Une comparaison des rendements de l'HE dont la méthode d'extraction c'est la même (hydro distillation) entre notre résultat extraction et quelques résultats des autres études sur l'*Artemisia campestris* dans les différentes régions Algérienne (Djelfa, Tlemcen, Batna), France et Tunisie est montrée dans le tableau suivant :

Tableau 14. Résultats de l'extraction de l'huiles essentielles d'*Artemisia campestris* dans les différentes régions algériennes (Djelfa, Tlemcen, Batna), France et Tunisie.

Régions	**Rendements (ml/kg)**	**Références**
Rendement obtenu	4.014 ± 0.06	/
Djelfa	3 / 2.9	(53)/ (55)
Tlemcen	2	(54)
Batna	2.2 / 5	(56) / (57)
France	3-7	(58)
Tunisie	6.5	(59)

3.2 Analyse CCM

La CCM de l'HE d'*A. campestris* a permet d'apprécier qualitativement 9 composés, par contre l'étude de **Harchi et *al.***(**57**) a permis de révéler la présence de 7 composés majoritaires.

Cette différence entre les rendements d'extractions et les différents résultats de CCM peut être attribuée aux nombreuses raisons dont :

- Influence des facteurs extrinsèques (les facteurs de l'environnement comme la température, l'humidité...etc.) et la période de récolte.
- Variations chimiotypes (races chimiques : morphologiquement homogène et caryologiquement stable)
- Influence du cycle végétatif (la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement)
- Influence du procédé de traitement de la plante avant l'extraction …etc.

4 Discussion

Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de la plante *A. campestris* est 4.014 ± 0.6 ml/kg, est un rendement acceptable par rapport aux différents rendements des régions algériens et aussi dans le monde.

La CCM de l'huile a montré la présence de 9 composes sans l'identification de ces composes,

C'est pour cela qu'il faut mener une étude détaillée sur les activités biologiques de cette huile pour montrer leur importance et la possibilité de leur exploitation dans certains domaines surtouts pharmaceutique.

Chapitre III

Activité antibactérienne

1 Matériels et Méthode

1.1 Matériels

1.1.1 Matériel végétal

Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.* précédemment extraites des parties aériennes de la plante.

1.1.2 Matériels du laboratoire

- Microplaque Elisa.
- Etuve Binder.
- Micropipette 100 µl CAPP Bravo réglable.
- Micropipette 5 -10 µl SCI LOGEX l réglable.
- Bec Bunsen.
- Becher.
- Boites pétries.
- Pissette.
- Tubes Sec.
- Anses de platine.
- Pipettes Pasteur en verre.
- Seringue à usage unique de 1 mL.
- Marqueur (Techno).

1.1.3 Réactifs et solutions

- Eau distillée.
- Eau physiologique.
- Gélose Muller-Hinton
- Gélose nutritive
- Tween 80.

1.1.4 Souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), qu'elles sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 15. Liste des bactéries utilisées dans l'étude

Bactéries	**Caractérisation**	**Références**
Escherichia coli (T. Escherich, 1885)	Bacille gram négatif	ATCC25922
Staphylococcus aureus (Rosenbach,1884)	Cocci gram positif	ATCC25923
Pseudomonas aeruginosa (Schroeter,1872 Migula ,1900)	Bacille gram négatif Oxydase positif	ATCC27853

Toutes ces souches sont aimablement fournies par le Laboratoire de Bactériologie, Centre anti cancer Batna.

1.2 Méthode

L'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia campestris* a été réalisée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en utilisant la technique de microdilution sur milieu liquide.

1.2.1 Définition de technique de microdilution successive en milieu liquide

Cette méthode consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé (10^6 CFU/mL) au contact de concentrations croissantes de l'HE d'*Artemisia campestris* selon une progression géométrique de raison de 2 (ex. 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 µg/mL, etc.). Après 18h à 24h d'incubation à 35°C. Cette sensibilité ou résistance aux HE est évaluée par la détermination de la CMI et de la CMB (**60**).

1.2.2 La Concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est la concentration la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée, et cette inhibition est visible à l'œil nu (absence de turbidité dans le tube) (**60**).

1.2.3 La Concentration minimale bactéricide (CMB)

C'est la concentration la plus faible capable d'entraîner la mort d'au moins 99,99 % des bactéries (<0,01% de survivants) (**60**).

1.2.4 Mode opératoire

1.2.4.1 Milieu de culture

Mueller-Hinton liquide avec 0.5 % Tween 80.

1.2.4.2 Préparation des suspensions bactériennes (inoculum)

Les souches ATCC *d'Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont repiquées sur une gélose nutritive à partir des précultures puis incubées à 37°C pendent 24 h avant l'utilisation.

À l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne sont raclées.

L'anse est déchargée dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9%, le contenu des tubes est mélangé pour obtenir une suspension bactérienne bien homogénéisée avec une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland.

La suspension bactérienne mère d'opacité 0,5 Mc Farland est diluée au 1/10ème pour distribuer un inoculum de 5 µg de germe dans chaque cupule.

L'inoculum ajusté est utilisé dans les 15 min suivant sa préparation.

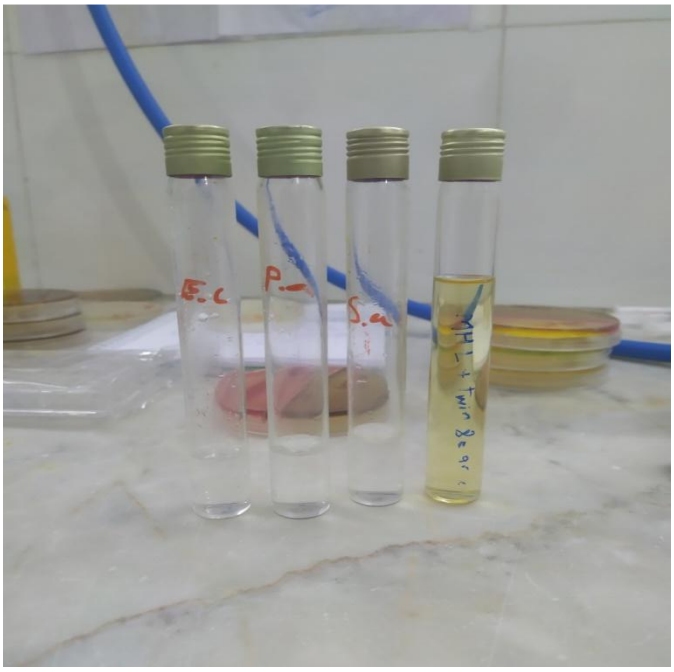

Figure 28. Les solutions utilisées dans l'expérience

1.2.4.3 Remplissage de la microplaque d'Elisa

- Dans la microplaque d'Elisa et à l'aide d'une micropipette :

Une quantité de 170 µl de MHLAC + Tween 80 est mise dans le 1er puit, tant que pour les autres puits des quantités de 95 µL de MHLAC + Tween 80 sont ajoutés.

- Une quantité de 20 µL de HE est ajouté dans le 1er puit et bien homogénéisé.
- Après homogénéisation du 1er puit, une quantité de 95 µL de mélange d'huile essentielle et du milieu de culture est transféré au 2ème puit et ainsi de suite.
- Les 95 µL du dernier puits sont éliminés.

- A la fin, les 5 µL d'une suspension bactérienne diluée à 1/10 sont ajoutées à chaque puits.
- Pour chaque série, un témoin positif et un témoin négatif sont réalisés.
- La plaque a été couverte par un couvercle en plastique.

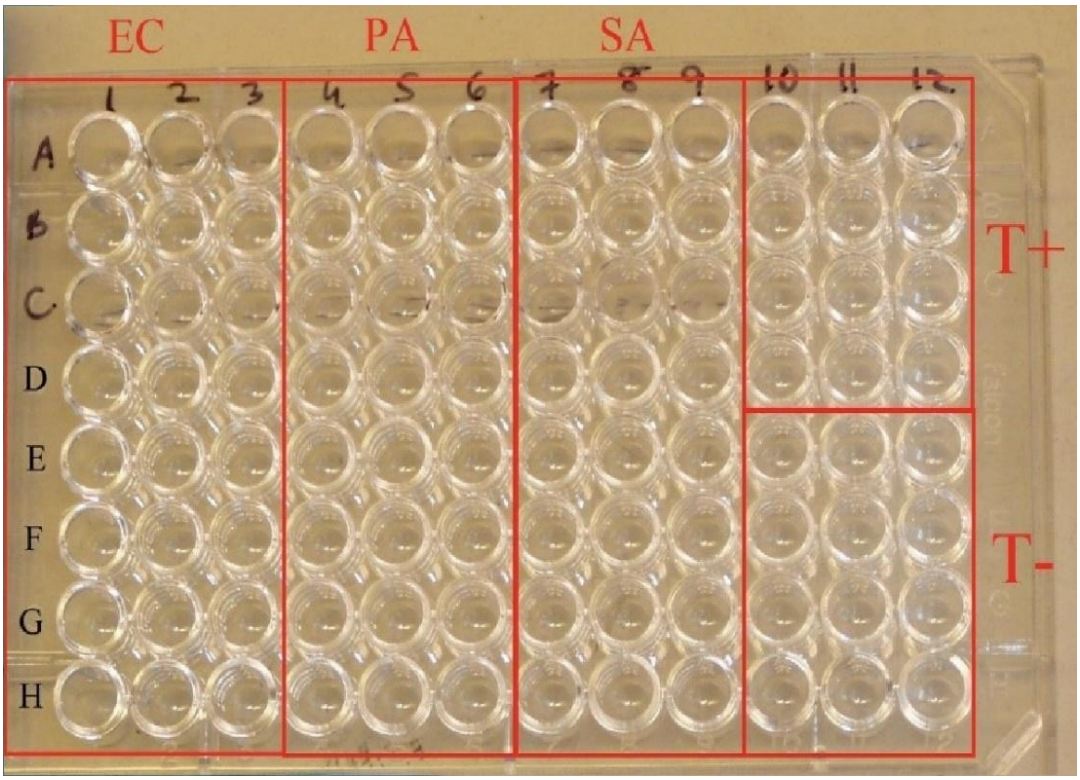

Figure 29. L'arrangement des souches bactériennes dans la microplaque d'Elisa

1.2.4.4 Incubation

La microplaque est placée dans un incubateur (étuve) pendant 18 h à un atmosphère ordinaire 35 °C.

1.2.4.5 Lecture des résultats

1ère puits : absence de trouble.

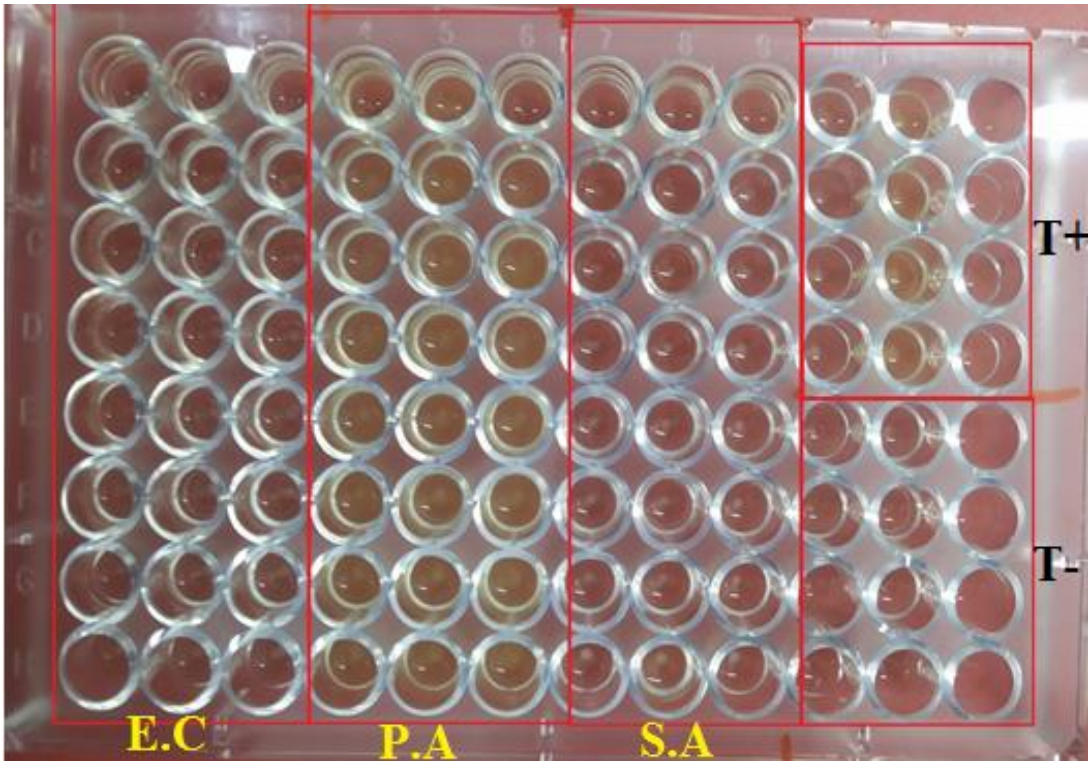

Figure 30. Les souches bactériennes dans la microplaque d'Elisa traitées par l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. après incubation.

1.2.4.6 Ensemencement

Pour déterminer la nature de l'activité d'huile essentiel bactéricide ou bactériostatique, une quantité de 10 µL du mélange (milieu de culture, huile essentiel et bactérie) des puits clairs est repiqué en zig zag en milieu Muller-Hinton solide dans des boites pétries pendant 24 h à 35 °C.

1.2.4.7 Lecture de résultat

Observation : l'absence des colonies bactériennes après l'ensemencement.

2 Résultats

D'après la lecture de la microplaque d'Elisa, on constate que :

- L'activité de l'huile essentiel d'*A. campestris* est bactéricide sur les trois souches ;
- Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentiel d'*A. campestris* sont présenté dans le tableau suivant :

Tableau 16. Résultats de l'effet d'huile essentielle d'*A. campestris* sur les trois bactéries.

Bactéries	CMI µg /ml	CMB µg /ml	CMI/CMB	Nature de l'activité
Escherichia coli	91.2	91.2	1	Bactéricide
Staphylococcus aureus	91.2	91.2	1	Bactéricide
Pseudomonas aeruginosa	91.2	91.2	1	Bactéricide

- Une Comparaison faite entre des CMI de quelques antibiotiques et de l'huile essentielle d'*A. campestris* obtenu par la méthode de microdilution en milieu liquide contre trois souches bactériennes ATCC est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 17. Comparaison des CMI des antibiotiques par rapport aux CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* des trois souches bactériennes ATCC par méthode microdilution en milieu liquide

Familles des antibiotiques	Antibiotiques	Souches bactériennes		
		Escherichia coli	***Staphylococcus aureus***	***Pseudomonas aeruginosa***
	HE d'*A. campestris*	91.2	91.2	91.2
Pénicilline	Pénicilline G	76.8	0.1	> 512
	Amoxicilline	5.2	0.2	> 512
	Ampicilline	6	0.1	> 512
	Cloxacilline	358	0.3	> 512
	Dicloxacilline	> 512	0.2	> 512
	Méticilline	> 512	1.2	> 512
	Nafcilline	≥ 512	0.2	≥ 512
	Oxacilline	333	0.2	> 512
	Carbénicilline	16.8	0.9	76.8
	Pipéracilline	2.2	0.5	6
	Ticarcilline	8.4	0.8	54.4
Tétracycline	Tétracycline	1.1	0.7	18.4
	Doxycycline	0.4	0.1	30.4
	Minocycline	0.3	0.1	16

Chloramphénicol	Chloramphénicol	1.9	6.8	> 64
Céphalosporine	Céfalotine	16	0.1	> 512
	Céfaclor	6.8	1.3	> 512
	Céfamandole	1	0.2	> 512
	Céfazoline	1.7	0.2	> 512
	Céfoxitine	3. 6	2.2	> 512
	Céfuroxime	7.2	0.7	≥ 512
	Céfalixine	14.4	2	> 512
	Céphaloridine	6.4	0.1	> 512
	Céfapirine	16	0.3	> 512
	Céfradine	22.4	2.2	> 512
	Latamoxef	0.3	4. 6	19.2
	N-formimidoyl-thiénamycine (MK-0787)	0.1	0.1	2.2
Aminoside	Amikacine	1.2	0. 6	2
	Gentamicine	0.4	0.1	0.8
	Kanamycine	1.7	0.4	> 128
	Nétilmicine	0.2	0.1	0.7
	Sisomicine	0.2	0.1	0.1
	Streptomycine	2.2	1.1	16
	Tobramycine	0.5	0.1	0.1
Autres antibiotiques	Clindamycine	64	0.1	> 64
	Érythromycine	> 64	0.4	> 64
	Lincomycine	> 64	1.2	> 64
	Métronidazole	> 32	> 32	> 32
	Acide nalidixique	1	35.2	128
	Nitrofurantoïne	5.2	12	> 512
	Rifampicine	6.4	0.1	32
	Vancomycine	≥ 512	0.8	> 512

3 . Discussion

Aligianis et *al.* (2001) ont proposé une classification de l'activité antimicrobienne des produits végétaux, basée sur les résultats de la CMI, comme suit:

- Inhibiteurs puissants : CMI inférieure à 500 µg / mL
- Inhibiteurs modérés : CMI entre 600 et 1500 µg / mL
- Inhibiteurs faibles : CMI supérieure à 1600 µg / mL (**61**).

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* de Oued Taga Batna a montré une activité antibactérienne puissante contre les trois souches (Escherichia *coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomenas aeruginosa*) avec des CMI de 91.2 µg/ml. La CMB est de 91.2 µg/ml pour les trois souches.

L'huile essentielle de cette plante est bactéricide parce que CMB/CMI égale à 1 et inférieure à 32.

Dans d'autres études, la plus grande résistance des bactéries à Gram négatif peut être expliquée par le fait que la membrane externe des bactéries à Gram négatif présente une arille à de nombreuses substances, y compris les antibiotiques (**62**) et que l'espace périplasmique contient des enzymes capables de dégrader des molécules étrangères (**63**) . De plus, les bactéries Gram-négatives ont des pompes à efflux qui réduisent les taux cellulaires d'antibiotiques (**64**). Les résultats obtenus ont révélé que les propriétés antibactériennes in vitro potentielles de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*, indiquant l'importance des études liées à leur application dans le traitement antibiotique des maladies infectieuses.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes aromatiques constituent une source récente des molécules bioactives principalement les huiles essentielles qui pourront constituer un choix aux agents antimicrobiens conventionnels. Dans ce contexte, nous avons intéressés de faire une étude botanique sur l'*Artemesia compestris* L., après on effectue l'extraction et l'analyse de son huile essentielle dans le contexte d'évaluation de son activité antibactérienne.

Les coupes ont été réalisée sur les feuilles et les tiges d'AC pour l'étude histologique et anatomique par la technique de double coloration qui confirmé que cette plante est une plante aromatique appartient à la famille des *Asteraceae*.

Un rendement d'extraction en huile essentielle est d'ordre de 4.014 ± 0.6 ml/kg a été obtenu après l'extraction par méthode de l'hydro-distillation de la partie aérienne de la plante. ; ce rendement est considérable en comparaison avec d'autre études en littérature.

L'analyse CCM de l'huile a montré la présence de neuf composés sans l'identification de la nature chimique de ces composés.

L'huile essentielle d'*Artemesia compestris* L. de Oued Taga Batna a montré une activité antibactérienne puissante contre les trois souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomenas aeruginosa*).

Plusieurs facteurs pourraient être impliqués dans cette activité de l'HE, et peut être attribuée à la richesse de la composition chimique en terpenoïdes et les composés aromatiques.

Il faut signaler que les activités biologiques d'une huile essentielle ne sont pas seulement dues aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composées contenant dans cette huile (effet synergique).

Des études complémentaires sont nécessaires pour établir le principal composé bioactif responsable d'effet et les conditions optimales pour la production.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activités antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante.

La bibliographie

(**1**). **Gurib-Fakim A. Medicinal plants**: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular aspects of Medicine. **2006** ;27(1):1-93.

(2). **Liu Y, Wang M-W**. Botanical drugs: challenges and opportunities: contribution to Linnaeus Memorial Symposium **2007**. Life Sciences. 2008;82(9-10):445-9.

(3). **Balunas MJ, Kinghorn AD.** Drug discovery from medicinal plants. Life sciences. **2005**;78(5):431-41.

(4). **HF GHL**. Précis de botanique. Végétaux supérieurs. 2eme Ed**1982**.

(5). A**krout A, Gonzalez LA, El Jani H, Madrid PC.** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. Food and Chemical Toxicology. **2011**;49(2):342-7.

(6). **Mohiuddin YG, Nathar NV.** Medicinal Properties Of *Artemisia Absinthium* L.(Wormwood, Green Ginger)-A Review.

(7). **Al-Snafi AE.** The pharmacological importance of *Artemisia campestris*-A review. Asian Journal of Pharmaceutical Research. **2015**;5(2):88-92.

(8). **Cronquist A, Takhtadzhi͡an AL.** An Integrated System of Classification of Flowering Plants: Columbia University Press; **1981.**

(9). **Dib I, Angenot L, Mihamou A, Ziyyat A, Tits M.** *Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. Journal of Herbal Medicine. **2017**;7:1-10.

(10). **Lindman CAM.** Bilder ur Nordens flora: på grundvalen af Palmstruchs" Svensk botanik": Wahlström & Widstrand; **1905**.

(11). **Wang W-M.** On the origin and development of Artemisia (Asteraceae) in the geological past. Botanical Journal of the Linnean Society. **2004**;145(3):331-6.

(12). **Judzentiene A, Budiene J, Butkiene R, Kupcinskiene E, Laffont-Schwob I, Masotti V.** Caryophyllene oxide-rich essential oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. campestris and their toxicity. Natural product communications. **2010**;5(12):1934578X1000501232.

(13). **Juteau F, Masotti V, Bessière J-M, Viano J.** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. glutinosa. Biochemical systematics and ecology. **2002**;30(11):1065-70.

(14). **Aicha, N., Ines, S., Mohamed, B. S., Ines, B., Soumaya, K., Kamel, G., ... & Leila, C. G.** Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from

(Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba.* Journal of Essential Oil Research. **2008**;20(5):471-7.

(15). Boukhalkhal S, Gourine N, Pinto DC, Silva AM, Yousfi M. UHPLC-DAD-ESI-MSn profiling variability of the phenolic constituents of *Artemisia campestris L.* populations growing in Algeria. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. **2020**;23:101483.

(16). Dib I, El Alaoui-Faris FE. *Artemisia campestris* L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds. Biomedicine & Pharmacotherapy. **2019;**109:1884-906.

(17). Megdiche-Ksouri, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., ... & Ksouri, R. *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. Industrial Crops and Products. **2015**;63:104-13.

(18). Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Vidal N, Lesgards J, Stocker P. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. European Food Research and Technology. **2007**;224(6):801-9.

(19). Sefi M, Fetoui H, Makni M, Zeghal N. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Food and chemical toxicology. 2010;48(7):**1986**-93.

(20). Saoudi M, Allagui MS, Abdelmouleh A, Jamoussi K, El Feki A. Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish Lagocephalus lagocephalus extract-induced oxidative damage in rats. Experimental and Toxicologic Pathology. **2010**;62(6):601-5.

(21). Karabegović I, Nikolova M, Veličković D, Stojičević S, Veljković V, Lazić M. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia sp.* recovered by different extraction techniques. Chinese Journal of Chemical Engineering. **2011**;19(3):504-11.

(22). Ghlissi Z, Sayari N, Kallel R, Bougatef A, Sahnoun Z. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. Biomedicine & Pharmacotherapy. **2016**;84:115-22.

(23). Jaouadi, I., Abdelkafi-Koubaa, Z., Riabi-Ayari, S., Hassen, I., Yakoubi, M. T., Ayeb, M. E., ... & Marrakchi, N. Anti-hemolytic and Anti-cytotoxic Effect of Two Artemisia Species (*A. campestris* and *A. herba-alba*) Essential Oil against Snake Venom. International Journal of Agriculture & Biology. **2016**;18(4).

(24). Metoui R, Bouajila J, Znati M, Cazaux S, Neffati M, Akrout A. Bioactive flavones isolated from Tunisian *Artemisia campestris* L. Leaves. Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France) **2017**; 63: 86 ;p 91.

(25). Sefi M, Fetoui H, Soudani N, Chtourou Y, Makni M, Zeghal N. *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products. Pathology-Research and Practice. **2012**;208(3):157-62.

(26). Laura A, Moreno-Escamilla JO, Rodrigo-García J, Alvarez-Parrilla E. Phenolic compounds. Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables: Elsevier; **2019.** p. 253-71.

(27). Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules. **2010**;15(10):7313-52.

(28). Forkmann G. Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. Plant breeding. **1991**;106(1):1-26.

(29). Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants: Lavoisier publishing; **1995.**

(30). Liu B, Yang J, Ma Y, Yuan E, Chen C. Antioxidant and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of ethanol extract and pure flavonoids from Adinandra nitida leaves. Pharmaceutical biology. **2010**;48(12):1432-8.

(31). Pietta P-G. Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products. **2000;**63(7):1035-42.

(32). K Sahu N, S Balbhadra S, Choudhary J, V Kohli D. Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. Current medicinal chemistry. **2012**;19(2):209-25.

(33). Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The Scientific World Journal. **2013**;2013.

(34). Borges F, Roleira F, Milhazes N, Santana L, Uriarte E. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. Current medicinal chemistry. **2005**;12(8):887-916.

(35). Duquénois P. Coumarines et Dérivés: Réparation Dans le Règne Végétal et Biosynthèse. Quarterly Journal of Crude Drug Research. **1967**;7(4):1107-20.

(36). Murray RD. The naturally occurring coumarins. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products: Springer; **2002**. p. 1-619.

(37). Barot KP, Jain SV, Kremer L, Singh S, Ghate MD. Recent advances and therapeutic journey of coumarins: current status and perspectives. Medicinal Chemistry Research. **2015**;24(7):2771-98.

(38). Hassanpour S, MaheriSis N, Eshratkhah B. Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. **2011.**

(39). Khanbabaee K, van Ree T. Tannins: classification and definition. Natural product reports. **2001**;18(6):641-9.

(40). Smeriglio A, Barreca D, Bellocco E, Trombetta D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. British journal of pharmacology. **2017**;174(11):1244-62.

(41). Hilan C, Sfeir R, Aitour S. Chimiotypes des plantes communes au Liban du genre Origanum et du genre Micromeria (Lamiaceae). Lebanese Sci J. **2011**;12:79-91.

(42). PARLE O. huiles essentielles. **1991**.

(43). Couic-Marinier F, Lobstein A. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques. **2013**;52(525):18-21.

(44). Park Y-L, Tak J-H. Essential oils for arthropod pest management in agricultural production systems. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety: Elsevier; **2016.** p. 61-70.

(45). Bruneton J, Barton DHR. Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie: Technique et documentation; **1987.**

(46). Teuscher E, Anton R, Lobstein A. Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles: Tec & Doc; **2005**.

(47). Zuzarte M, Salgueiro L. Essential oils chemistry. Bioactive essential oils and cancer: Springer; **2015.** p. 19-61.

(48). Tisserand R, Young R. Essential oil Safety-E-Book: A guide for health care professionals: Elsevier Health Sciences; **2013.**

(49). Li Y, Fabiano-Tixier A-S, Chemat F. Essential oils as reagents in green chemistry: Springer; **2014.**

(50). Moghaddam M, Mehdizadeh L. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. Soft chemistry and food fermentation: Elsevier; **2017**. p. 379-419.

(51). Stratakos AC, Koidis A. Methods for extracting essential oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety: Elsevier; **2016**. p. 31-8.

(52). Européenne P. (2008). Conseil de l'Europe, Strasbourg, 6e édition; France.

(53). Benerbiha F, Touile S. composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielle d'*Artemisia herba alba* asso et *Artemisia campestris* L. de la région aride de Djelfa. memoire de fin d'etude. laboratoire de biotechnologie, blida **2013**.

(54). Gherib M. etude des activités antimicrobienne rt antioxydante des huiles essentielles et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* et *Artemisia jedaica* L. spp saharienis *Artemisia campestris* L. *Heraniara mauritanica* murb et warionia sahare benth et cou. mémoire pourl'obtention de diplome de magistere. biologie moleculaire et cellulaire université de telemcen **2009.**

(55). Razika S. Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique MEMOIRE Pour l'obtention du diplôme de Magister en Chimie Organique. **28/04/2011**.

(56). Khebri. etude chimique et biologique des huiles essentielles des trois artemisia. mémoire pour l'obtrntion de diplome de doctorat. facultée de science université de batna **2011**.

(57). HABCHI MANEL MHeBW. *Artemisia campestris* L.: Etude ethnobotanique, physicochimique et Caractérisation de son huile essentielle. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie Intitulé. **16/06/2015**.

(58). Chalchat JC CP, petrovic SD et Gorunovic MS. Composition de l'huille essentielle de *Artemisia campestris* L. de la France. Jornal of essential oil research, chimie des huiles essentielles. **2006.**

(59). Akrout A., Chemli R., Chreïf I., Hammami M. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. Flavour and fragrance journal. **2001**;16(5):337-9.

(60). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 7éme édition **2014.**

(61). Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species. Journal of agricultural and food chemistry. **2001**;49(9):4168-70.

(62). Palombo EA, Semple SJ. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. Journal of ethnopharmacology. **2001**;77(2-3):151-7.

(63). Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. International journal of antimicrobial agents. **2001**;17(6):527-9.

(64). Köhler T, Pechère J-C, Plesiat P. Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. **1999**;56(9-10):771-8.

Résume :

L'*Artemisia campestris* L. appartient au genre Artemisia de la famille des Astéracées, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle comme hypoglycémique, cholagogue, cholérétiques, digestive, dépurative, antilithiasiques, … Dans le but de la valorisation de cette plante, notre travail est visé à extraire et caractériser par CCM leurs huiles essentielles en plus d'évaluer son activité antibactérienne.
Pour cela, on a effectué une étude botanique caractéristique par la réalisation des coupes sur les feuilles et les tiges pour l'études histologique et anatomique par la technique de double coloration, ensuite on a extrait les huiles essentielles de la partie aérienne de cette plante par hydrodistillation afin de les caractériser par une analyse chromatographique (CCM), enfin on a évalué son activité antimicrobienne par la technique micro-dilution sur milieu liquide sur trois souches bactérienne : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerugenosa*.
L'étude botanique a révélé que cette plante appartienne à la famille des Astéracées. L'extraction en huiles essentielles par hydrodistillation a donné un rendement de 4.014 ± 0.6 ml/kg, l'analyse CCM a montré que ces huiles renferment neufs composés sans les identifier et quantifier. Concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne de ce huile montre que l'huile d'*Artemisia campestris* L. ayant un effet bactéricide sur les trois souches, donc ces huiles possèdent une activité antibactérienne très puissante.
Une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activités antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante.

Mots clés : *Artemisia campestris L.*, huile essentielle, CCM, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerugenosa*, activité antibactérienne.

Abstract:

The *Artemisia campestris* L. belongs to the genus Artemisia of the Asteraceae family, it is used in traditional medicine as hypoglycemic, cholagogue, choleretic, digestive, depurative, antilithiasic, ... With the aim of the valorization of this plant, our work is aimed at extracting and characterizing by CCM their essential oils in addition to evaluating its antibacterial activity.
For this purpose, a characteristic botanical study has been carried out by the realization of sections on the leaves and stems for histological and anatomical studies by the technique of double staining, then the essential oils of the aerial part of this plant have been extracted by hydrodistillation in order to characterize them by analysis a Thin Layer Chromatography (TLC), and finally its antimicrobial activity has been evaluated by the technique of micro-dilution on liquid medium on three bacterial strains: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aerugenosa.
The botanical study revealed that this plant belongs to the Asteraceae family. The extraction in essential oils by hydrodistillation gave a yield of 4.014 ± 0.6 ml/kg, the analysis TLC showed that these oils contain nine compounds without identifying and quantifying them. Concerning the evaluation of the antibacterial activity of this oil shows that the oil of *Artemisia campestris* L. having a bactericidal effect on the three strains, therefore these oils possess a very powerful antibacterial activity.
An in vivo study is desirable, to get a more thorough view on the antibacterial activities of the essential oil of this plant.
Keywords : *Artemisia campestris* L., essential oil, TLC, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerugenosa*, antibacterial activity.

الملخص:

ينتمي نبات الشيح البستاني *Artemisia* campestris L. إلى جنس Artemisia من عائلةAsteraceae ، ويستخدم في الطب التقليدي مثل تقليل نسبة السكر في الدم، مدر للعصارة الصفراوية، علاج أمراض الجهاز الهضمي، مطهر، مضاد للحساسية، ...، وفي إطار تثمين هذا النبات، أجرينا دراسة عملية تهدف إلى استخلاص وتمييز زيوتها الأساسية بطريقة الكروماتوغرافيا، بالإضافة إلى تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا.

لهذا الغرض تم إجراء دراسة نباتية تمييزية عن طريق تحقيق مقاطع على الأوراق والسيقان للدراسات النسيجية والتشريحية بتقنية التلوين المزدوج، ثم استخلاص الزيوت الأساسية للجزء العلوي من هذا النبات بالتقطير المائي من أجل توصيفها عن طريق تحليل كروماتوغرافيا ذات الطبقة الرقيقة، وأخيراً تم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات من خلال تقنية التخفيف الدقيق على وسط سائل على ثلاث سلالات بكتيرية: الإشريشيا القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية.

كشفت الدراسة النباتية أن هذا النبات ينتمي إلى عائلة .Asteraceae أعطى الاستخلاص بالزيوت العطرية بالتقطير المائي عائد 4.014 ± 0.6 مل / كجم، وأظهر تحليل كروماتوغرافيا أن هذه الزيوت تحتوي على تسعة مركبات دون تحديدها وتقديرها. فيما يتعلق بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذا الزيت يوضح أن زيت *نبات* الشيح البستاني له تأثير مبيد للجراثيم على السلالات الثلاثة، لذلك تمتلك هذه الزيوت نشاطًا قويًا مضادًا للبكتيريا.

من المستحسن إجراء دراسة داخل العضوية، للحصول على عرض أكثر شمولاً للأنشطة المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي لهذا النبات.

الكلمات المفتاحية: نبات *الشيح البستاني*، زيت عطري، كروماتوغرافيا ذات الطبقة الرقيقة، الإشريشيا القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية.، نشاط مضاد للجراثيم.