



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la matière et de la vie  
Département de sciences de la matière

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière  
Filière : Chimie  
Spécialité : Chimie pharmaceutique

Réf. :

---

Présenté et soutenu par :  
**ZEGHDOUD Hanane – CHENNAI Hind Yasmine**

Le : jeudi 26 avril 2018

## **Valorisation de deux plantes médicinales abondantes en Algérie et évaluation de leurs effets biologiques**

---

### **Jury :**

Dr.	<i>HARKATI Dalal</i>	<i>M.C. « A » Université Med Khider- Biskra</i>	Présidente
Dr.	<i>FETTAH Asma</i>	<i>M.C. « B » Université Med Khider- Biskra</i>	Encadreur
Dr.	<i>LARAOUI Habiba</i>	<i>M.C. « B » Université Med Khider- Biskra</i>	Examinatrice
Mr.	<i>FOUGHALIA Abdelhamid</i>	<i>chercheur Centre de recherche CRSTRA-Biskra</i>	Invité

Année universitaire : 2018/2019

# **Remerciement**

*Avant toutes choses, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à **Mme FATTEH Asma** Maître de conférences B à la faculté des sciences exactes, Université de Biskra pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions très sincèrement les membres de jury : **Mme HARKATI Dalal** Maître de conférences A à la faculté des sciences exactes, université de Biskra pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail et **Mme LARAOUI Habiba** Maître de conférences B à la faculté des sciences exactes, université de Biskra, d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail.*

*Nous remercions également **Mr Foughalia Abdelhamid** chercheure et chef de laboratoire de microbiologie au sein du Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides(Biskra), pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'effectuer une partie dans son laboratoire pour accomplir ce travail.*

*Nous exprimons aussi nos remerciements et notre gratitude à tous l'ensemble de l'équipe de laboratoire de chimie de la faculté des sciences exacte SM, Université de Biskra ; ainsi que l'ensemble de l'équipe de chercheur **Hadjer Haroun Mawehib** au Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides.*

*En fin nous adressons nos remerciements les plus sincères à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pendant toutes les années d'études*

# ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

*Je dédie à toute ma famille en particuliers mes très chers frères **Samir Hichem Wassim Youcef** et mes cousines **Mimi Ratiba Ahlem Amina** .*

*Mes dédicaces vont aussi à :*

*A mon binôme **Hanane** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

*A mon fiancé et sa famille.*

*A mes collègues et amis.*

***CHENNAI.Y***

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

*Je dédie à toute ma famille en particuliers mes très chers frères et sœurs **Hicham Mahdi Chahd.***

*Mes dédicaces vont aussi à :*

*A mon binôme **Yassmine** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

*A mon fiancé et sa famille.*

*A mes collègues et amis.*

**ZEGHDOUD.H**



## Résumé

La flore algérienne renferme une large gamme de plantes aromatiques ayant un grand intérêt thérapeutique grâce à leurs métabolites secondaires biologiquement actifs, ce qui leur a fait un sujet d'intérêt scientifique.

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à *Ocimum basilicum* L. (الحبق, الريحان) de la famille des Lamiacées et *Artemisia campestris* L. (التقفط) de la famille des Asteracées cultivées et récoltées dans la wilaya de Biskra (sud-est algérien) qui sont bien connues au niveau local et elles présentent une diversité de propriétés curatives dans la médecine traditionnelle.

La première partie de cette étude est consacrée au contrôle de qualité de la poudre végétale et à l'investigation des métabolites secondaires.

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence, des flavonoïdes, des tanins, coumarine, de l'huile essentielle et ainsi que d'autres métabolites.

Les HE ont été obtenus par hydrodistillation avec un rendement de 2,4% pour *O.basilicum* L. et 1,8% pour *A.campestris* L.

Les composés phénoliques ont été obtenus par extraction successive par quatre solvants à polarité croissante. Le dosage de ces extraits a révélé la teneur de ces plantes en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu, trichlorure d'aluminium et la vanilline ajoutée de l'acide chlorhydrique respectivement.

Dans la deuxième partie nous avons étudié le pouvoir antioxydant *in vitro* des extraits (HE et composé phénoliques) en utilisant la méthode du DPPH. Les résultats confirment que nos extraits possèdent des activités antioxydantes intéressantes, dont l'acétate d'éthyle qui est le plus performant. Par ailleurs, l'huile essentielle a montré une activité antioxydante très faible par rapport au standard pour les deux plantes.

Finalement nous avons évalué l'activité antibactérienne de nos extraits contre dix souches bactériennes pathogènes par la méthode de diffusion sur gélose MH. Les résultats montrent une meilleure activité pour l'HE que les extraits phénoliques d'*O.basilicum* L. contrairement à *A.campestris* L., l'extrait acétate d'éthyle est révélé le plus actif contre la majorité des souches à Gram+

**Mots clés :** *Ocimum basilicum*, *Artemisia campestris*, huiles essentielles, composé phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## Abstract

The Algerian flora include a wide range of aromatic plants, which have a therapeutic, interacts due to the secondary metabolites substances biologically active that made of it an interesting subject for a scientific research.

In this study, we are interested to the *Ocimum basilicum* L. (الحبق, الريحان, basilic) belonging to the family of *Lamiacée* and the *Artemisia campestris* A. (Armoise rouge, التقفت) belonging to the family of *Asteracées* cultivated in Biskra that are well known at local level and presenting a several curatives properties on traditional medicine.

The first part of this study was dedicated to the quality control of vegetal power and the investigation of secondary metabolites.

The EO obtained with hydrodistillation apparatus giving out a yield of 2.4% for *O.basilicum* L. and 1.8% for *A.campestris* L.

The phenolic components were obtained with successive extraction by four solvent with increasing polarity. The dosage reveal the tenor of total phenols, flavonoids and tannins using Folin Ciocalteu reagent, aluminum trichloride and vanillin added to hydrochloric acid respectively.

In the second part, we studied antioxidant activity *in vitro* of these extracts using the DPPH radical scavenging. Results have shown that the ethyl acetate extract has a very large and the most important efficacy and it has recorded a very weak efficacy for the essential oil referring to the standard with both plants.

Lastly, we evaluated the antibacterial efficiency of the different extracts against ten strains of bacteria using the method of diffusion over agar MH. Results revealed that essential oil of *O.basilicum* L. has a highly efficacy more than their phenolic extracts, unlike the *A.campestris* L. that shown best efficiency of ethyl acetate extract against the majority of bacteria Gram+.

**Key words:** *Ocimum basilicum*, *Artemisia campestris*, Essential oils, phenolic components, antioxidant activity, antibacterial activity.

## ملخص

تحتوي الثروة النباتية في الجزائر على العديد من النباتات العطرية ذات فوائد علاجية كبيرة بفضل احتوائها على الايضيات الثانوية الناشطة حيويًا مما جعلها موضوع مهم للبحث العلمي.

خلال هذا العمل نهتم بدراسة نبتة الحبق أو الريحان *Ocimum basilicum L. (basilic, basil)* من عائلة الشفويات *Lamiacée* و نبتة التثقف *Artemisia campestris A.* من عائلة النجميات أو الأستراسيا *Asteracée* المزروعة و المحصودة في ولاية بسكرة، هتتين النبتتين المعروفتين على المستوى المحلي بخصائصها العلاجية المتنوعة في الطب البديل (التقليدي).

القسم الأول من هذه الدراسة مخصص لمعاينة جودة محسوق النبات والكشف عن الأيضيات الثانوية.

تم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير والتكثيف حيث قدر المردود ب 2,4% لنبتة *Ocimum L. basilicum* و 1,8% لنبتة *Artemisia campestris A.*

تم استخلاص المركبات الفينولية باستخدام مذيبيات عضوية ذوات قطبية متزايدة. معايرة هذه المستخلصات كشفت عن الكمية المحتواة في النبتة من المواد الفينولية، الفلافونويدات والتانات باستخدام متفاعل فولين *Folin Ciocalteu*، ثلاثي كلوريد الألومنيوم والفانيلين بإضافة حمض الكلوريدريك على الترتيب.

في القسم الثاني من الدراسة قمنا بدراسة النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات باستخدام اختبار *DPPH*، أكدت النتائج المتحصل عليها أن جميع المستخلصات تملك نشاط مضاد للأكسدة حيث اتضح أن مستخلص *acetate d'éthyle* الأكثر فعالية أما الزيوت الأساسية أبدت نشاط ضعيف مقارنة بالمرجع القياسي بالنسبة للنبتتين المدروستين.

وفي الأخير تمّت دراسة لنشاط المضاد للبكتيريا لمختلف المستخلصات ضد عشرة زمر من البكتيريا الممرضة باستخدام طريقة الانحلال في وسط صلب *géluse MH*. النتائج المتحصل عليها توضح فعالية عالية للزيت الأساسي لنبتة *Ocimum basilicum* مقارنة بالمستخلصات الفينولية على عكس نبتة *Artemisia campestris* أين وجدنا أكثر فعالية لمستخلص *acetate d'éthyle* ضد غالبية البكتيري اgram موجب *Gram +*.

**الكلمات المفتاحية:** الحبق، التثقف، الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

## *Liste des abréviations et symboles*

<b>Abs</b>	Absorption
<b>Acet</b>	Acétate d'éthyle
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>AE</b>	Antiépileptique
<b>ATCC</b>	American type culture collection
<b>API</b>	analytical profile index (indice de profile analytique)
<b>BHT</b>	butylhydroxytoluène
<b>BHA</b>	butylhydroxyanisole
<b>CAT</b>	Capacité antioxydante totale (Total antioxidant capacity)
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>cm</b>	Centimètre
<b>CUPRAC</b>	Cupric reducing antioxydant capacity
<b>Dich</b>	Dichlorométhane
<b>DMSO</b>	Diméthyl sulfoxyde
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>d<sup>20</sup><sub>20</sub></b>	La densité
<b>EAA</b>	Equivalents d'acide ascorbique
<b>EAG</b>	Equivalent d'acide gallique
<b>EC</b>	Equivalent de catéchine
<b>ERO</b>	espèces réactives oxygénées
<b>EQ</b>	Equivalent de quercitrine
<b>E.pet</b>	Ether de pétrole
<b>Ext</b>	Extrait
<b>FRAP</b>	Ferric reducing ability of plasma,
<b>HE (EO)</b>	Huile essentielle
<b>H, h</b>	heure
<b>IC50</b>	Concentration inhibitrice à 50 %
<b>IUPAC</b>	International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>IRTF</b>	Infrarouge par transformation de Fourier
<b>mg</b>	Milligramme
<b>MH</b>	Milieu Mueller Hinton
<b>min</b>	Minute
<b>mL</b>	Mililitre
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>n-But</b>	N-butanol
<b>n<sup>20</sup><sub>D</sub></b>	Indice de réfraction
<b>PG</b>	gallate propylée
<b>TBHQ</b>	tétra-butylhydroquinone
<b>TEAC</b>	Total équivalent antioxydant capacité
<b>TRAP</b>	Total radical trapping parameter
<b>Var</b>	Variété
<b>ORAC</b>	Oxygène radical antioxydant capacité
<b>%</b>	Pourcentage
<b>R%</b>	Rendement
<b>T +</b>	Test positif, témoin

<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b><math>\lambda</math></b>	Longueur d'onde.
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	Microgramme
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	Microlitre.
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	Micromètre
<b><math>^{\circ}\text{C}</math></b>	degré Celsius

## Liste des tableaux

<b>Tab.1</b> : La composition chimique <i>d'ocimum basilicum</i> L.....	8
<b>Tab.2</b> : Les composés majoritaires des huiles essentielles <i>d'ocimum basilicum</i> L.....	8
<b>Tab.3</b> : La composition chimique <i>d'Artemisia campestris</i> A.....	16
<b>Tab.4</b> : Les composés majoritaires des huiles essentielles <i>d'Artemisia campestris</i> .....	16
<b>Tab.5</b> : Les principales classes de composés phénoliques .....	21
<b>Tab.6</b> : description de quelques tests antioxydants in vitro chimiques .....	43
<b>Tab.7</b> : les différents solvants utilisés et leurs propres composés extraits .....	52
<b>Tab.8</b> : les différents systèmes d'élutions et les méthodes de révélation .....	60
<b>Tab.9</b> : Les souches bactériennes testées .....	67
<b>Tab.10</b> : Les concentrations des extraits phénoliques .....	69
<b>Tab.11</b> : Les résultats du criblage phytochimique .....	73
<b>Tab.12</b> : le taux d'humidité et matière sèche pour chaque espèce .....	79
<b>Tab.13</b> : la teneur en cendres pour chaque plante .....	80
<b>Tab.14</b> : Caractéristique et rendement des extraits obtenus .....	83
<b>Tab.15</b> : Les chromatogrammes des Huiles essentielles des deux plantes .....	85
<b>Tab.16</b> : les chromatogrammes des extraits phénoliques <i>d'A.campestris</i> A.....	86
<b>Tab.17</b> : les chromatogrammes des extraits phénoliques <i>d'O.basilicum</i> L.....	87
<b>Tab.18</b> : résultats de l'extrait n-butanol des deux plantes .....	88
<b>Tab.19</b> : teneur en polyphénols totaux .....	89
<b>Tab.20</b> : teneur en flavonoïdes totaux .....	90
<b>Tab.21</b> : teneur en tanins totaux .....	92
<b>Tab.22</b> IC <sub>50</sub> des différents extraits des deux plantes .....	94
<b>Tab.23</b> : Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles .....	97
<b>Tab.24</b> : Diamètre des zones d'inhibition des extraits phénolique <i>d'A.campestris</i> A.....	98
<b>Tab.25</b> : Diamètre des zones d'inhibition des extraits phénolique <i>d'O.basilicum</i> L.....	100

## Liste des figures

<b>Fig.1</b> : Présentation de quelques variétés de basilic.....	5
<b>Fig.2</b> : <i>Ocimum basilicum</i> L.....	7
<b>Fig.3</b> : Répartition géographique du basilic.....	9
<b>Fig.4</b> : Présentation de quelques variétés d'Artemisia.....	12
<b>Fig.5</b> : <i>Artemisia campestris</i> A.....	14
<b>Fig.6</b> : Répartition géographique d'Artemisia .....	17
<b>Fig.7</b> : Les principales classes de composés phénoliques .....	22
<b>Fig.8</b> : structure de base des flavonoïdes .....	24
<b>Fig.9</b> : structure de base des tanins hydrolysables.....	26
<b>Fig.10</b> : structure de base des tanins condensés.....	26
<b>Fig.11</b> : structure de base des coumarines.....	27
<b>Fig.12</b> : structure de L'ombelliférone .....	28
<b>Fig.13</b> : structure de L'esculétine .....	28
<b>Fig.14</b> : structure de fraxétol.....	28
<b>Fig.15</b> : structure de psoralène .....	28
<b>Fig.16</b> : structure de L'angélicine.....	28
<b>Fig.17</b> : les différents constituants d'HE .....	31
<b>Fig.18</b> : l'expression à froid .....	34
<b>Fig.19</b> : technique d'enfleurage .....	34
<b>Fig.20</b> : Les différents types d'extraction par solvants volatils .....	35
<b>Fig.21</b> : La localisation d'HE et leur intérêt .....	37
<b>Fig.22</b> : Les systèmes de défense naturels contre les radicaux libres .....	40
<b>Fig.23</b> : Sites d'action des Huiles essentielles sur la cellule bactérienne .....	44
<b>Fig.24</b> : illustration des différentes étapes d'obtention des extraits phénoliques.....	53
<b>Fig.25</b> : illustration des différentes étapes de l'extraction des huiles extraites .....	55
<b>Fig.26</b> : Protocole de dosage des polyphénols totaux .....	62
<b>Fig.27</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux .....	63
<b>Fig.28</b> : Protocole de dosage des tanins totaux .....	64
<b>Fig.29</b> : Protocole de l'activité anti oxydante des extraits .....	66
<b>Fig.30</b> : stérilisation par microfiltres .....	69
<b>Fig.31</b> : coulage des boîtes .....	70
<b>Fig.32</b> : préparation des suspensions .....	70

<b>Fig.33</b> : L'ensemencement des bactéries sur gélose MH .....	71
<b>Fig.34</b> : illustration de l'étape d'application des disques .....	71
<b>Fig.35</b> : test de présence des HE pour les deux plantes .....	74
<b>Fig.36</b> : détection des tanins galliques et condensés.....	75
<b>Fig.37</b> : mise en évidence de la présence des saponines .....	75
<b>Fig.38</b> : test de révélation des sucres réducteurs pour les deux plantes.....	76
<b>Fig.39</b> : l'extrait des deux plantes dans l'HCl avant l'ajout des réactifs (Témoin) pour le test des flavonoïdes .....	76
<b>Fig.40</b> : mise en évidence de présence des flavonoïdes indiquant le type abondant.....	77
<b>Fig.41</b> : test des alcaloïdes par le réactif de dragendorf et de bouchardât .....	77
<b>Fig.42</b> : test des alcaloïdes par le réactif de MAYER et de BOUCHARDAT et DRAGENDORF sur un extrait d'acide sulfurique.....	78
<b>Fig.43</b> : Révélation des terpènes et stérols non saturés pour les deux plantes .....	78
<b>Fig.44</b> : chromatogramme de détection des coumarines pour les deux plantes.....	79
<b>Fig.45</b> : taux d'humidité et matière sèche dans la poudre végétale des deux plantes .....	79
<b>Fig.46</b> : la teneur en cendres dans la poudre végétale .....	80
<b>Fig.47</b> : les étapes suivis pour l'obtention des extraits phénoliques des deux plantes.....	81
<b>Fig.48</b> : les étapes suivis pour l'obtention des huiles essentielles des deux plantes .....	82
<b>Fig.49</b> : Teneur en polyphénols totaux pour les deux plantes et leurs répartition dans les différents extraits .....	90
<b>Fig.50</b> : Teneur en flavonoïdes totaux pour les deux plantes et leurs répartition dans les différents extraits .....	91
<b>Fig.51</b> : Teneur en tanins totaux pour les deux plantes et leur répartition dans les différents extraits .....	92
<b>Fig.52</b> : comparaison entre les composés phénoliques et les résidus secs .....	93
<b>Fig.53</b> : IC <sub>50</sub> des différents extraits des deux plantes .....	95
<b>Fig.54</b> : les zones d'inhibitions des extraits et huiles essentielle d' <i>O.basilicum</i> L.....	101
<b>Fig.55</b> : les zones d'inhibitions des extraits et huiles essentielle d' <i>A.campestris</i> A.....	101



# **Table de matière :**

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Introduction .....1

## **Première Partie : Etude bibliographique**

### **Chapitre 1 : Etude botanique des plantes sélectionnées**

I.Généralités .....3

II.Définitions.....3

II.1.La phytothérapie.....3

II.2.Plantes médicinales.....3

II.3. Plantes aromatiques .....3

II.4. Classification des plantes aromatiques .....4

III.Présentation des plantes :.....4

III.1.*Ocimum basilicum* L .....4

III.1.1. Généralité .....4

III.1.2. Variétés d'*Ocimum basilicum* L.....4

III.1.3. Calasse systématique.....5

III.1.3.1.Présentation de la famille des Lamiaceae .....5

III.1.3.2. Caractéristiques générales de la famille des Lamiaceae .....6

III.1.3.3. Systématique botanique .....6

III.1.4. Morphologie et description botanique .....7

III.1.5. Partie utilisable en médecine.....8

III.1.6. Composition chimique d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	8
III.1.7. Origine et répartition géographique d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	9
III.1.8. Toxicité d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	9
III.1.9. Utilisation d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	10
III.1.10. Travaux sur l' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	11
III.2. <i>Artemisia campestris</i> L.....	12
III.2.1.Généralité .....	12
III.2.2. Variétés d' <i>Artemisia campestris</i> L.....	12
III.2.3.Classe systématique .....	13
III.2.3.1. Présentation de la famille des Asteracé .....	13
III.2.3.2. Caractéristique générales de la famille des Asteracé.....	13
III.2.3.3. Systématique botanique.....	14
III.2.4.Morphologie et description botanique .....	15
III.2.5.Partie utilisable en médecine .....	15
III.2.6. Composition chimique d' <i>Artemisia campestris</i> .....	16
III.2.7. Origine et répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i> .....	17
III.2.8. Toxicité d' <i>Artemisia campestris</i> .....	17
III.2.9. Utilisation d' <i>Artemisia campestris</i> .....	18
III.2.10. Travaux sur l' <i>Artemisia campestris</i> .....	18

## **Chapitre 2 : Métabolites secondaires et activités biologiques**

Introduction.....	20
I.Les composés phénoliques.....	20
I.1.Définition .....	20
I.2.Localisation et distribution.....	20

I.3. Les principales classes des composés phénoliques et leurs .....	21
I.4. L'obtention des composés phénoliques .....	29
II. Les huiles essentielles .....	31
Généralité .....	31
II.1. Définition .....	31
II.2. Localisation et distribution .....	32
II.3. Les principales classes des huiles essentielles .....	32
II.4. L'obtention des huiles essentielles .....	33
II.5. Activités biologiques des huiles essentielles .....	35
III. Activités biologiques .....	38
III.1. Activité antioxydante .....	38
III.2. stress oxydant .....	38
III.3. Les radicaux libres .....	38
III.4. Les antioxydants .....	40
III.5. Les méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante .....	42
IV. Activité antibactérienne .....	44
IV.1. Les bactéries .....	44
IV.2. Les antibiotiques .....	45

## **Deuxième Partie : Pratiques de laboratoire**

### **Chapitre 3 : Matériels et méthodes**

#### **Partie I : étude phytochimique**

Introduction .....	46
I.1. Site de récolte et préparation du matériel végétal .....	46
I.2. Criblage (screening) phytochimique .....	46
I.3. Contrôle d'une drogue végétale .....	50
I.3.1. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité .....	50

I.3.2. Détermination de teneur en cendres :	50
I.4 Extraction	51
I.4.1. Extraction des composés phénoliques	51
I.4.2. Extraction et caractérisation des huiles essentielles	54
I.4.3. Calcul du rendement	58
I.5. Analyse chromatographique CCM	58
I.5.1. Définition	58
I.5.2. Principe de la technique	59
I.5.3. Applications de la CCM	59
I.5.4. Développement de la plaque	59
I.5.5. Révélation	60
I.5.6. Mode opératoire	60
I.6. Analyse quantitative des composés phénoliques	61
I.6.1. Préparation des échantillons	61
I.6.2. Dosage des polyphénols totaux	61
I.6.3. Dosage des flavonoïdes totaux	62
I.6.4. Dosage des tanins condensés	63

## **Partie II : Evaluation des activités biologiques**

II.1. Activité antioxydante	65
II.1.1. Méthode du DPPH	65
II.1.1.1. Principe	65
II.1.1.2. Mode opératoire	65
II.2. Activité antimicrobienne	67
II.2.1. Souches bactériennes pathogènes	67
II.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	67

II.2.3. Le protocole expérimental.....	68
III. Analyse statistique.....	72

## **Chapitre 4 : Résultats et discussion**

<b>I. Résultats de l'étude phytochimique .....</b>	<b>73</b>
I.1. criblage phytochimique.....	73
I.2. Contrôle de la qualité de la drogue végétale.....	78
I.3. Extraits et leurs caractéristiques .....	80
I.4. Chromatographie sur couche mince.....	83
I.5. Dosage des polyphénols.....	89
I.5.1- dosage des polyphénols totaux.....	89
I.5.2- Dosage des flavonoïdes.....	90
I.5.3- Dosage des tannins.....	92
<b>II. Résultats d'évaluation des activités biologiques .....</b>	<b>93</b>
II.1. Résultat de l'évaluation de l'activité antioxydante .....	91
II.2. Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne.....	96
<b>Conclusion.....</b>	<b>102</b>

### **Annexe**

#### **Références bibliographiques.**

# **Introduction générale**

### Introduction :

Etant donné, la richesse de notre région en plantes aromatiques, connues pour leurs vertus médicinales, cosmétiques et autres, une étude approfondie de celles-ci s'impose dans le cadre de la mise en valeur de la flore steppique et dans le contexte de la création d'une banque de données qui regroupe et illustre les valeurs propres à chaque espèce. Actuellement, plus de 50% des médicaments et les quasi-totalités des substances anticancéreuses (ellipicène, celiptium, pervenche tropicale ...etc) sont issus de plantes ou dérivés. Presque tous les médicaments dits «majeurs» résultent d'une recherche, parfois très ancienne sur les plantes médicinales. Ces dernières sont employées en nature ou sont utilisées comme matières premières pour l'extraction de principes actifs. Elles peuvent servir de modèles pour la synthèse. Les molécules naturelles peuvent aussi être retouchées par l'homme pour être améliorées [1].

La découverte de nouvelles propriétés pharmacologiques et l'extraction de nouveaux principes actifs (huiles essentielles, flavonoïdes, composés phénoliques, alcaloïdes, hétérosides ...) contribuent au développement de la médecine par les plantes. Ces découvertes ont montré qu'ils avaient de nombreuses possibilités thérapeutiques dans le règne végétal. [2]

Dans le cadre de ce travail, nous allons essayer de mettre en lumière des espèces proliférantes dans notre région, il s'agit de *l'Artemisia campestris* A.(التقفت) et *l'Ocimum basilicum* L.(الحبق).

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Criblage phytochimique visant à caractériser la présence des familles de composés chimiques dans les feuilles des plantes sélectionnées.
- Analyse quantitative et qualitative du contenu en polyphénols des extraits phénoliques des feuilles des deux plantes.
- Evaluation du pouvoir piégeur (scavenger) des extraits phénoliques et HE des feuilles vis-à-vis d'un radical libre relativement stable (DPPH).
- Evaluation de l'activité anti bactérienne des extraits phénoliques et HE des feuilles vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes pour l'homme.

Notre étude qui prend le titre de «**valorisation de deux plantes médicinales abondantes en Algérie et Evaluation de leurs effets biologiques**» propagée en deux parties réparties comme suit ;

**La première partie** : est consacrée à une étude bibliographique. Nous avons entamé cette partie par une enquête ethnobotanique, en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage de ces plantes chez la population sur les aspects botaniques et phytochimiques de deux plantes. Des généralités sur les métabolites secondaires (les flavonoïdes, tannins, coumarines, HE ...etc); ainsi que sur les activités antioxydantes et antibactériennes ; Elle est divisée en deux chapitres :

- ☞ Chapitre 01 : Etude botanique des deux plantes.
- ☞ Chapitre 02 : Métabolites secondaires et activités biologiques.

**La deuxième partie** : inclut l'étude expérimentale qui résume le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes étapes de notre travail : Des tests phytochimiques préliminaires sont ensuite effectués sur les parties aériennes des deux plantes, justifiant notre choix porté sur les composés phénoliques de ces plantes, en vue de leurs extractions et de leurs analyses. Et par la suite les extraits et l'HE d'*Ocimum basilicum L.* et d'*Artemisia campestris A.* sont testés pour leurs activités anti-oxydantes et antibactériennes. Cette partie répartie en deux chapitres :

- ☞ Chapitre 03 : Matériels et méthodes.
- ☞ Chapitre 04 : Résultats et discussions.

Notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale et de perspectives envisageables.

Enfin, cette stratégie consiste à apporter des éléments de connaissances chimiques et biologiques relatifs de deux plantes très utilisées en phytothérapie. La méthode du travail, que nous avons adoptée est basée sur une action pluridisciplinaire, visant la valorisation de la matière végétale. Cette méthode permet de relier les éléments d'information apportés par les botanistes au travail des chimistes et des biologistes.





**Première partie**  
**Etudes bibliographiques**



# Chapitre 1

**Etude botanique des deux plantes**

## I. Généralités

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques [3].

## II. Définitions

### II.1. La phytothérapie :

La **phytothérapie** vient du grec « *phytos* » qui signifie plante et « *therapeuo* » qui signifie soigné c.-à-d. « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces principes ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments [4].

### II.2. Plantes médicinales :

Selon la **pharmacopée française (1965)**, une plante médicinale est une drogue végétale qui peut être utilisée entière ou partielle (feuilles, fleurs, tiges, racines ...) possédant des propriétés médicamenteuses. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents. Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques [4].

### II.3. Plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments [5].

## II.4. Classification des plantes aromatiques :

La classification de ces plantes peut se faire en fonction de nombreux intérêts [6] :

- Classification botanique (systématique)
- Classification thérapeutique (action physiologique)
- Classification chimique (nature du principe actif)
- Classification commerciale (intérêt commercial)

La recherche bibliographique sur les plantes en quête dans cette d'étude montre qu'elles appartiennent essentiellement aux familles botaniques suivantes : Astéracées, Lamiacées [7].

## III. Présentation des plantes sélectionnées :

### III.1. *Ocimum basilicum* L.

#### III.1.1. Généralité :

Le *basilic* « *Ocimum basilicum* L. » est une plante de la famille des Lamiacées [8] [9]. Cette herbe aromatique annuelle originaire de l'Inde, et très cultivée en Algérie [10] n'existe pratiquement pas à l'état sauvage [11] elle est morphologiquement très variable, vivace en climat tropicale [9] généralement connue sous l'appellation "**Lahbeq**" "**Hamahim**" et aussi "**Hebeqelailaa**" [11].

Traditionnellement, le basilic a été utilisé comme plante médicinale dans le traitement des maladies nerveuses, les vertiges, les coliques, la constipation, les ballonnements, la toux, la coqueluche, les migraines d'origine nerveuse ou gastrique et les aphtes [12] [13] [14].

L'huile essentielle de basilic est connue aussi par son activité antimicrobienne et insecticide [15] [16] [17]. C'est aussi utilisé en cuisine pour sa suave odeur et sa saveur très agréable et mentholée [11] [18].

Actuellement, le basilic est donc très répandu à travers le monde. Il reste toutefois profondément ancré la gastronomie méditerranéenne [19].

#### III.1.2. Variétés d'*Ocimum basilicum* L. :

Les différentes variétés d'*O. Basilicum* L. se distinguent par leur couleur, leur forme, leur taille et leur odeur [20], dont les plus cultivées sont [21] :

- *Ocimum basilicum* var. *album*
- *Ocimum basilicum* var. *anisatum*
- *Ocimum basilicum* var. *densiflorum*
- *Ocimum basilicum* var. *difforme*
- *Ocimum basilicum* var. *glabratum*
- *Ocimum basilicum* var. *majus*
- *Ocimum basilicum* var. *minimum*
- *Ocimum basilicum* var. *pilosum*
- *Ocimum basilicum* var. *purpurascens*
- *Ocimum basilicum* var. *thyrsiflorum*



Figure (01) : Présentation de quelques variétés de basilic.

### III.1.3. Calasse systématique :

#### III.1.3.1. Présentation de la famille des *Lamiacées* :

Nom provenant du genre *Lamium* (désignant les lamiers) ainsi connu sous le nom de *Labiée* [22] ou *Labiées* [23]. Inclue environ 3200-4000 espèces réparties en 224 genres. Elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde.

### III.1.3.2. Caractéristiques générales de la famille des *Lamiacées* :

On peut citer quelques caractéristiques générales permettant de reconnaître une plante appartenant à cette famille [22] [24] [25] :

- tiges généralement quadrangulaires (présentant 4 angles et 4 faces) ;
- feuilles opposées et décussées (chaque paire formant un angle droit avec la précédente), sans stipules ;
- inflorescences groupées autour de l'axe et dans un même plan, n'entourant pas complètement la tige (disposition en faux-verticilles) ;
- fleurs présentant un plan de symétrie bilatéral (1 ou 2 lèvres) ou quasiment radial (4 lobes presque égaux) ;
- calice à 2 lèvres ou à plusieurs lobes égaux et aigus ;
- étamines insérées sur le tube de la corolle, au nombre de 2 ou 4 (dans ce dernier cas en 2 paires inégales) ;
- 2 carpelles soudés formant un ovaire supère ; style bifide ;
- plantes souvent aromatiques, les feuilles contenant des glandes qui renferment des huiles essentielles.

### III.1.3.3. Systématique botanique :

- **Règne:** Plantae
- **Embranchement :** Spermaphyte (Phanérogame)
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Ordre :** Lamiales (dicotylédones gamopétales)
- **Famille :** lamiacée
- **Genre:** *Ocimum*
- **Espèce :** *Ocimum basilicum*
- **Nom botanique :** *Ocimum basilicum* L.
- **Commun :** , basilic (FR), basil (EN), ريحان (AR).
- **Appellation locale :** حبيق, lahbaq, hbeq el aila, Rehan [26]

- **Autre noms :** Basilic, basilic commun, basilic officinal, basilic des jardins, herbe royale, oranger des savetiers, herbe aux sauces, pistou ou pesto son équivalent italien, reyhan en Turquie [27].

### III.1.4.Morphologie et description botanique :



(A) *Ocimum basilicum*. d'Algérie



(B) Dessin représente l'espèce

**Figure(02) :** *Ocimum basilicum* L.

- **Les fleurs :** bilabiées et petites, ont la lèvre supérieure découpée en quatre lobes, entourée d'une substance mucilagineuse qui se renfle dans l'eau comme celle de la graine de lin [28].Elles sont de couleur crème, blanche, rose ou violacée selon la variété [29].
- **La tige:** quadrangulaire, pouvant atteindre jusqu'à 1m de hauteur. Anguleuses et ramifiées portent des feuilles opposées de forme ovale à oblongue et de couleur généralement verte à l'aspect brillant [30].
- **Les feuilles :** Sont opposées, denticulées dans la partie supérieure, ovales, cuvées à la base, acuminées au sommet, elles sont petites ou large et toujours très brillantes « vert pale à vert foncé » [30].
- **Graines :** petites (fines), oblongues et marron foncé, la durée de germinative de cette graine est de huit ans [30].
- **Le système racinaire :** est du type pivotant [31]
- **floraison :** été
- **Récolte :** Juillet à Septembre [32]

**III.1.5. Partie utilisable en médecine :** feuilles et sommités fleuries par infusion, macération et décoction [33].

**III.1.6. Composition chimique d'*Ocimum basilicum L.* :**

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

La composition chimique du basilic se diffère d'une variété à une autre et d'une région à une autre selon le climat et les pratiques de culture. A la suite on citera quelque exemple :

Selon **Khedimallah Nouzha; Filali Imene Nihad(2018)** [34] pour l'*O.basilicum L.*, on aurait :

**Tableau (01) :** La composition chimique d'*Ocimum basilicum*.

Métabolites secondaires	Molécule identifiée
<b>polyphénols</b>	Flavonoïdes, Anthocyanes, tanins
<b>Huiles essentielles</b>	Linalol, Methylchavicol, Cinnamate de méthyle, Eugénol, Cis-ocimene + 1.8 – cineole.

Richard et al, (1990) – donnent les écarts dans la composition des huiles essentielles de basilic qui sont rassemblés dans le **Tableau 02**.

**Tableau (02) :** Les composés majoritaires des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*.

Composé	Pourcentage %
<b>Linalol</b>	0.2 à 75.4 %
<b>Methylchavicol</b>	0.3 à 88.6 %
<b>Cinnamate de méthyle</b>	Traces à 15.5 %
<b>Cis-ocimene + 1.8 - cineole</b>	Traces à 13.6 %
<b>Eugénol</b>	Traces à 11.2 %



### III.1.7. Origine et répartition géographique d'*Ocimum basilicum* L. :

C'est une plante herbacée annuelle originaire de l'Inde et de l'Asie tropicale qui s'est acclimatée en Europe tout au début des temps historiques [26].

Actuellement, elle pousse à l'état sauvage dans les régions tropicales et subtropicales, incluant l'Afrique centrale et le Sud-Est d'Asie. Cette espèce cultivée depuis plusieurs décennies pour son utilisation médicinale et aromatique, est commercialisée dans de nombreux pays à travers le monde, dont la France, la Hongrie, la Grèce et d'autres pays du Sud de l'Europe, l'Egypte, le Maroc et l'Indonésie. Elle pousse également dans plusieurs États américains, dont l'Arizona, le Nouveau-Mexique et en Caroline du Nord, ainsi qu'en Californie, où une qualité supérieure de feuille est cultivée [35] [36].



Figure (03) : Répartition géographique du basilic.

### III.1.8. Toxicité d'*Ocimum basilicum* L. :

L'estragole (le méthyl chavicol) est la substance toxique du basilic.

Les plantes contenant l'estragole (estragon, basilic, anis et fenouil) peuvent toucher le foie et induire des cancers. L'estragole est en effet un carcinogène génotoxique (qui induit des altérations du gène). Mais comme à chaque fois, tout dépend de la dose ingérée.

L'huile essentielle est contre-indiquée pendant la grossesse ou l'allaitement, chez les nourrissons et les jeunes enfants, la dose létale (DL50) des HE du basilic est égale 1 - 2 g/Kg. Son utilisation sur de longues périodes est également prohibée [37], [38].

### **III.1.9. Utilisation d'*Ocimum basilicum* L. :**

Le basilic est une plante médicinale utilisée lors des problèmes digestifs, se présente sous forme de tisane (infusion) ou d'huile essentielle et en décoction ; la forme sous laquelle est plus utilisée.

- Pour l'alimentation :

Comme herbe aromatique fraîche, les feuilles sèches sont utilisées pour assaisonner des ragouts, des dressages et des potages. Les feuilles et les jeunes tiges sont séchées, ou utilisées comme source d'huile essentielle [39].

- En parfumerie :

Comme huile essentielle pour les préparations de parfum et liqueurs la plante fraîche donne une essence contenant de l'eucalyptol et de l'eugénol.

- En pharmacie :

Propriété : stomachique, carminatif, lactagogue, stupéfiant léger.

Mode d'emploi : infusion, poudre, essence, envolé, cataplasme, sédative, antispasmodique des voies digestives, diurétique, antimicrobienne contre l'indigestion et enfant que vermifuge, elle éloignerait les moustiques et c'est un remède contre l'héméralopie [33].

### **III.1.10. Travaux sur l'*Ocimum basilicum* L. :**

De nombreux chercheurs se sont intéressés à l'étude de cette plante, on cite l'étude de **CARRON, REY et BRUTTIN [40]**, sur l'étude de variétés de basilic en montagne. Cet essai a été fait en Belgique sur cinq types de basilic (grand vert, laitue, fin vert, rouge et exotique) en 1996 et 1997 car elle est utilisée en conservation traditionnelle de certains aliments (concombre), ses huiles essentielles et leurs composants commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation [41]. Sans aucun doute, les conservateurs alimentaires chimiques ou synthétiques font partie de la panoplie des techniques et des moyens qui

permettent d'assurer la sécurité du consommateur, d'allonger la durée de vie des produits alimentaires et de limiter leurs altérations par l'oxydation [42].

Pour la composition de ces huiles essentielles, on peut citer les travaux suivants: détection et comparaison chimique de plusieurs variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) cultivée en trois régions différentes de sud de l'Algérie de **KHAMOULI** et **GRAZZA 2007** [43], aussi que étude des activités antibactériennes et antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* L. (basilic) dans la région de Ain Defla, par : **Melle, MétaliMouna , Mme.Kerras Kheira (2016)**.

Cependant, **Belhadj et al** [44] ont montré que la recherche de nouvelles molécules s'est avérée nécessaire car, ces substances synthétiques ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation ; elles sont avérées responsables d'effets indésirables. En effet, le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) sont suspectés avoir des effets carcinogènes.

Le recours aux huiles essentielles s'avère être un choix pertinent face à un risque de contamination précis ou à la nécessité de réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques.

## **III.2.Artemisia campestris L. :**

### **III.2.1.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 [45].Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes [46].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 [47].

### **III.2.2.Variétés d'Artemisia campestris :**

Les différentes variétés d'*Artemisia campestris* L. se distinguent par leur couleur, leur forme, leur taille et leur parfum, dont les plus connus sont : [48]

- *Artemisia campestris* var. *alpina* DC.
- *Artemisia campestris* var. *borealis* (Pall.) M. Peck

- *Artemisia campestris* var. *campestris*
- *Artemisia campestris* var. *canadensis* (Michx.) S.L. Welsh
- *Artemisia campestris* var. *caudata* (Michx.) E.J. Palmer & Steyererm.
- *Artemisia campestris* var. *douglasiana* (Besser ex Hook.) B. Boivin
- *Artemisia campestris* var. *glomerata* Pamp.
- *Artemisia campestris* var. *gmeliniana* Besser
- *Artemisia campestris* var. *latisecta* Fernald
- *Artemisia campestris* var. *macilenta* Maxim.
- *Artemisia campestris* var. *marschalliana* (Spreng.) Poljakov
- *Artemisia campestris* var. *pacifica* (Nutt.) M. Peck
- *Artemisia campestris* var. *petiolata* S.L. Welsh
- *Artemisia campestris* var. *pubescens* (Ledeb.) Trautv.
- *Artemisia campestris* var. *purshii* (Besser) Cronquist
- *Artemisia campestris* var. *scouleriana* (Besser) Cronquist
- *Artemisia campestris* var. *sericophylla* (Rupr.) Poljakov
- *Artemisia campestris* var. *spithamaea* (Pursh) M. Peck
- *Artemisia campestris* var. *steveniana* Besser
- *Artemisia campestris* var. *strutziae* S.L. Welsh
- *Artemisia campestris* var. *wormskioldii* (Besser) Cronquist

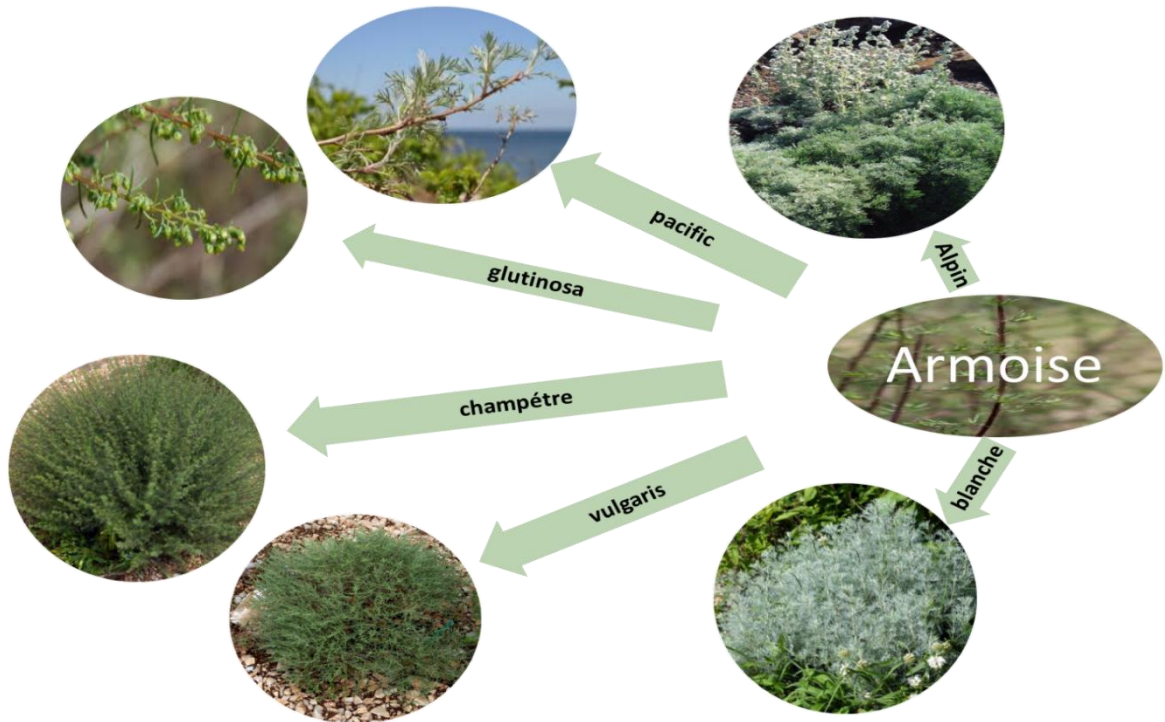


Figure (04) : Présentation de quelques variétés d'*Artemisia* L.

### III.2.3. Classe systématique :

#### III.2.3.1. Présentation de la famille des *Asteracées* :

Les *Asteracées* renferment 408 espèces réparties en 109 genres [49]. Ces derniers désignent des plantes herbacées, buissons ou arbres ; matières de réserve constituées d'oligosaccharides, entre autre l'inuline, canaux résinifères souvent présents, de même que des laticifères, mais l'un des deux manquant parfois, présence générale de poly-acétylènes et des huiles essentielles terpéniques, généralement à lactones sesquiterpènes (mais sans composés iridoïdes) [50].

#### III.2.3.2. Caractéristique générales de la famille des *Asteracées* :

De même pour famille *Asteracée*, on peut citer quelques caractéristiques générales permettant de reconnaître une plante appartenant à cette famille :

- fleurs nombreuses et sessiles, réunies sur un réceptacle entouré d'un involucre de bractées (capitule) ; ces dernières sont en général disposées sur plusieurs rangs, les externes étant plus courtes que les internes ; les combinaisons des 2 types de fleurs ont donné 3 groupes

principaux à l'intérieur de la famille (capitule à fleurs toutes ligulées, ou toutes tubulées, ou composé des 2 types) [51].

- fleur tubulée à corolle généralement à 4-5 pétales soudés en un tube prolongé par 4-5 lobes ou dents ;
- fleur ligulée à pétales soudés en un tube prolongé latéralement par une languette (ou ligule) ;
- fleurs généralement hermaphrodites, parfois unisexuées, les périphériques pouvant être stériles ;
- calice très réduit ou nul, consistant souvent en une touffe de poils ou de soies ;
- 4-5 étamines insérées sur le tube de la corolle ; anthères soudées en tube entourant le style ;
- 2 carpelles soudés formant 1 ovaire infère à 1 loge ;
- 1 style et 1 stigmate bifide ;
- fruit : akène, pouvant être surmonté d'une aigrette de soies (plumeuses ou non) [51].

### III.2.3.3. Systématique botanique [52] :

- **Règne** : Plantae
- **Sous règne** : Tracheobionta
- **Embranchement** : Spermatophyta
- **Sous embranchement** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous classe** : Asteridae
- **Ordre** : Asterales
- **Famille** : Asteraceae
- **Sous famille** : Asteroideae
- **Tribu** : Anthemideae
- **Sous Tribu** : Artemisiinae
- **Genre** : *Artemisia*
- **Espèce** : *Artemisia campestris* L.
- **Noms français** : Armoise champ ; Armoise des champs ; Armoise rouge.
- **Nom anglais** : Field Sageort; Field southernwood; Sagewort; Sowhernwood  
Wormwoo
- **Nom communs** : *Dgouft, Alala, التقفوت*

### III.2.4.Morphologie et description botanique :



(A) *Artemisia campestris* d'Algérie.



(B) Dessin représente l'espèce.

**Figure (05) :** *Artemisia campestris* L.

- Est une plante vivace [53]
  - **Les tiges :** robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm.
  - **Les feuilles :** grabelés d'un vert foncé, les rameaux rougeâtre,
  - **Les capitules :** très petits, étroits (1 à 1.5 cm) ovoïdes ou coniques, à involucre.
  - **Les fleurs :** ne contient que 3 à 8 de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtre à brunâtre.
  - **les fruits :** sont akènes à saveur amer et agréable odeur ; présente dans les zones semi arides du bassin méditerranéen.
  - **L'odeur :** très aromatique
  - **Saveur :** amère.
  - **La famille :** astéracées.
  - **La récolte :** printemps ; été. [54]
  - **Floraison :** Août-septembre. [54]

**III.2.5.La partie médicale :** les feuilles et sommités fleuries par infusion, macération et décoction [55].

### III.2.6. Composition chimique d'*Artemisia campestris* A. :

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

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* A. est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles [56] [57].

**Tableau (03) :** La composition chimique d'*Artemisia campestris*.

Métabolites secondaires	Molécule identifiée
Polyphénols	Flavonoïdes (flavones, , flavanone) Polyphénols Tanins
Huiles essentielles	Monoterpènes, sesquiterpènes
Coumarines	Hydroxycoumarines, esculetin

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré [37], elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante [58].

**Tableau (04) :** Les composés majoritaires des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* [59].

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
<b><math>\beta</math>-pinène</b>	24 - 49.8	$\alpha$ -Terpinéol	0.6 - 5.5
<b><math>\alpha</math>-pinène</b>	5.9 – 12.5	Terpinène-4-ol	0.7 – 1.9
<b>p-cymène</b>	3.4 – 9.4	$\gamma$ -Muroloène	0.3 - 5.4
<b>Limonène</b>	4.9 – 9.3	$\gamma$ -cardinène	0.2 – 2.4
<b><math>\beta</math>-ocimène</b>	0.2 – 5.5	Spathuléol	1.2 – 8.9
<b><math>\gamma</math>-terpinène</b>	2 – 6.5	$\beta$ -Eudesmol	1 – 6.4



### III.2.7. Origine et répartition géographique d'*Artemisia campestris* L. :

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya [60]. dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud [61], d'après Kyeong W.Y., Anwar M., et Jong H.K, *Artemisia campestris* L. est originaire de l'Asie.

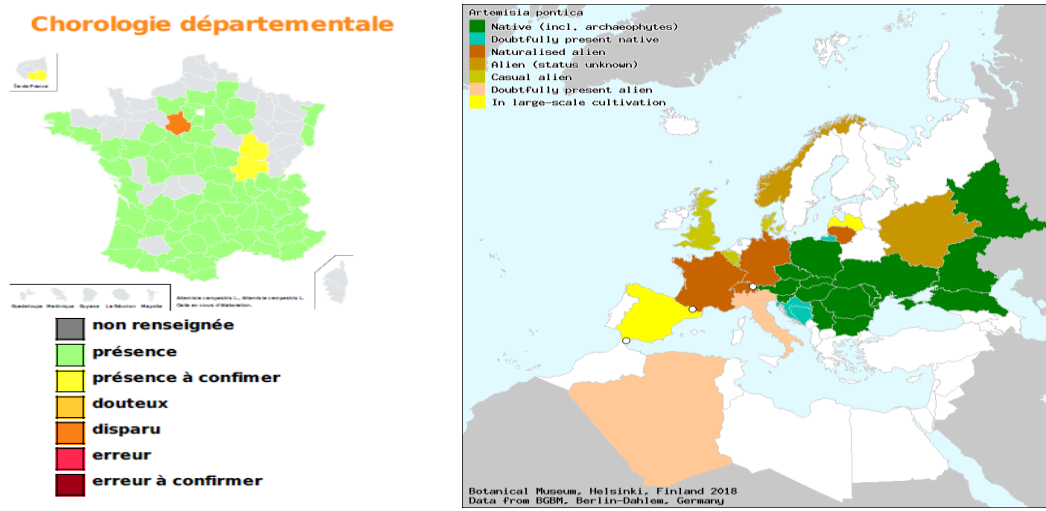


Figure (06) : Répartition géographique d'*Artemisia campestris*.

### III.2.8. Toxicité d'*Artemisia campestris* :

Le traitement à base d'armoise (*A. campestris*) est contre indiqué chez les femmes enceintes et allaitantes ainsi que chez les enfants. Les sujets ayant des problèmes d'allergie et des problèmes d'insuffisance rénale ou hépatique doivent s'abstenir de prendre de l'armoise.

Les effets indésirables les plus fréquemment notés sont les allergies de contact provoquées par les lactones sesquiterpéniques contenus dans la plante et les pollens.

Le non-respect des doses prescrites peut également causer des irritations gastriques et intestinales, voire une intoxication [62] [63].

### III.2.9. Utilisation d'*Artemisia campestris* :

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

En usage local elle est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles [64]. Elle est également utilisée dans le traitement de diabète [65].

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux [55].

On cite les plus importantes :

- Activité antioxydante
- Activité antibactérienne
- Effets insecticide
- Propriétés allélopathiques
- Activité hypoglycémiant
- Effets antipoison

### III.2.10. Travaux sur l'*Artemisia campestris* :

De nombreux chercheurs se sont intéressés à l'étude de cette plante, on cite l'essai des chercheurs de l'université du **Michigan** en **1993** qui ont découvert le mécanisme d'action de l'artémisinine son groupe peroxyde semble être la clé de son efficacité contre le parasite du paludisme. Cette découverte a encouragé les recherches pour un éventuel effet de l'artémisinine contre d'autres protozoaires. En médecine vétérinaire, **Allen et al** [66] ont prouvé en **1996** l'effet anticoccidien de l'artémisinine issue d'*Artemisia* lors d'une coccidiose chez le poulet de chair. En **1993** **Yang et Liew** ont démontré pour la première fois l'effet de l'artémisinine contre une leishmaniose expérimentale induite par *Leishmania major*. D'autres études de **Rupashree et al** 2007 [67] ont prouvé son efficacité contre *Leishmania donovani*.

**Akrout 2011** a prouvé l'activité anti tumorale d'*Artemisia*, L'huile essentielle et les autres extraits d'*A. campestris*, qui présentaient une activité antitumorale importante contre les cellules HT-29 méritent des recherches supplémentaires sur la chimioprévention et le traitement du cancer du côlon [68].

**Le Floc'h E** *A.campestris* a démontré avoir propriétés allélochimiques en inhibant la croissance et la germination de certaines espèces d'herbes environnantes [69].

Les principaux composants de l'huile essentielle de feuilles d'*A.campestris* de la Turquie étaient  $\alpha$ -pinene et  $\beta$ -pinene (21%), eucalyptol (8%), L-thujone (4%), alcool thuylique (15%), le géraniol (13%) et une composante inconnue (11%) [70].

En Algérie, *Artemisia* est largement répandue. Une étude ambitieuse est en cours de réalisation au niveau du laboratoire **PADESCA** (Département des Sciences Vétérinaires-Université Mentouri de Constantine) au sein du département des sciences vétérinaires de Constantine. Le but est la mise en valeur des effets de cette espèce steppique pour le traitement et la prévention de la coccidiose aviaire au niveau des élevages algériens.



## **Chapitre 2**

**Métabolites secondaires et activités biologiques**

### **Introduction :**

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées [1]. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc [2].

Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours claires. Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose [3].

### **I. Les composés phénoliques**

#### **I.1. Définition :**

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'ils sont difficile à définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins à un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, ou hétéroside.

Parmi les composés phénoliques, dont plus de 8000 sont connus, les flavonoïdes, les quinones phénoliques, les lignanes, les xanthonés, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable [4] [5].

#### **I.2. Localisation et distribution :**

Les polyphénols sont majoritairement présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux [6]. Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de

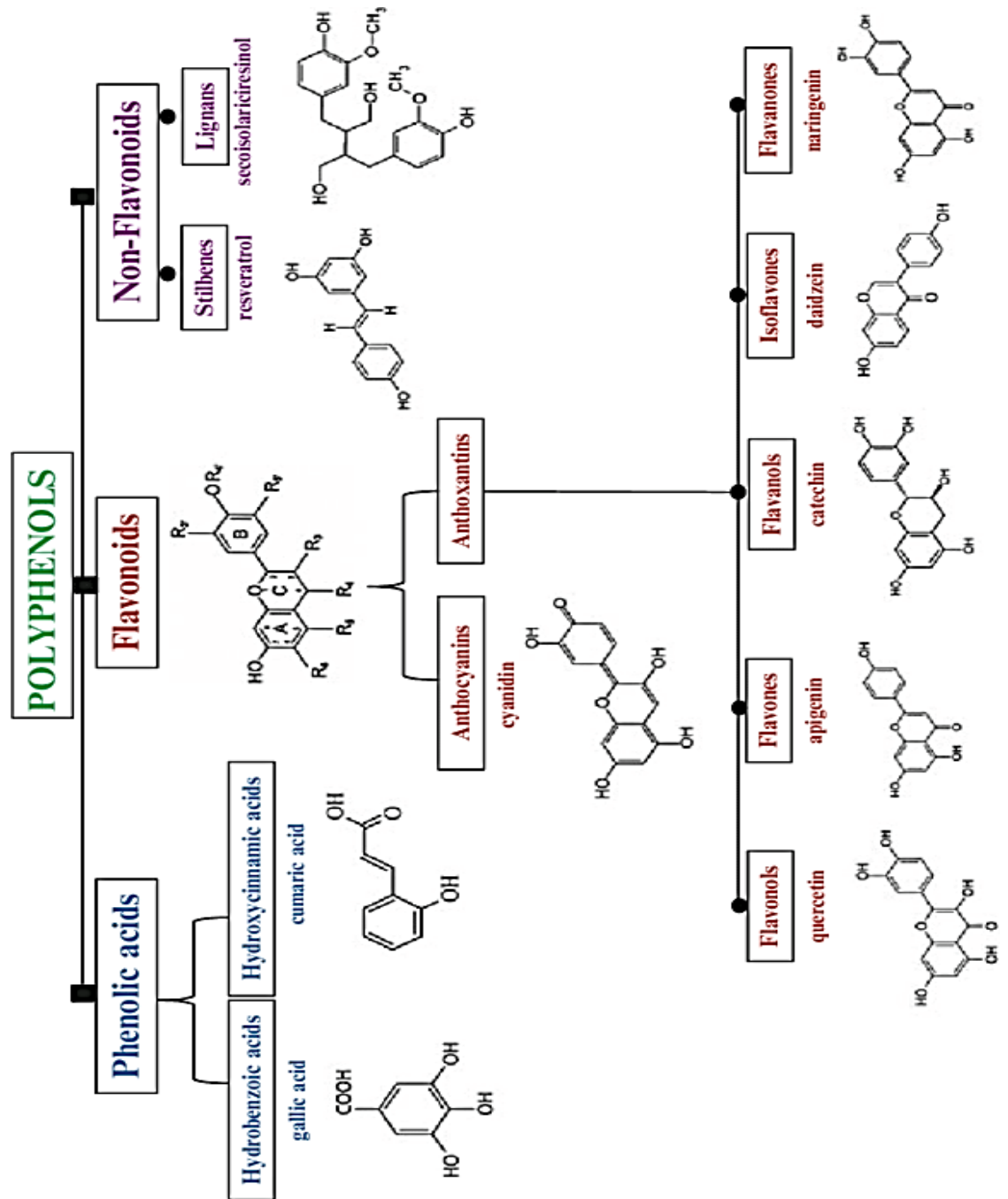
fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et les légumes contribuent environ à la moitié de notre apport en polyphénols. Les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportent le reste [7].

**I.3. Les principales classes des composés phénoliques :**

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**tableau 01**) qui se différencient d’abord par la complexité du squelette de base (allant d’un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées) (**figure 01**). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d’oxydation, d’hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d’autres molécules (glucides, lipides, protéines) [8]. Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C<sub>6</sub> aux flavonoïdes en C<sub>15</sub> et à des molécules proches.

**Tableau (05) : Les principales classes de composés phénoliques [9]**

Squelette carboné	Classe	Exemple	origine
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins		Raisin rouge, Kaki



Figure(07) : Les principales classes de composés phénoliques

❖ **Phénols simple et acides phénoliques :**

a. **Définition :**

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [10].

**b. Classification et structure :**

**1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque :**

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxy-diphénique) sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, qu'est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [10].

**2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique :**

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides para-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents [11]. Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation.

**3. Phénols simples :**

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour leur toxicité vis-à-vis des microorganismes.

**b. Localisation et distribution :**

Les acides phénoliques sont des dérivés de benzoïque et acide cinnamique et se sont présents chez toutes les céréales, grains (mils, sorgho, orge, maïs, avoine, seigle, blé, riz, sorgho...), Epices, fraise, Citrus. [9].

**c. Activités biologiques des acides phénoliques [11]:**

- Antibactériennes
- Antifongiques
- Anti oxydantes
- Anti inflammatoire

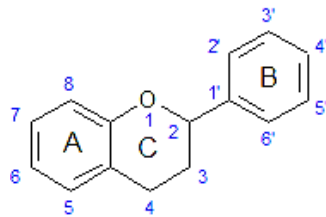


❖ **Les flavonoïdes :**

**a. Définition :**

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues des plantes présentes dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau Flavone ou 2- Phényl-Chrome portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygénés (cycle C) [12].



**Figure (08) :** structure de base des flavonoïdes

**b. Classification et structure :**

**1. Les Flavones :** (Lutéoline, Apigénine) Elles sont particulièrement abondantes chez les légumineuses et elles dérivent des flavonones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle.

**2. Les flavonones :** (Naringénine, Hesperétine) Dérivent des «chalcones» par une cyclisation au centre du squelette d'où un hétérocycle; elle est réalisée par la chalcone isomérase (CHI).

**3. Les chalcones :** Le mot «chalcone» provient du mot grec chalcos (cuivre). Elles gardent la structure du tétra ou trihydroxychalcone.

On peut signaler deux autres types de composés dont la distribution dans la plante est plus restreinte.

**4. Les flavonols :** (Myricétine, Quercétine, Kaempférol) Ils se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3.

**5. Isoflavones :** Dérivent aussi des flavonones, mais outre une oxydation centrale; il y'a transposition du cycle latéral du C2 au C3 de l'hétérocycle.

**6. Aurones :** Le mot «aurone» provient du latin aurum (Or). Ce sont des homologues des flavones, mais à hétérocycle pentagonal.

Les quatre classes de flavonoïdes se trouvent à l'état naturel sous forme d'aglycones, mais surtout sous forme de glycosides [13].

**c. Localisation et distribution :**

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes [14]. Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques [15].

**d. Activités biologiques :**

- Activité antioxydante
- Activité antibactérienne
- Effets antiallergiques

À côté des activités citées précédemment, les flavonoïdes possèdent d'autres activités :

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [16]. Ils sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [17]. Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [18]. **Ong et Khoo** ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [19].

❖ **Les tanins :**

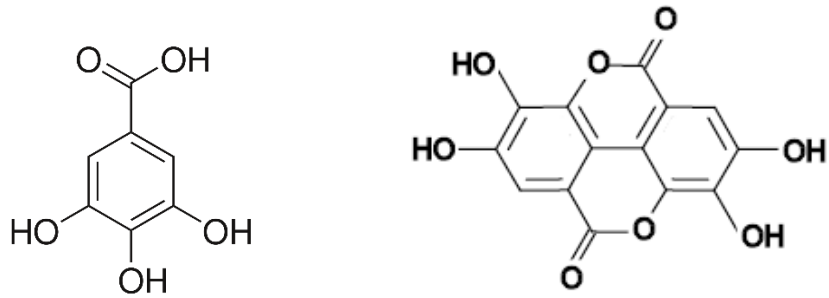
**a. Définition :**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da [18].

**b. Classification et structure :**

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés [15].

**1. Tanins hydrolysables :** Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques (donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique) et les tanins ellagiques (sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique) [20].



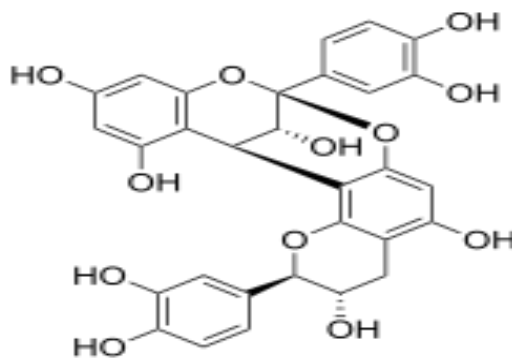
**Tanins galliques (Gallo tanins)**

**Tanins ellagiques (Ellagitanins)**

**Figure (09) :** structure de base des tanins hydrolysables

**2. Tanins condensés :**

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine [21]. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre [20].



**Figure (10) :** structure de base des tanins condensés

**c. Localisation et distribution :**

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacées, les rosacées [22]. Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines [21].

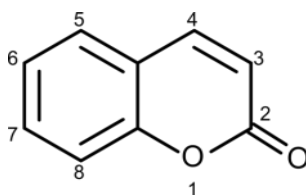
**d. Activités biologiques des tanins :**

Les décoctions et les autres préparations à base de drogues riches en tanins 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. En usage interne, elles sont utiles en cas de catarrhe intestinal, de diarrhée, d'affections de la vésicule, ainsi que comme antidote (contre-poison) lors d'empoisonnement par des alcaloïdes végétaux) [23].

❖ **Les coumarines :**

**a. Définition :**

Les coumarines sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, généralement hydroxylés en position 7, en 6, 7 et en 6, 7, 8 [24].

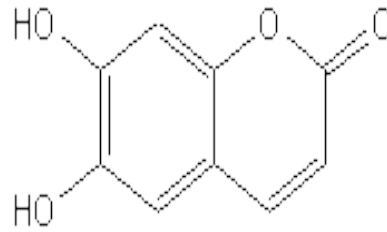
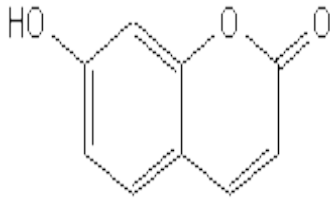


**Figure (11) :** structure de base des coumarines

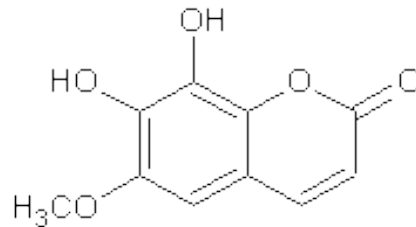
**b. Classification et structure :**

On distingue deux groupes de coumarines :

1. Celles dérivant de la 1,2-benzopyrone par substitution d'un ou plusieurs hydrogènes portés par les carbones 6,7 ou 8 par des groupes hydroxy (OH) ou méthoxy (OCH<sub>3</sub>), comme par exemple [25] : L'ombelliférone, présente dans les carottes, le coriandre ; L'esculétine, présente dans les marrons d'Inde ou bien Le fraxétol que l'on trouve dans l'écorce des frênes ou des marrons d'inde

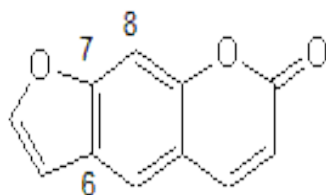


**Figure (12) :** structure de L'ombelliférone    **Figure (13) :** structure de L'esculétine

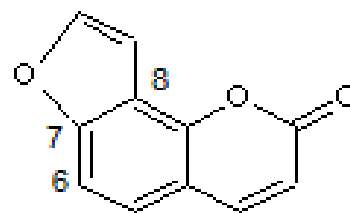


**Figure (14) :** structure de fraxétol

- 2.** Les furocoumarines ou furanocoumarines, formées d'un noyau furane, accolé au noyau 1,2-benzopyrone substitué ou non :-En 6,7, ce sont les furocoumarines linéaires comme par exemple le psoralène.
- En 7,8, ce sont de furocoumarines angulaires comme par exemple : L'angélicine (ou isopsoralène):



**Figure (15) :** structure de psoralène



**Figure (16) :** structure de L'angélicine

**c. Localisation et distribution :**

Chez les plantes, on trouve les coumarines dans les téguments des graines, des fruits, des fleurs, des racines, des feuilles et des tiges, bien que la plus grande concentration se trouve généralement dans les fruits et les fleurs. La coumarine fonctionne comme défenseur de la plante, car elle a des propriétés suppressives d'appétit, ce qui

expliquerait son extension généralisée, surtout chez les graminées et les trèfles. Cela provoque la diminution de l'impact du pâturage sur le fourrage [26].

### **d. Activité biologique des coumarines :**

L'activité enregistrée de la coumarine et de ses dérivés est, entre autres, anti-tumorale, anti-arythmique, anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique (soulagement de la douleur) et contre l'hypertension, l'ostéoporose et le VIH. Ils sont également utilisés dans les traitements contre l'asthme, et ont été utilisés contre le lymphoedème. Les coumarines sont utilisées comme agents de saveur ou dans les parfums (la fève de tonka est parfois utilisée pour l'aromatisation des tabacs) ; on les utilise aussi dans l'industrie pharmaceutique, la coumarine à des propriétés anti-inflammatoires, l'esculétine ou l'esculine sont des agents vitaminiques P à action marquée sur la perméabilité capillaire [26].

### **I.4. L'obtention des composés phénoliques :**

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement, l'identification et l'utilisation de ces composés phénoliques. Cependant, il n'y a pas de méthode d'extraction unique et standard. L'extraction est influencée par la méthode choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme le pH, la température, le rapport quantité de matière / volume du solvant, le temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans cette procédure [27].

L'extraction solide-liquide est la procédure la plus couramment utilisée. En effet, ces techniques sont faciles d'utilisation, très efficaces et peuvent être largement appliquées.

Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther éthylique et l'acétate d'éthyle. Cependant, pour les composés très polaires tels que les acides phénoliques ne pouvant être extraits complètement avec les solvants organiques purs, les mélanges d'alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés [28]. Les solvants moins polaires (dichlorométhane, chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour éliminer les composés apolaires (cires, huiles, chlorophylle). Classiquement, les techniques d'extractions solide-liquide utilisées sont: l'infusion, la

macération, la décoction, l'extraction au Soxhlet et dans certains cas, l'extraction par sonication et l'extraction assistée par microondes.

**I.4.1. L'infusion :** c'est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes et le thé.

**I.4.2. La macération :** c'est une méthode d'extraction solide-liquide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur.

**I.4.3. La décoction :** elle consiste à réaliser l'extraction à température d'ébullition du solvant. Cette opération s'oppose à la macération dans laquelle le solvant d'extraction est à température ambiante [27].

**I.4.4. Le Soxhlet :** c'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitante [29].

**I.4.5. L'extraction par sonication :** c'est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Comme le Soxhlet, l'extraction par sonication permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels [30].

**I.4.6. L'extraction assistée par microondes :** c'est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement élevée (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [31].

## II. Les huiles essentielles

### Généralité :

Il y a 7.000 ans, les huiles aromatiques étaient utilisées en Inde. Leurs principes thérapeutiques étaient connus et les essences étaient employées dans la médecine [32]. Chaque peuple a apporté son génie à l'art des arômes et des parfums. Car, dans toutes les civilisations antiques, les essences sont là pour purifier l'esprit, protéger le corps, élever l'âme, et régénérer l'être [33].

On appelle huiles essentielles (ou parfois « essences végétales ») les liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante.

Elles sont largement réparties dans le règne végétal: Conifères, Myrtacées, Ombellifères, Labiées, Composées.

Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HE peut alors varier d'un organe à l'autre [34].

### II.1.Définition :

Huiles : caractère hydrophobe et liquide plus ou moins fluide.

Essentielle : caractère unique et typique (de l'odeur comme des propriétés thérapeutiques).

Une huile essentielle ne renferme pas du tout de gras, malgré ce que l'on pourrait croire. Elle ne contient pas non plus d'eau, ni d'alcool. En revanche, elle est constituée de centaines de molécules différentes [35].



Figure (17) : les différents constituants d'HE.



## II.2. Localisation et distribution :

- ✧ Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante :
- ✧ Les feuilles (menthe poivrée, basilic grand vert),
- ✧ Les fleurs (lavande, ylang),
- ✧ Le bois (cèdre Atlas, santal blanc),
- ✧ Les racines (gingembre, valériane, vétiver),
- ✧ Les graines (coriandre, anis vert, carotte)

## II.3. Les principales classes des huiles essentielles :

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction (infra), ou les effets biologiques (infra : pharma/cosmeto ou sanitaire.) On retient huit classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes) avec les composants importants suivants :

- huiles essentielles riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques : HE de térébenthine (alpha-pinène, camphène), HE de genévrier (alpha-pinène, camphène, cadinène), HE de citron (limonène) ;
- huiles essentielles riches en alcools : HE de coriandre (linalol), HE de bois de rose (linalol), HE de rose (géraniol) ;
- huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools : HE de lavande (linalol, acétate de linalyle), HE de menthe (menthol, acétate de menthyle) ;
- huiles essentielles riches en aldéhydes : HE de cannelle (aldéhyde cinnamique), HE de citronnelle (citral et citrannal), HE d'eucalyptus citriodora (citronellal) ;
- huiles essentielles riches en cétones : HE de carvi (carvone), HE de sauge (thuyone), HE de thuya (thuyone), HE de camphrier (camphre) ;
- huiles essentielles riches en phénols : HE de thym (thymol), HE de sarriette (carvacrol), HE d'origan (thymol et carvacrol), HE de girofle (eugénol) ;
- huiles essentielles riches en éthers : HE d'anis vert, de badiane (anéthol), HE de fenouil (anéthol), HE d'eucalyptus globulus (eucalyptol), HE de cajeput (eucalyptol), HE de niaouli ;
- huiles essentielles riches en peroxydes : HE de chénopode (ascaridol), HE d'ail (allicine) ;

•huiles essentielles sulfurées : HE de crucifères et de Liliacées.

**Note** : La plupart des huiles essentielles sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de monoterpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc. Il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée composée à plus de 99,5 % de salicylate de méthyle (un ester aromatique) [36].

### **II.4.L'obtention des huiles essentielles :**

Il y a plusieurs techniques, variables, selon la partie du végétal traitée, selon sa fragilité de la plante utilisée, selon ses caractéristiques botaniques :

#### **II.4.1.Par entraînement à la vapeur :**

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la Vapeur d'eau, trois variantes sont possibles selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter.

##### **❖ Hydrodistillation simple :**

La plante est mise en contact avec de l'eau dans un ballon lors d'une extraction au - laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité [19].

##### **❖ Distillation à vapeur saturée :**

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont être séparé par décantation du distillat refroidi [37].

##### **❖ Hydrodiffusion :**

L'hydrodiffusion consiste à faire passer un courant de vapeurs d'eau à très faible pression à travers la masse végétal. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes [38].

#### **II.4.2.L'expression à froid :**

La technique de l'expression à froid est réservée aux zestes d'agrumes (citron, citron vert, orange douce, bigarade). L'huile essentielle des agrumes est contenue dans de petites poches situées sur la peau du fruit (zeste, péricarpe). On utilise des presses hydrauliques. La pulpe et l'huile essentielle sont ensuite séparées à la centrifugeuse [35].

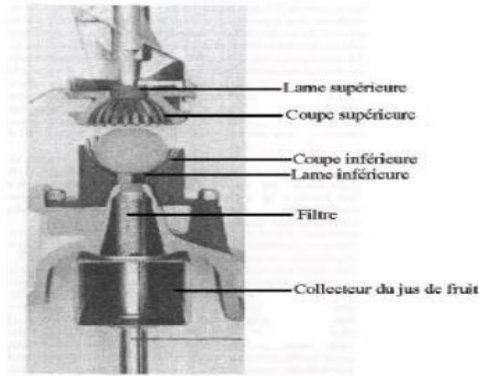
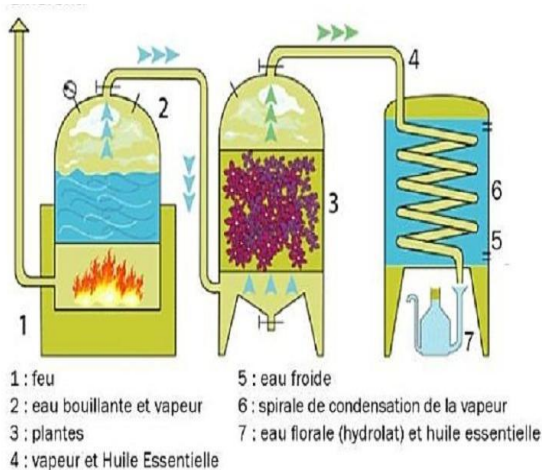


Figure (18) : l'expression à froid

### II.4.3. L'enfleurage :

La technique de l'enfleurage (ou macération à saturation) est ancienne, et n'est plus guère utilisée. Elle concerne les plantes ou parties de plantes dont l'arôme est trop fragile pour supporter la chaleur d'une distillation. Elle consiste à étendre une couche de ces substances végétales fragiles entre deux couches épaisses de matière grasse. On renouvelle les matières végétales fraîche jusqu'à saturation de la graisse en fragrance. On débarrasse alors le parfum de l'excédent gras et l'on obtient une essence absolue (ou absolu), une huile essentielle de très haute qualité olfactive [39].

Il existe deux types d'enfleurage : l'enfleurage à chaud et celle à froid.



Enfleurage à chaud



Enfleurage à froid

Figure (19) : technique d'enfleurage

#### II.4.4.L'extraction par solvants :

La technique de l'extraction par solvants remplace aujourd'hui celle de l'enfleurage. Elle aboutit également à l'obtention d'absolus très recherchés par les parfumeurs pour la pureté de leur puissante odeur [39].

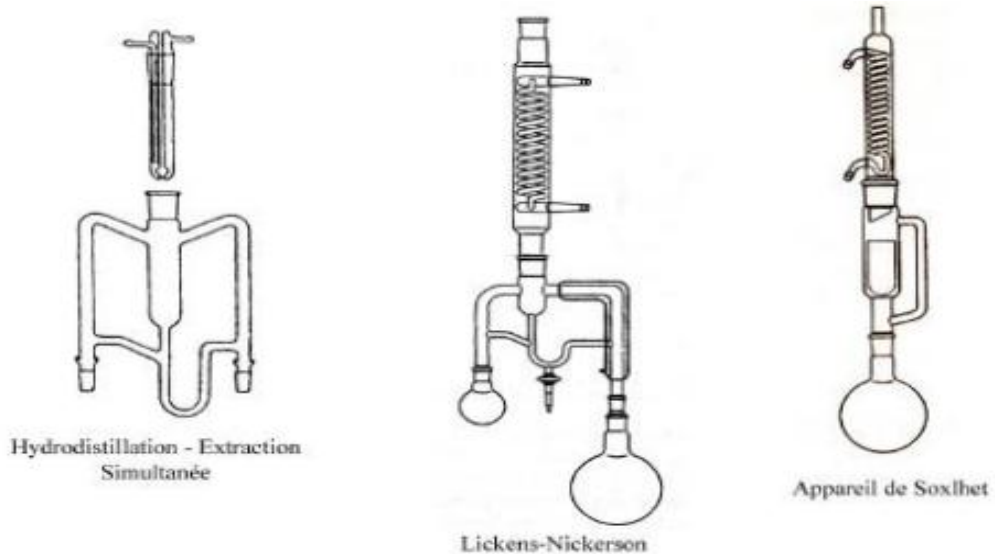


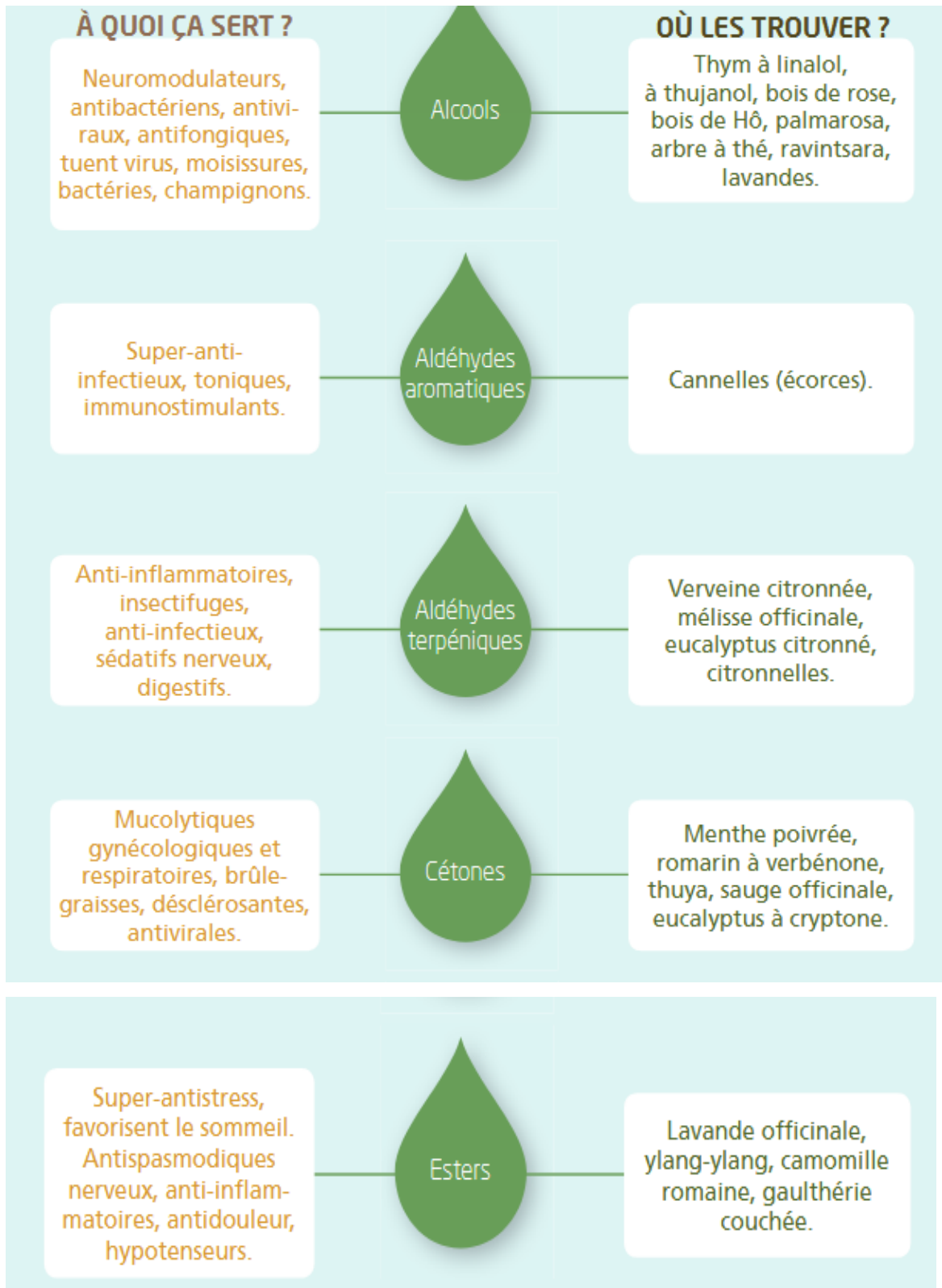
Figure (20) : Les différents types d'extraction par solvants volatils [39]

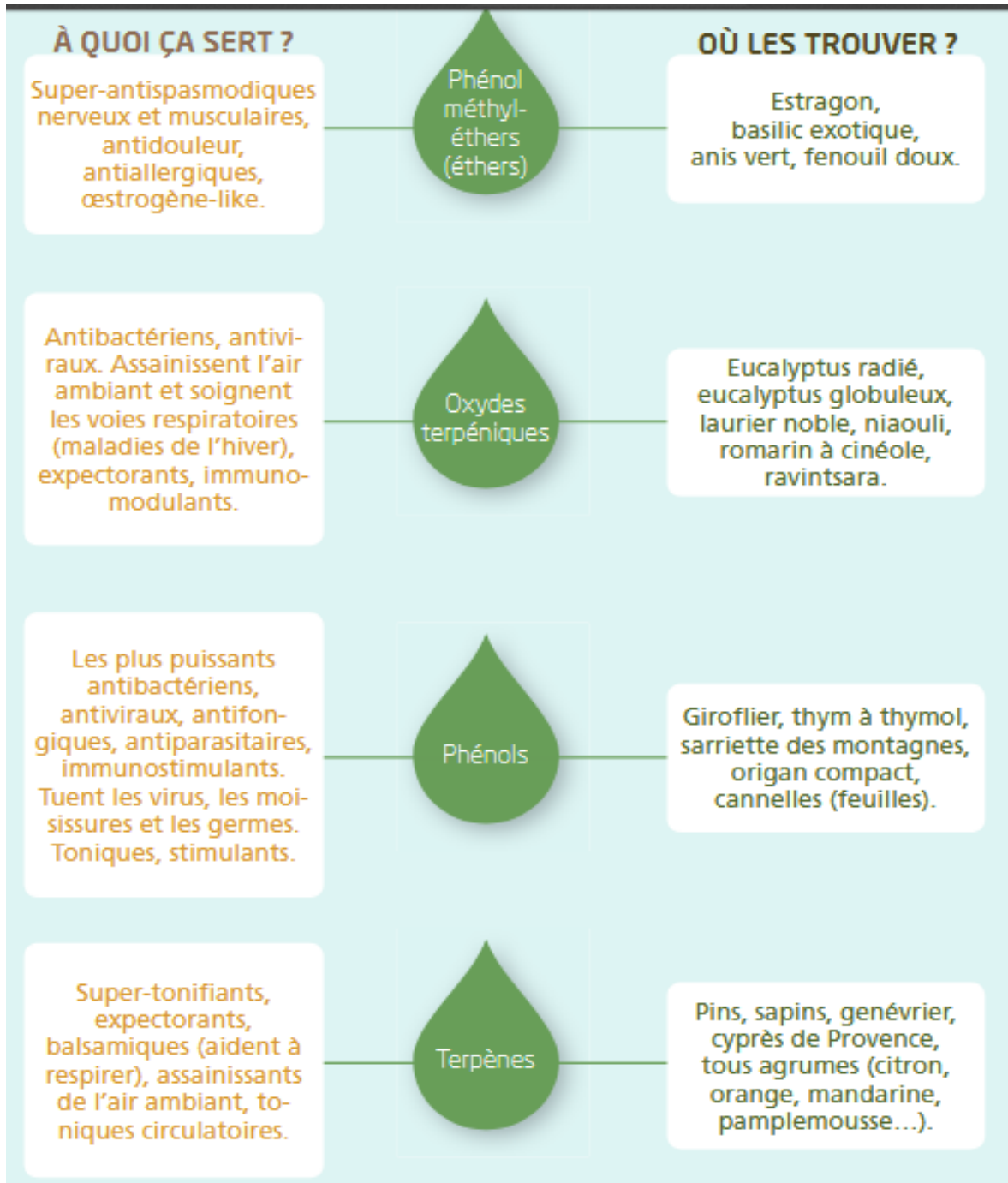
#### II.5.Activités biologiques des huiles essentielles :

Les HE ont des effets biologiques variés, sur les cellules de l'organisme comme les agents infectieux. Les effets et cibles sont multiples du fait de chaque composant chimique, et de leur multiplicité. Les HE ont notamment des :

- effets antiseptiques, anti-infectieux voire antibiotiques, exemple l'HE de Lavande avec le Linalol ;
- effets sur les réponses inflammatoire et immunologique : anti-inflammatoires, antihistaminiques ; effets sur l'activité neurologique : analgésiques, calmants, anxiolytiques, sédatifs, anti-spasmodiques, etc.
- effets sur l'activité digestive et d'élimination : diurétiques stimulant l'excrétion urinaire, laxatifs stimulant le péristaltisme, bloquants de l'absorption des nutriments, etc.
- effets sur le système cardiovasculaire : anti-hypertenseurs, vasopresseurs, etc.
- effets sur le métabolisme : anti-pyrétiques ;
- autres effets : photosensibilisation (principalement les HE d'agrumes) [40].

La figure suivante donne un résumé sur les HE et leur intérêt :





Figure(21) : Localisation d'HE et leur intérêt

### **III. Activités biologiques**

#### **III.1. Activité antioxydante :**

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [41].

#### **III.2. stress oxydant**

##### **III.2.1. Définition :**

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [42].

##### **III.2.2. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif :**

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [43].

#### **III.3. Les radicaux libres**

##### **III.3.1. Définition :**

Un radical (souvent appelé radical libre) est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. Il se note par un point. La présence d'un électron célibataire confère à ces molécules, la plupart du temps, une grande instabilité (elles ne respectent pas la règle de l'octet), ce qui signifie qu'elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans des processus le plus souvent non spécifiques [12].

### III.3.2. Différents types des radicaux libres :

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ), le radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) et le radical alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ ). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène single et  $1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [43].

### III.3.3. Dommages oxydatives des radicaux libres :

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » [44]. Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN [45]. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies [46]. Parmi les nous citons, les maladies d'Alzheimer [47] de Parkinson [48] les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque [49] les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau [50] et le cancer [51].

### III.3.4. Moyens de défense contre les radicaux libres :

D'après Halliwell (1994) [52], un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories [53] :

- la prévention à temps plein (la prévention passive),
- la détoxification active suite à une attaque oxydante
- la détoxification passive.



### III.3.5. Mécanismes d'action contre les radicaux libres :

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres, et à chélater les ions métaux de transitions est directement liée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres de groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques, et aussi à la proximité des groupes alkyls. Ainsi, des différentes familles connues des polyphénols, les flavonoïdes sont-ils ceux qui, en particulier, réunissent toutes ces caractéristiques [54].

### III.4. Les antioxydants

#### III.4.1. Définition :

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules non enzymatiques. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires dans le but d'atténuer ou d'empêcher les effets nocifs des ERO et des radicaux libres [55]. Notre organisme réagit donc de façon constante à la production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [43].

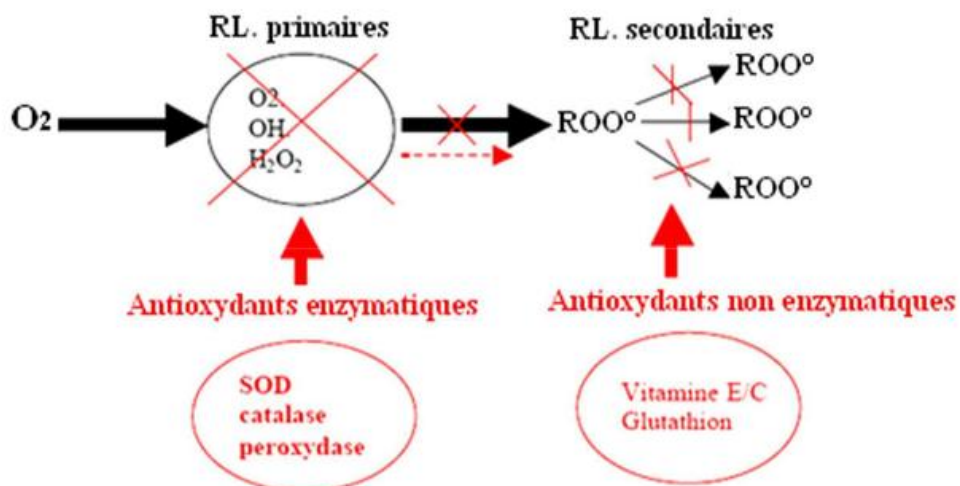


Figure (22) : Les systèmes de défense naturels contre les radicaux libres [56].

### III.4.2. Les critères des antioxydants :

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères [53].

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres
- Chélater des ions de métaux de transition ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{+}$ ) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer -
- Avoir un effet positif sur l'expression génique
- Être rapidement absorbé
- Avoir une concentration qualifiée de «physiologique» dans les tissus et les fluides biologiques
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

### III.4.3. Différents types des antioxydants :

#### a. Les antioxydants naturels :

##### ❖ Les antioxydants enzymatiques :

La cellule est pourvue de systèmes de défense très efficaces. Plusieurs enzymes peuvent catalyser des réactions de détoxification des différents pro-oxydants. Les antioxydants enzymatiques sont capables d'éliminer les radicaux libres primaires de façon permanente et efficace, en transformant l'anion  $OH^{\circ}$  et le  $H_2O_2$  en produits non toxiques : l'eau et l'oxygène moléculaire [57]. Les antioxydants enzymatiques sont principalement trois enzymes : la superoxy de dismutase, la catalase et les peroxydases. En état de stress oxydant, la production des radicaux libres primaires augmente très fortement, de ce fait, les systèmes enzymatiques primaires qui ont une vitesse maximum d'élimination des radicaux libres primaires, sont débordés. Ces radicaux libres primaires non éliminés vont alors oxyder les constituants cellulaires. Ce qui engendre la formation de radicaux libres secondaires ( $ROO^{\circ}$ ) qui sont capables de réaction d'oxydation en chaîne conduisant à la destruction des cellules. Ces phénomènes d'oxydation en chaîne, peuvent être ralentis par des antioxydants secondaires non enzymatiques qui sont apportés par l'alimentation [56].

##### ❖ Les antioxydants non enzymatiques :

Divers piègeurs de radicaux libres non enzymatiques peuvent prendre en charge la détoxification d'un grand nombre de radicaux libres. Ces composés sont facilement oxydables, relativement stables et conduisent à des dismutations permettant l'arrêt des

réactions radicalaires en chaîne. Ce système de protection peut être à la fois membranaire (vitamine E, A) ou cytosolique et extracellulaire (glutathion, vitamine C). Certains éléments minéraux exercent indirectement un rôle antioxydant en agissant comme des cofacteurs. Ainsi le cuivre, le zinc et le fer sont des cofacteurs pour la superoxyde dismutase, le fer est également un cofacteur pour la catalase et le sélénium est le cofacteur du glutathion peroxydase [58]. Aussi, parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme [59]. Les polyphénols, suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales, est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires [60].

**b. Les antioxydants synthétiques :**

Les antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [61]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques [62].

**III.5. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :**

**Tableau (06) :** description de quelques tests antioxydants in vitro chimiques

Test	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanisme d'action	Transfert d'électron majoritaire	Transfert d'électron et de proton	Transfert d'électron	Transfert de proton

<b>Natures des molécules Testées</b>	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles	Hydrophiles et lipophiles
<b>Expression des résultats</b>	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Trolox ®	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Trolox ®	en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent $\text{Fe}^{2+}$	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Trolox ®
<b>Avantages</b>	-Très facile à mettre en œuvre -peu couteux	- Très facile à mettre en œuvre -cinétique de réaction très rapide - peu couteux	-Très facile à mettre en œuvre -peu couteux	-facile à mettre en œuvre -couteux -utilisation d'un générateur de radicaux ( $\text{ROO}^\bullet$ )
<b>Inconvénients</b>	-encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires -interférences possibles à 515 nm -forte dépendance au pH et au solvant -radical inexistant in vivo	-produits de dégradation antioxydants Radical inexistant in vivo	-pH utilisé non physiologique -interférences possibles à 595 nm -inférences avec composés possédant $E^\circ < 0.77 \text{ V}$	-mécanismes de génération des $\text{ROO}^\bullet$ non physiologique -interférences possibles des protéines®
<b>Références</b>	[63].	[64].	[65].	[67].

#### IV. Activité anti- bactérienne :

Le mécanisme d'action des HE sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles [67]. La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action [68]. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [69]. Leur action se déroule en trois phases : [70]

- ❖ 1ere Phase : attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- ❖ 2ème Phase : acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- ❖ 3ème Phase : destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

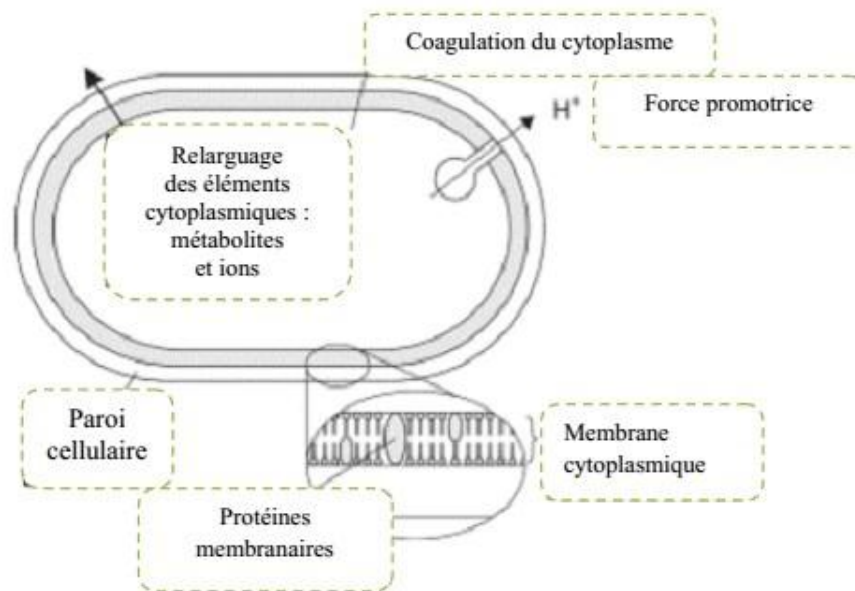


Figure (23) : Sites d'action des Huiles essentielles sur la cellule bactérienne [67].

#### IV.1.Les bactéries :

##### IV.1.1.Définition

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

Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à  $1\mu\text{ m}$ . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique [71].

### IV.1.2. La culture des bactéries :

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à  $40^{\circ}\text{C}$ . En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon [71].

### IV.2. les antibiotiques

#### IV.2.1. Définition :

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) [72] dont lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme [73] ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier [74] mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales. Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse [75].

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicol, macrolides ; soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêtalactamines, les aminosides, les polypeptides [76].

#### **IV.2.2. Classification des antibiotiques :**

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée.

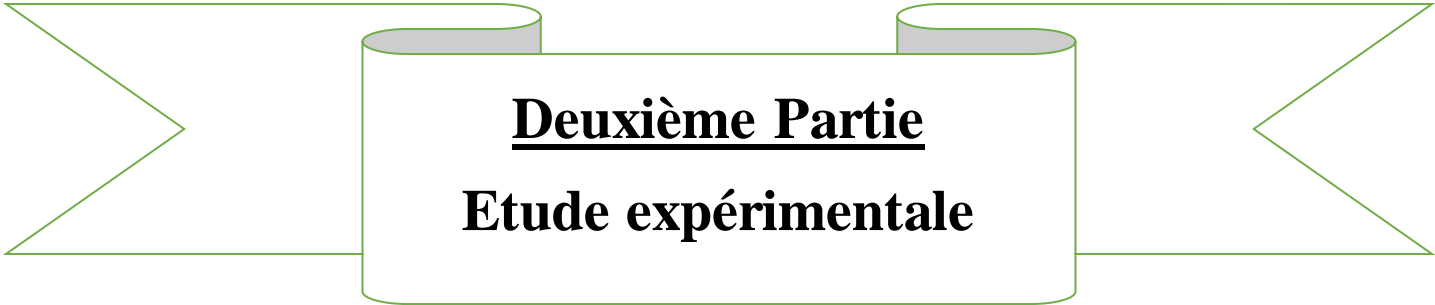
Les principales familles chimiques des antibiotiques sont :

Bêtalactamines: pénicilline et céphalosporines ;

Aminosides: streptomycine, gentamycine ; Chloramphénicol et thiamphénicol;

Cyclines: tétracyclines, doxycycline.

Macrolides et apparentés : érythromycine, oléandomycine. [86]



**Deuxième Partie**  
**Etude expérimentale**





## Chapitre 3

**Matériel et méthodes**

### Partie I : étude phytochimique

#### Introduction :

Cette partie contient tous qu'on a pratiqué, et aux plusieurs niveaux, nous nous intéressons à la recherche et la révélation des principaux groupes chimiques existants dans les plantes ciblées (Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Anthocyanes, Coumarines, Terpènes, Saponines....) en utilisant des réactifs spécifiques plus au moins sélectifs, puis l'isolement des huiles essentielles et des extraits phénoliques des plantes pour faire le dosage des polyphénols totaux, des Flavonoïdes et des tanins.

Les manipulations ont été effectuées au sein de laboratoire de chimie organique du département de science de la matière de l'université Mohammed Khider-Biskra.

#### I.1.Site de récolte et préparation du matériel végétal :

Nos travaux de recherche sont portés sur le choix de deux espèces : *Ocimum basilicum* L. et *Artemisia campestris* A. appartenant à la famille des lamiacées et Astéracées qui sont largement répandue au niveau local.

Elles sont issues de la wilaya de BISKRA Sud Est de l'Algérie. La récolte a été entreprise manuellement et soigneusement en plein saison entre le mois de Mai et le mois de Juin de l'année 2018.

#### I.1.1.Séchage et broyage :

Après avoir trié les feuilles, ces dernières ont été laissées à l'air libre (à l'ombre) dans le but de les sécher. Après elles sont broyées à l'aide d'un mortier et un pilon. La poudre (le broyat) obtenue sera utilisée dans les prochaines étapes d'extraction, de criblage phytochimique et de détermination des caractères physicochimiques des deux plantes.

#### I.2.Criblage (screening) phytochimique :

L'intérêt de cette étape et la détection des différentes composantes d'une drogue végétale. Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. Il présente un test préliminaire ; Les tests de caractérisation sont basés en partie sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la

formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration, ainsi qu'à des examens par lumière ultraviolette UV [1].

### I.2.1. Les huiles essentielles :

Après avoir réalisé le montage de l'hydrodistillation. On met 150 mL d'eau distillée dans un ballon de 500 mL, on introduit 10g de poudre sèche, L'apparition d'une couche huileuse indique la présence des huiles essentielles

### I.2.2. Les Tanins :

Dans un bécher qui contient 20 mL de l'alcool éthylique ( $C_2H_5OH$ ) 50% on ajoute 10g de la poudre, on laisse macérer environ 15 min puis filtrer, ensuite on ajoute au filtrat quelques gouttes de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ), L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu verte indique la présence des tanins.

- L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques.
- L'apparition d'une coloration bleu-verte indique la présence des tanins galliques [2].

### Test de Stiasny :

Il se fait par le réactif de Stiasny (**annexe**).

- On ajoute 0.5 ml du réactif de Stiasny à 1mL d'infusion puis chauffer au bain marie à 90 °C pendant 15min. l'apparition d'un précipité montre la présence des **tanins catéchiques**.
- Après la filtration de la solution obtenue. Le filtrat est saturé par l'acétate de sodium, à ce mélange il est ajouté 100 µL d'une solution de  $FeCl_3$  à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noir indique la présence des **tanins galliques** non précipités par le réactif de Stiasny [3].

### I.2.3. Les saponosides :

On prend 2 g de poudre sèche et on ajoute 80 mL d'eau distillée, chauffée puis filtrée, la solution obtenue (le filtrat) est refroidie puis agitée vivement, l'apparition d'une mousse constante indique la présence des saponosides [2].

- Disparition de la mousse = test négatif (-)
- L'épaisseur de la mousse < 1cm = test plus au moins positif
- L'épaisseur de la mousse entre 1 et 2 cm = test positif
- L'épaisseur de la mousse > 2 cm = test très positif

### I.2.4. L'amidon :

On chauffe 5 mL de l'extrait aqueux avec 10 mL d'une solution de hydroxyde de sodium (NaOH) saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition. L'ajout de quelques gouttes de solution de diode fait apparaître une coloration bleu-violette en présence de l'amidon [2].

### I.2.5. Les sucres réducteurs :

Réaliser une extraction dans l'eau distillée pendant 2 heures, filtrer, ajouter au filtrat quelques gouttes de la liqueur de Fehling (**annexe**) (2-3 gouttes) le chauffer dans un bain-marie. La présence des glucides se traduit par l'apparition d'une couleur rouge-brique suite à la réduction de la liqueur de Fehling [2].

### I.2.6. Les flavonoïdes [2] :

Test1 : dans un Erlenmeyer de 100 mL, on introduit 3g de la poudre à macérer dans 50 ml de l'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pendant une nuit, puis filtrer.

- on prend 10 mL du filtrat et on le rend basique par l'ajout d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) concentrée, l'apparition d'une couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes.

Test2 : dans 50 ml d'eau distillée laisser macérer 3g de poudre sèche pendant 30 min, on filtre puis on procède au test suivant : on ajoute 1 mL d'alcool chlorhydrique (butanol, HCl: 80 :20 (V/V)) et 1 mL d'alcool isoamylique puis quelques copeaux de magnésium.

Observer la coloration apparue :

- Rouge-orangé indique la présence des flavones ;
- Rose-violacée indique la présence des flavanones ;
- Rouge indique la présence de flavonols, flavanonols.

### I.2.7. Les alcaloïdes [4]:

- Méthode1 : macéré 3g de la poudre dans 50 mL d'eau distillée pendant 24h. Après filtration le filtrat est réparti en 3 tubes pour être testé par deux réactifs :
  - 1<sup>er</sup> tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Dragendorff (**annexe**) qui fait apparaître un précipité de couleur orange-rouge en présence des alcaloïdes.
  - 2<sup>ème</sup> tube: ajouter une goutte de HCl concentré et 3 gouttes de réactif de Bouchardât (**annexe**) qui fait apparaître un précipité rouge-brun en présence des alcaloïdes.

- Méthode 2 : mettre 6 g de la poudre sèche dans 30 mL de solution d'acide sulfurique  $H_2SO_4$  à 10% pendant 30-60 min, puis filtrer. Le filtrat est réparti en 4 tubes à essai et on procède aux tests suivants :
  - 1<sup>er</sup> tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer (**annexe**) qui donne une coloration jaune en présence des alcaloïdes.
  - 2<sup>ème</sup> tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge-orangé.
  - 3<sup>ème</sup> tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Bouchardât qui donne un précipité rouge-brun.
  - 4<sup>ème</sup> tube : soumis sous lumière UV pour détecter la présence des alcaloïdes de quinquina qui donne une fluorescence bleue intense à  $\lambda = 365\text{nm}$ .

### **I.2.8. Les terpènes et stérols non saturés :**

On met environ 5 g de la poudre dans 20 mL de chloroforme ( $CHCl_3$ ), laissé agir quelques minutes puis filtrer. Ajouter au 10 mL du filtrat 1mL d'acide sulfurique  $H_2SO_4$  à 10 % sur les parois du tube, le point de rencontre entre les deux phases donne une coloration verte qui indique la présence des stérols insaturés et terpènes [2].

### **I.2.9. Les coumarines :**

Méthode 1 : Introduit 3g de la poudre sèche dans 50 mL d'éthanol pendant 24H puis filtrer, prendre 2 mL du filtrat y ajouter 0.5 mL de soude (NaOH) à 10%, chauffer jusqu'à l'ébullition

Après refroidissement ajouter 4 mL d'eau distillée et quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré, observer sous UV (365nm) l'apparition d'une fluorescence témoigne la présence des coumarines.

Méthode 2 : Une quantité de 2 g de matériel végétal sec broyé est placé dans 10 mL de  $CH_2Cl_2$ . Le tout est chauffé pendant quelques minutes puis filtré. La migration de cette solution a été faite sur couche mince dans le solvant : toluène /acétate d'éthyle (93/7 : V/V). Après un séchage sous hotte ventilée, la révélation a été faite à l'aide de l'ammoniac  $NH_3$  sous UV à 365nm [5].

### I.2.10. Les anthocyanes :

Mettre 1g de poudre dans 10 mL d'eau distillée, porter au bain-marie bouillant pendant 15 min.

Filtrer, puis tester le filtrat avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl puis l'ajout d'hydroxyde d'ammonium NH<sub>4</sub>OH concentrée va entraîner un changement de couleur de l'extrait initial indiquant la présence des anthocyanes [2].

### I.3. Contrôle d'une drogue végétale :

#### I.3.1. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité [6] :

Les plantes sont riches en eau donc c'est éventuellement de savoir la teneur en eau de la plante après séchage. A partir d'une masse de matière végétale sèche (m) introduite dans un creuset taré et préalablement pesée (m') puis séchée dans l'étuve à 105°C jusqu'à ce que la masse devienne constante ou pendant 24 h tout court, puis peser le creuset à nouveau (M)

- De préférence on utilise une balance à 4 chiffres pour chaque mesure

- le MS% : le pourcentage de matière sèche est calculé en suivant cette équation ;

$$MS\% = 100 \times (M - m') / m$$

- le H% : taux d'humidité soit aussi calculé comme suit ;

$$H\% = 100\% - MS\%$$

#### I.3.2. Détermination de teneur en cendres :

##### I.3.2.1. Teneur en cendres totales [7] :

###### A. Principe :

Il s'agit d'évaluer la quantité des résidus de la calcination totale de la drogue. La pharmacopée européenne a décrit que la teneur en cendre doit atteindre au maximum 14 % au terme de norme.

###### B. Technique :

Dans ce test on désire garder que la partie inorganique de l'échantillon et brûler la totalité des matières organiques.

- On introduit 2 g de notre poudre végétale dans un creuset en céramique préalablement taré.
- Soumis l'échantillon dans le four à moufle à 600 °C et la laisser se calciner pendant 24h à fin de bruler la totalité des matières organiques
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et on pèse à nouveau

### C. Calcul :

La perte de masse témoigne sur la teneur de la drogue en matières inorganique qu'on en détermine par un simple calcul :

$$T \% = \frac{M - M'}{E} \times 100$$

**M** : la masse finale (creuset + cendres totales) ;

**M'** : la masse de creuset vide ;

**E** : la prise d'essais de la matière (la masse introduite initiale).

### I.4.Extraction :

#### I.4.1.Extraction des composés phénoliques :

L'extraction des polyphénols se fait selon le protocole classique [8]:

##### I.4.1.1.Extraction solide-liquide :

Elle consiste à l'obtention des extraits hydro-alcooliques par macération [9]:

On fait introduire 50g de la poudre végétale pesée précisément à l'aide d'une balance dans un récipient, à cette quantité on ajoute 300 ml d'une solution aqueuse de méthanol (eau : méthanol ; 30:70 : V/V) puis on laisse macérer à température ambiante pendant 24 heures avant de procéder à une filtration sous vide à travers un papier filtre.





- Récupérer le retentât et répéter la macération (24 h) deux fois de plus par 200 ml puis 100 ml de la solution hydro-alcoolique.
- Puis filtrer et garder l'extrait hydro-alcoolique à T° ambiante jusqu'à son utilisation.
- Après on passe à l'évaporation de méthanol à l'aide de rotavapor (BuchiR-215) pour commencer l'étape de l'extraction liquide-liquide.

**NB** : nous avons suivi le même protocole avec les deux plantes.

**I.4.1.2.Extraction liquide-liquide :**

Dans une ampoule à décanter on fait extraire chaque constituant par un solvant approprié, pour cela nous avons choisi 4 solvants organiques à polarité croissante il s'agit de ether de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol :

**Tableau (07): les différents solvants utilisés et leurs propres composés extraits (selon l'ordre de polarité croissant)**

	<b>Solvant</b>	<b>Densité</b>	<b>Les composés extraits</b>
<p><b>1<sup>er</sup> solvant</b></p> 	<p>Ether de pétrole (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>) - Apolaire</p>	<p>0,645 &lt; D<sub>eau</sub></p>	<p>- matière grasse - chlorophylle - impuretés qui risquent de compliquer l'épreuve chromatographique</p>
<p><b>2<sup>ème</sup> solvant</b></p> 	<p>Dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) -Faiblement polaire</p>	<p>1,337 &gt; D<sub>eau</sub></p>	<p>-les terpènes -polyphénols aglycones (flavonoïdes, tannins, anthracénosides)</p>
<p><b>3<sup>ème</sup> solvant</b></p> 	<p>Acétate d'éthyle (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) -moyennement polaire</p>	<p>0,90 &lt; D<sub>eau</sub></p>	<p>- Les aglycones - Les mono-glycosides - Les di-O-glycoside</p>
<p><b>4<sup>ème</sup> solvant</b></p> 	<p>1-butanol (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O) -fortement polaire</p>	<p>0,81 &lt; D<sub>eau</sub></p>	<p>- Le reste des di-O-glycosides,des tri-O-glycosides et C-glycosides.</p>



\*La solution aqueuse restante à la fin du partage a été utilisée comme fraction très polaire. Après l'étape d'extraction par solvant on procède à l'évaporation de chaque solvant à fin d'obtenir les extraits secs.



**A** : les extraits sec d'*A.campestris*. **B** : les extraits secs d'*O.basilicum*.

**Figure (24)** : illustration des différentes étapes d'obtention des extraits phénoliques.

**NB** : Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols, flavonoïdes et tanins et par conséquent affecte les activités biologiques méditées par ces métabolites [10].

### I.4.2.Extraction des huiles essentielles :

#### I.4.2.1.Extraction solide-liquide :

Elle consiste à obtenir les huiles essentielles par Hydrodistillation [11]. Dans un montage d'Hydrodistillation (ballon) déjà prêt, 50 g de la matière végétale (poudre) a été introduite. Puis additionnée une quantité suffisante d'eau distillée jusqu'à deux tiers du ballon (2/3) pour que la plante soit bien recouverte de l'eau en évitant que ça sèche durant l'extraction. Le montage est laissé en cours pendant 5 heures. Après ; nous avons récupéré la totalité du distillat.

#### I.4.2.2.Extraction liquide-liquide :

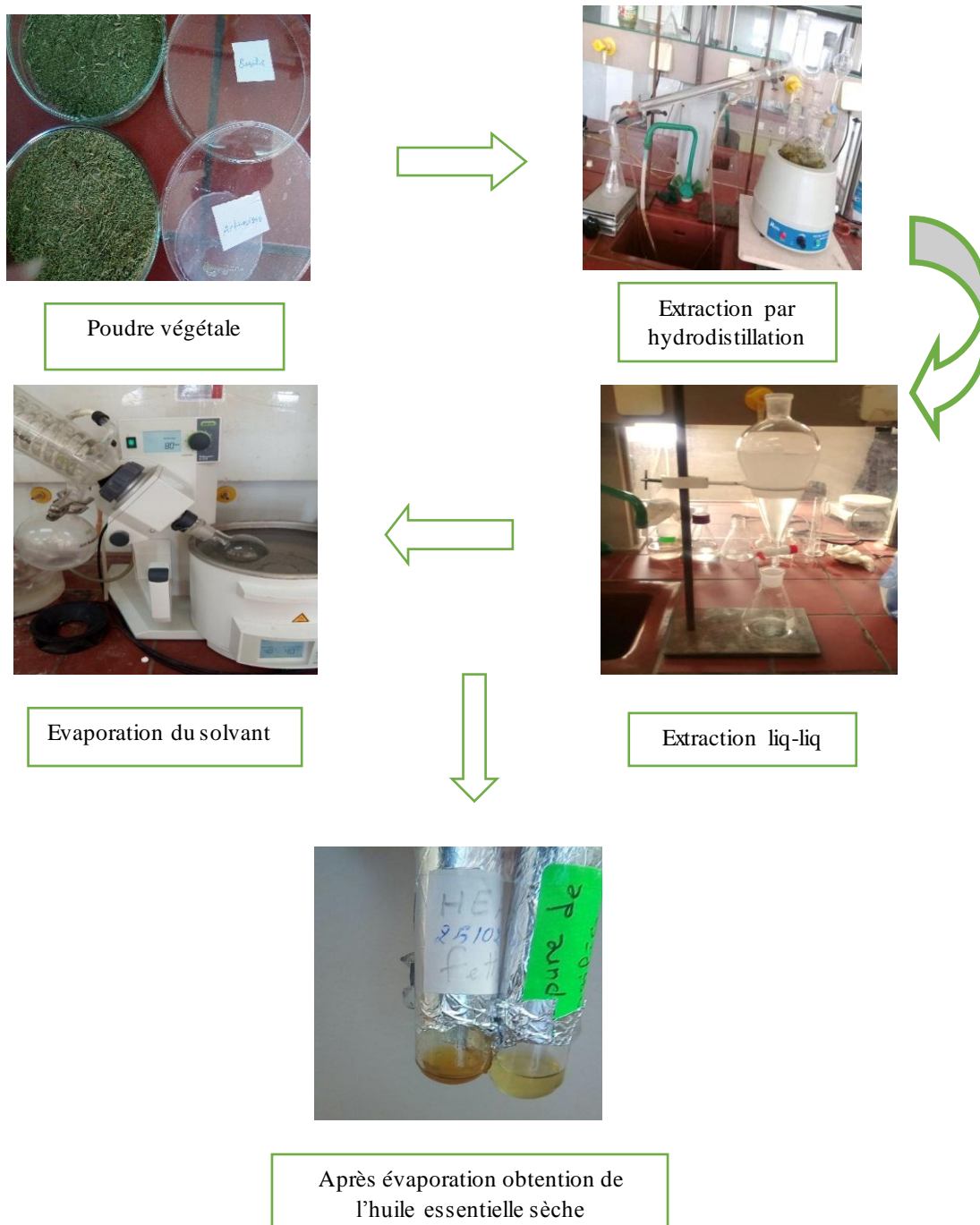
Le fait que l'eau bouillit à 100°C présente l'inconvénient d'être difficile à évaporer sans avoir modifier les constituants donc on effectue une extraction liquide-liquide par un solvant organique qui présente l'avantage de s'évaporer à des température assez faibles et dissoudre mieux nos huiles essentielles.

- on verse la première quantité du distillat dans l'ampoule à décanter (300, 300,100 mL à chaque fois)
- pour avoir une meilleure séparation 300 mL de distillat ont été entraînés par 200ml du solvant extracteur ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) en trois fois (100 mL, 50 mL, puis 50 mL).
- on agite rigoureusement en libérant le gaz de temps en temps et on laisse décanter jusqu'à l'apparition des deux phases bien séparées.
- la phase organique (phase inférieure) a été récupérée par décantation dans une Erlenmeyer.
- après séchage par un agent desséchant comme le sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour absorber les traces d'eau puis on filtre.
- on répète les mêmes étapes avec la deuxième quantité de distillat.

#### I.4.2.3.Evaporation du solvant :

Après avoir effectué l'extraction par solvant et avant de procéder à l'évaporation du solvant d'extraction. La récupération de l'huile essentielle pure devient plus facile ; on a éliminé le solvant à l'aide d'un ROTAVAPOR (BUCHI R 215).

Après l'obtention des huiles essentielles pures on doit calculer le rendement de chaque extraction (50g de matière végétale) pour évaluer la contenance des plantes en huile essentielle.



**Figure (25):** illustration des différentes étapes de l'extraction des huiles extraites des deux plantes

### I.4.2.3. Analyse physico-chimiques des HE

En effet, la consommation des HE comme produits de base dans divers domaines (parfumerie, pharmacie, cosmétique,...) nécessite une vérification de leur conformité par rapport aux normes définies par la réglementation ou les usages organiques normales.

L'évaluation de la qualité des HE est reliée à la détermination des caractéristiques physiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool,...) et chimique (indice d'acide, d'ester,...). Nous avons déterminé les propriétés physiques suivant la commission française de normalisation [12]

#### A. Aspect

Les propriétés organoleptiques des HE ont été analysées par évaluation sensorielle suivant la couleur, l'odeur et l'aspect.

#### B. Densité

##### ➤ Définition :

La densité d'un corps (solide ou liquide) est par définition le rapport qui existe entre la masse d'un certain volume de ce corps et la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température. La densité  $d_{20}^{20}$  est donnée par l'expression :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Avec :

$m_0$ : la masse en gramme du pycnomètre vide.

$m_1$ : la masse en gramme du pycnomètre remplie d'eau distillée.

$m_2$ : la masse en gramme du pycnomètre remplie d'huile.

##### ➤ Principe :

On opère à l'aide d'une seringue hamiltonienne de 0.5 ml au lieu du pycnomètre. On détermine la masse  $m_0$  de la seringue vide. Ensuite, on la pèse  $m_1$  après l'avoir rempli d'eau distillée à 20°C soit  $m_1$ , puis d'HE après séchage de la seringue soit  $m_2$ .

### C. Indice de réfraction (norme NF T 75 – 112)

#### ➤ Définition :

L'indice de réfraction  $n_D^{20}$  d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant par l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

#### ➤ Principe :

L'indice de réfraction  $n_D^{20}$  a été déterminé par la lecture directe à l'aide d'un réfractomètre classique.

Nous avons opéré comme suit :

Les surfaces des prismes ont été nettoyées avec du papier doux imbibé d'eau, puis séchées sans frotter. Après étalonnage de l'appareil, deux gouttes d'HE ont été déposées à l'aide d'une pipette au milieu du prisme.

Une plage sombre et une plage claire séparées par une bande plus ou moins irisée sont observées dans l'oculaire. L'intersection du réticule sur la ligne de séparation est amenée avec le bouton de droite. Puis les irisations sont supprimées. On note alors la valeur indiquée par l'échelle et on relève la température indiquée.

### D. Pouvoir rotatoire

#### ➤ Définition :

Le pouvoir rotatoire  $\alpha_D^{20}$  est la propriété que possèdent certains corps de faire tourner le plan de polarisation de la lumière, ce qui traduit la présence d'atomes asymétriques.

La valeur du pouvoir rotatoire est donnée par la relation:

$$\alpha_D^{20} = \frac{\alpha}{L.C}$$

Avec :

$\alpha$  : valeur lue sur le polarimètre en milli degré.

L : épaisseur de la cellule en dm.

C : concentration de l'essence (HE) exprimée en g/100 mL

### ➤ Principe :

On a utilisé un polarimètre de marque KARL KOLB, avec une lampe de sodium, raie jaune de longueur d'onde 589 nm, et une cellule de longueur de 1 dm remplie d'HE dans l'éthanol à raison de 0.2 g dans 100 mL. L'angle de rotation est lu directement sur l'appareil, la valeur de  $\alpha^{20}_D$  est calculée à l'aide de la relation.

### E. Détermination de pH

Le potentiel d'hydrogène (pH) mesure l'activité chimique des ions hydrogènes ( $H^+$ ) (appelés aussi couramment protons) en solution. Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance d'huile essentielle.

### I.4.3. Calcul du rendement : <sup>[13]</sup>

Le rendement est calculé suivant cette équation :

$$R\% = 100 \times \frac{m}{M}$$

**M** : masse de la matière végétale introduit initialement pour l'extraction

**m** : masse de l'extrait (masse du ballon contenant l'extrait – la masse du ballon vide)

### I.5. Analyse chromatographique CCM :

#### I.5.1. Définition :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de séparation d'un mélange liquide en ses constituants par entraînement physique entre deux phases : une phase mobile liquide présente l'éluant et une autre phase fixe solide. La séparation repose principalement sur des phénomènes d'adsorption, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature de l'échantillon et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- la cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- la phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant (alumine) est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.

- l'échantillon : environ un microlitre ( $\mu\text{L}$ ) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- la phase mobile « l'éluant »: un solvant pur ou un mélange, il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon par capillarité [14].

### I.5.2.Principe de la technique.

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant.

Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile.

Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [14].

### I.5.3.Applications de la CCM.

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur.

De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction.

La chromatographie sur couche mince est également la technique habituellement employée pour rechercher le meilleur solvant, avant d'entreprendre une séparation par chromatographie sur colonne.[14]

### I.5.4.Développement de la plaque.

Le développement consiste à faire migrer le solvant sur la plaque. Dans les analyses usuelles de laboratoire, le principal type de développement est la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,5 cm du fond de la cuve; on place souvent du papier filtre contre les parois de la cuve pour saturer plus rapidement la cuve en vapeurs d'éluant et éviter les effets de bords pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir [14].

### I.5.5. Révélation.

Au cas où les substances isolées sont incolores, on doit accéder à la révélation des taches donc il existe plusieurs techniques de révélation en fonction de la nature des composés isolés :

- Révélation sous lampe UV :  $\lambda = 254 \text{ nm}$  ou  $\lambda = 366 \text{ nm}$
- Révélation à l'iode : beaucoup de composés organiques forment des taches jaune-marron en présence d'iode.
- Révélation par atomisation : Cette technique utilise un atomiseur contenant le révélateur en solution. Selon le produit à révéler, la solution peut être :
  - Ninhydrine pour les acides  $\alpha$ -aminés (taches violettes qui brunissent puis disparaissent en quelques jours)
  - Acide sulfurique à 50% pour à peu près tout (taches noires).
  - On utilise aussi des mélanges complexes d'oxyde de molybdène en présence de sulfate de cérium [14].

### I.5.6. Mode opératoire :

- On a utilisé le méthanol pour préparer les échantillons (extraits phénoliques secs + huiles essentielles)
- Pour avoir des résultats fiables on a utilisé des différents systèmes d'élutions et deux méthodes de révélation :

**Tableau(08) :** les différents systèmes d'élutions et les méthodes de révélation

Système d'élution	Méthode de révélation
Syst 01 : n-hexane+ dichlorométhane (5/5 : V/V)	- révélation sous lampe UV à 254 nm et à 366 nm
Syst02 : Chloroforme + méthanol (2/QQ goutte) (V/V)	
Syst 03 : Acétate d'éthyle +Ether de pétrole (3/7 : V/V)	-révélation par système chimique : Acide acétique.... 1 mL Acide sulfurique...1 mL Eau distillée.....8 mL
Syst 04 : Chloroforme + méthanol+ eau distillé (5/5/QQ goutte : V/V/V)	



- les dépôts des échantillons ont été faits à l'aide d'une pipette pasteur sur une plaque de silice de (7 / 2 cm) de dimension

### I.6. Analyse quantitative des composés phénoliques :

Afin de déterminer la concentration des différents composés phénoliques présents dans les deux plantes. Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été effectué dans les différents extraits phénoliques des deux espèces.

#### I.6.1. Préparation des échantillons :

Avant de passer au dosage on doit préparer des solutions mères à partir des extraits secs obtenus précédemment pour pouvoir faire des dilutions par la suite si y en a besoin.

Pour cela ; on a utilisé le méthanol comme solvant et on a préparé des solutions de V= 5 mL à concentration de 1 mg/mL.

#### I.6.2. Dosage des polyphénols totaux :

##### A. Principe :

La concentration des polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de **Folin-Ciocalteu [15]**, ce réactif de couleur jaune est un mélange de l'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et de l'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constituée d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés [16].

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Škerget et al [17]**, en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µL de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 mL de réactif **Folin-Ciocalteu** dilué 10 fois, après 5 minutes d'incubation, 800 µL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 % a été ajouté au mélange précédent. Les tubes sont agités et conservés pendant 5 minutes à 50 °C. Le test est répété 3 fois.

La lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU 2600 UV) et contre un blanc qui ne contient que le milieu réactionnel (sans l'échantillon). Les concentrations en polyphénols sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG /g de MS) en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement préparée avec l'acide gallique (**Annexe**).

### B. Mode opératoire :

L'organigramme suivant, englobe les principales étapes du dosage des polyphénols suivis lors de cette étude

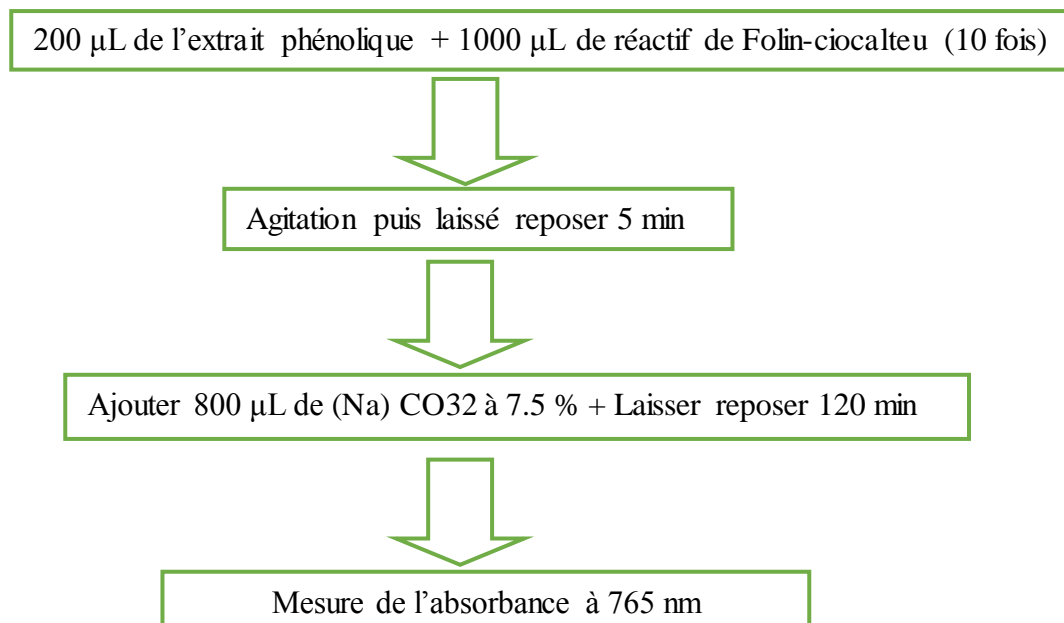


Figure (26) : Protocole de dosage des polyphénols totaux

### I.6.3. Dosage des flavonoïdes totaux :

#### A. Principe :

La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  [18]. Cette méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [19].

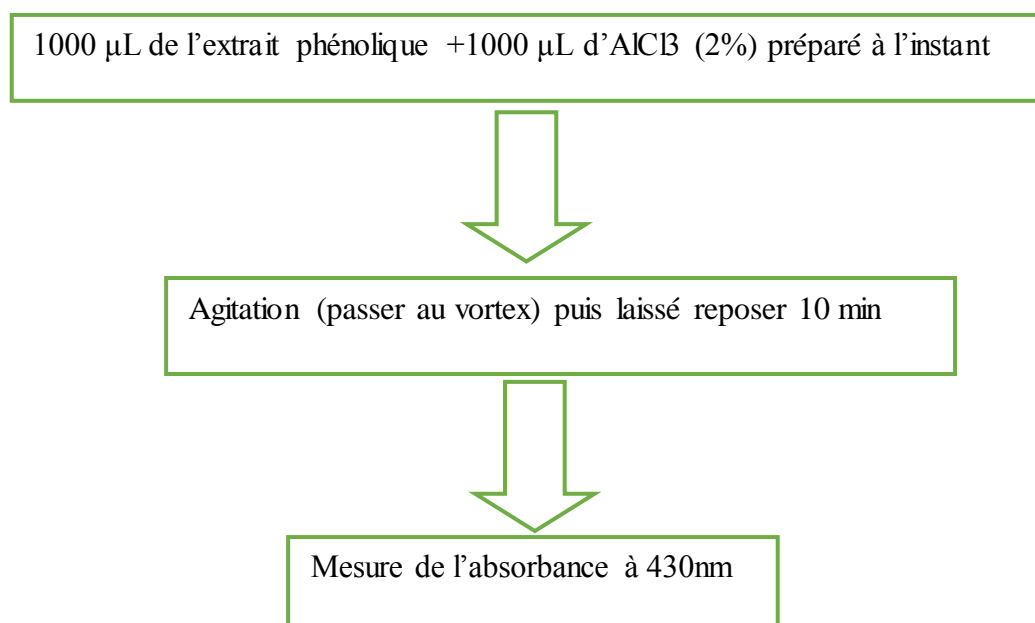
Le protocole utilisé est celui décrit par Ayoola.G. et Odugbemi T. O [20]; dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 1mL d'une solution éthanolique de  $AlCl_3$  (2%) est rajouté à 1mL de l'extrait de la plante (solution aqueux), incubé 30 minutes à une température ambiante. Le test est répété 3 fois.

On observe un changement de couleur en jaune dont l'intensité dépend à la teneur en flavonoïdes. La concentration sera déterminée en fonction de l'absorbance mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU 2600 UV) et contre un blanc qui ne contient que le milieu réactionnel (sans l'échantillon).

Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) ; en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement préparée avec le quercétine (**Annexe**).

### **B. Mode opératoire :**

L'organigramme suivant, regroupe les principales étapes du dosage des flavonoïdes totaux suivis lors de cette étude :



**Figure (27) :** Protocole de dosage des flavonoïdes totaux

### **I.6.4. Dosage des tanins condensés :**

#### **A. Principe :**

La teneur des tanins condensés a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec les tanins et la formation de complexes rouges [21] [22], cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline [23].

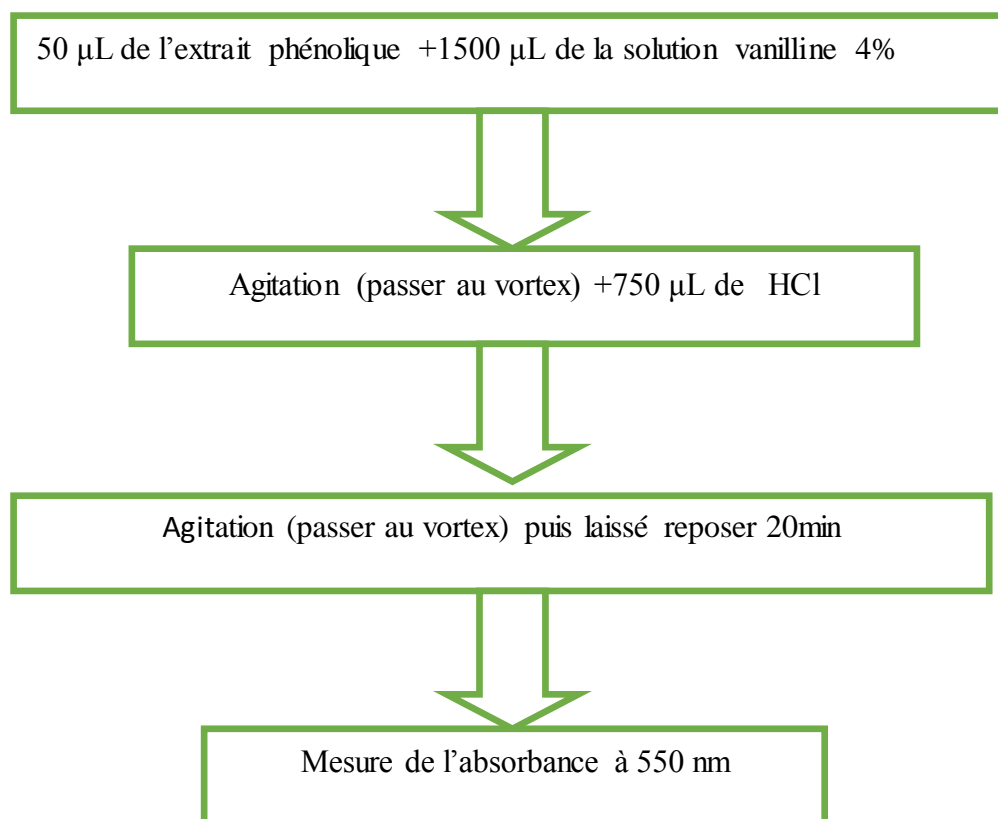
Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Julkunen-Titto, 1985 [24]**.

Dans des tubes à hémolyse en verre un volume de 50  $\mu\text{L}$  de chaque extrait a été ajouté à 1500  $\mu\text{L}$  de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750  $\mu\text{L}$  de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. Le test est répété 3fois.

On observe un changement de couleur en rouge dont l'intensité dépend à la teneur en tanins. La concentration sera déterminée en fonction de l'absorbance mesurée à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU 2600 UV) et contre un blanc qui ne contient que le milieu réactionnel (sans l'échantillon).

Les teneurs en tanins sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par gramme de matière sèche (mg EAT/g MS) ; en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement préparée avec l'acide tannique (**Annexe**).

### B. Mode opératoire :



**Figure (28) :** Protocole de dosage des tanins condensés.

### Partie II : Evaluation des activités biologiques

#### II.1. Activité antioxydante :

Les antioxydants peuvent être définis en tant que composés qui empêchent ou retardent l'oxydation des substances biologiques en empêchant le déclenchement ou la propagation des réactions en chaîne d'oxydation. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [25].

Les manipulations ont été effectuées au sein de laboratoire de phytochimie du centre de recherche CRSTRA-Biskra.

##### II.1.1. Méthode du DPPH

La méthode de réduction du DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des deux plantes.

###### A. Principe :

Le 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre, stable et centré par l'azote qui porte un électron impair. Il est de couleur violette foncée. En présence d'antioxydants, il réagit avec eux par l'intermédiaire de deux mécanismes différents : une abstraction directe de l'hydrogène des groupes d'hydroxyles ou un processus de transfert d'électron, pour former un produit final stable qui est le diphenyl-b-picrylhydrazine coloré en jaune et qui donne une absorption forte à 517 nm [26].

###### B. Mode opératoire :

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode décrite par **MOLYNEUX.P** [27] avec quelques modifications.

1 mL de différentes dilutions des extraits a été mélangé avec 250 µL de la solution de méthanol de DPPH, [28] dans des tubes à essai secs. Après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm à l'aide de spectrophotomètre UV-Visible.

- Le contrôle négatif est composé de 1 mL d'éthanol et de 250 µL de la solution de DPPH.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (acide ascorbique), l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle de l'extrait.

Le test est répété 3 fois. L'activité anti radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution de méthanol de DPPH• qui est déterminé par l'application de la formule suivante :

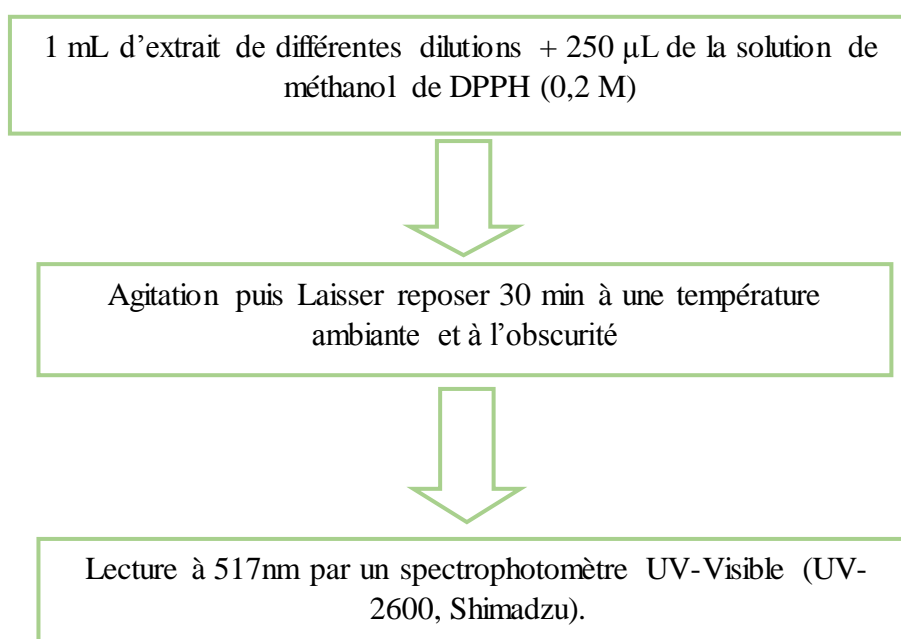
$$PI = (AC - AE) / AC.100$$

**PI:** pouvoir de la réduction en %.

**AE:** absorbance de la solution de DPPH• en présence d'extrait.

**AC:** absorbance de la solution de DPPH• en absence d'extrait.

**L'IC50:** Il correspond à la concentration efficace d'antioxydant nécessaire pour faire disparaître 50% de DPPH initial. Plus cette valeur est faible, plus le composé est un antioxydant fort [29].



**Figure (29) :** protocole de l'activité anti oxydante des extraits

## II.2. Activité antimicrobienne :

### II.2.1. Souches bactériennes pathogènes :

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits et des huiles nous avons testé 10 souches bactériennes pathogènes pour l'homme. La plupart entre elles sont impliquées dans les intoxications alimentaires et d'autres sont d'intérêt clinique.

Le choix s'est porté sur ces dernières souches car la plupart entre elles appartiennent au groupe « ESKAPE » (acronyme de : *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacterbaumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*) qui regroupe les différentes bactéries ayant une grande capacité à développer de nouvelles résistances (phénomène de l'antibiorésistance) contre des antibiotiques couramment utilisés (les premières causes d'infections nosocomiales).

Les souches nous ont été fournies par **Mr. F Abdelhamid**, chercheur et chef de laboratoire de microbiologie au centre de recherche **CRSTRA-Biskra**.

**PS** : toutes les souches utilisées appartiennent au groupe 2 de sécurité comprenant les agents biologiques pathogènes pour l'homme et dont leur propagation est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces et elles sont facilement curables ;

En outre, il faut garder à l'esprit que toutes souches sont des souches de références sauvages (ATCC) et elles n'ont aucune résistance acquise contre des antibiotiques.

**Tableau(09)** : Les souches bactériennes testées

Souche	Groupe	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	ATCC25922
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gram +	ATCC35152
<i>Bacillus Cereus</i>	Gram +	ATCC14579
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC25923
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Gram -	ATCC13182
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Gram -	ATCC14352
<i>Salmonella sp</i>	Gram -	ATCC14028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram +	ATCC10541
<i>Vibrio cholerae</i>	Gram -	ATCC33090

### II.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne est une méthode qui vise à déterminer l'effet antagoniste et inhibiteur des biomolécules (ou autres composés) dites antagonistes sur la croissance des microorganismes dits cibles. Cette méthode inspirée de l'antibiogramme consiste à imprégner des disques de papier Whatman déposés sur la surface d'une gélose appropriée (déjàensemencée par l'agent microbien) par une solution de l'antagoniste à tester, (dans notre cas se sont des extraits et des huiles), la méthode est appelée « méthode de diffusion par disques ». Les disques peuvent être remplacés par des puits creusés au niveau de la gélose et remplis de la solution à tester « méthode de diffusion en puits ». L'activité antimicrobienne est ensuite évaluée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques ou des puits.

### II.2.3. Le protocole expérimental :

#### II.2.3.1. Revivification, repiquage et confirmation des souches

Les souches utilisées sont conservées dans des tubes de conservation contenant un cryoprotecteur (glycérol (**Sigma-Aldrich**) à 20%). Avant de les utiliser elles doivent être revivifiées sur un milieu liquide (aussi pour éviter les mutations qui peuvent être provoquées par les repiquages directs et successifs sur milieux solides) qui est le bouillon nutritif (**Biokar Diagnostics, REF BK 003HA**) puis repiquer sur milieu solide (Gélose nutritive (**Biokar Diagnostics, REF BK 185HA**) ou autre milieu approprié). Après incubation, la pureté de chaque souche a été vérifiée.

Après la purification nous avons procédé à une ré-identification biochimique en utilisant des galeries API (**Biomérieux, France**) (annexe).

#### II.2.3.2. Préparation et stérilisation des extraits phénoliques et des HE

##### A. Les extraits

Après les avoir séché par un rota-vapeur (Buchi I-250), les extraits ont été reconstitués dans le DMSO à 5% (V/V) (Sigma-Aldrich), un solvant organique neutre dans lequel la majorité des extraits peuvent être solubles, il est dépourvu d'activité antimicrobienne à la concentration utilisée.

Les concentrations de chaque extrait sont les suivantes :



**Tableau (10) :** Les concentrations des extraits phénoliques.

Extraits	Dichlorométhane (A)	Acétate d'éthyle (A)	n- butanol (A)	Dichlorométhane (B)	Acétate d'éthyle (B)	1- butanol (B)
C (mg/mL)	1,33	1,71	5,38	0,79	0,34	4,21

**A :** les extraits sec *d'A.campestris* / **B :** les extraits secs *d'O.basilicum*

Connus pour leur thermolabilité, les extraits végétaux doivent être stérilisés par une méthode physique non thermique et non dénaturante, c'est la raison pour laquelle nous avons fait appel à la méthode de microfiltration par filtres seringue de 0.22 µm (Merck Millipore). Cette méthode permet de se débarrasser de tout contaminant microbien éventuel pouvant être présent.

### **B. les huiles essentielles :**

Les mêmes étapes ont été suivies à l'exception de l'étape de reconstitution dans le DMSO. Pour les rendre diffusibles sur le milieu, les huiles ont été mélangées avec quelques gouttes de Tween 40 (Sigma-Aldrich) avant l'étape de stérilisation par micro filtres.



**Figure (30) :** Stérilisation par micro filtres.

### **II.2.3.4. Préparation de milieu de culture**

Pour le test d'activité antibactérienne, la gélose Mueller Hinton (**Biokar Diagnostics, REF 048HA**) a été utilisée. Cette dernière est déshydratée et préparée en dissolvant 38g de la poudre dans 1000ml d'eau distillée. On chauffe sur une plaque chauffante agitatrice. Puis on ajuste le pH, la gélose dissolue est versée dans des flacons puis autoclavée à 121 °C / 15 minutes. Les flacons sont conservés à température ambiante jusqu'à l'utilisation.

Avant de commencer le test on fait fondre le milieu dans un four microonde puis à l'état de surfusion on coule le milieu dans des boites de Pétri et on attend la solidification



Figure(31) : coulage des boites

### II.2.3.5. Préparation des disques :

Des disques de papier Whatman N°03 de 6 mm de diamètre ont été préparés à l'aide d'un perforateur de papier, puis stérilisés pendant 15 minutes à 121 °C.

### II.2.3.6. Préparation des suspensions bactériennes

Des suspensions bactériennes dans l'eau physiologique ont été préparées en ensemençant le milieu (5 mL) par une colonie bien isolée, puis on ajuste la concentration de chaque suspension à 0.5 Mcarland ou  $10^6$  UFC.

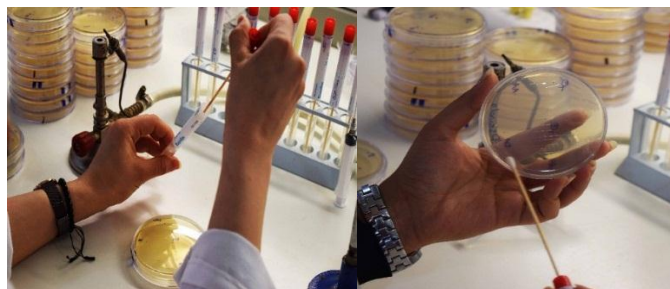


Figure(32) : préparation des suspensions.

### II.2.3.7. La Méthode de diffusion par disques sur gélose

#### A. L'ensemencement

Un écouvillon stérile immergé dans la suspension bactérienne essuyé sur les parois de tube est utilisé pour ensemençer (par des stries très serrés) la totalité de la surface de la gélose MH, L'opération se fait 3 fois en tournant la boîte de Pétri d'un angle de 90° à chaque fois.



**Figure(33)** :L'ensemencement des bactéries sur gélose MH.

### **B. Application des disques**

En attendant quelques minutes pour permettre aux suspensions de se diffuser et à la gélose d'être sèche et à l'aide d'une pince flambée on dépose les disques sur la surface de la gélose à des points équidistants. Dans le cas des extraits, chaque boîte contient 3 disques imprégnés par les différents extraits de la même plante, un disque imprégné d'une solution de DMSO à 5% qui est considéré comme témoin négatif, et un autre disque d'un antibiotique (Gentamicine ; un antibiotique avec un large spectre d'activité) est déposé au centre de chaque boîte de Pétri et considéré comme témoin positif.

Dans le cas des huiles, chaque boîte contient en plus des disques des témoins (positif et négatif), deux disques imprégnés par les deux huiles.

Les boîtes laissées pendant 20 minutes à température ambiante pour une bonne diffusion des extraits phénoliques et des huiles puis fermées en utilisant le para film et incubées à 37° C /24h. Le test a été effectué en triplicata.



**Figure(34)** : illustration de l'étape d'application des disques.

### **C. Lecture et interprétation des résultats**

Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions, en mm.

Les diamètres sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

### **II.3. Analyse statistique :**

Tous les tests ont été effectués en triple. Les moyennes et les écart-type sont calculés avec Excel de Microsoft Office 2013.

Les résultats de dosage des composé phénoliques et les celles des activités biologiques ont faits l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) avec une comparaison par paire SNK à l'aide de logiciel XLSTAT 2009.



## **Chapitre 4**

**Résultats et discussion**

## I. Résultats de l'étude phytochimique

### I.1. Criblage phytochimique :

Le criblage phytochimique présente une étape d'analyse préliminaire importante qui nous permet d'évaluer la composition chimique des plantes épuisées d'eau distillée, acide sulfurique et d'éthanol selon les protocoles décrit par **Békro (2007) [1]**. Le **Tableau (11)** regroupe les résultats du criblage phytochimique :

**Tableau (11) : Les résultats du criblage phytochimique.**

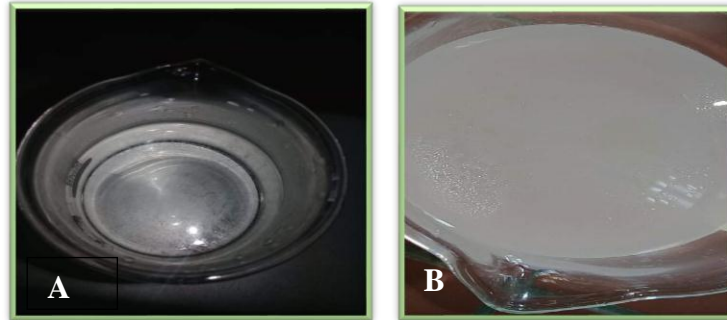
<b>Plantes</b>	<i>O.basilicum L.</i>	<i>A.campestris L.</i>
<b>Huiles essentielles</b>	+++	++++
<b>Tanins catéchiqes</b>	+	+++
<b>Tanins galliques</b>	+	+
<b>Saponines</b>	-	++
<b>Amidon</b>	-	-
<b>Sucres réducteurs</b>	++	+
<b>Flavonoïdes</b>	++	++
<b>Type de flavonoïdes :</b>		
<b>Flavones</b>	+	-
<b>flavanones</b>	-	-
<b>flavonols, flavanols</b>	-	+
<b>alcaloïdes</b>	++	++
<b>Terpènes</b>	+++	+
<b>Stérols non saturés</b>	+	+++
<b>Les coumarines</b>	-	++
<b>Antracyanes</b>	++	+++

(-) test négatif, (+) test faiblement positif, (++) test positif, (+++) test fortement positif.

#### I.1.1. Les huiles essentielles :

Les plantes étudiées (*Ocimum basilicum* et *Artemisia campestris*) font partie des plantes aromatiques qui sont caractérisées par leurs teneurs élevées en huiles essentielles d'où vient leur nom « aromatique » - Aroma = odeur, parfum – [2].

- le test effectué sur les deux plantes a montré l'existence des huiles essentielles dans les feuilles des plantes en question avec une légère différence entre les deux en termes de quantité des huiles **Figure (35)**.



**A** : le distillat de *l'A.campestris* ; teneur : +++

**B** : le distillat de *l'O.basilicum* ; teneur : ++

**Figure(35)** : photo du test de présence des HE pour les deux plantes (l'apparition d'une couche huileuse surnageant le distillat)

### I.1.2. Les tanins :

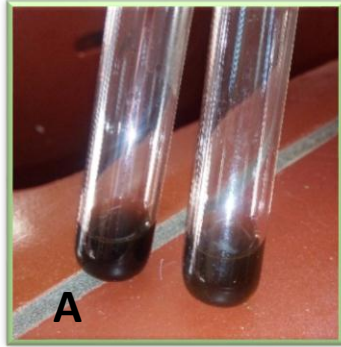
Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux au niveau de leurs écorces, feuilles, et fruits qui se répartissent en deux grands types [3].

- tanins condensés ou catéchiques ;
- tanins saponifiables ou gallique ;

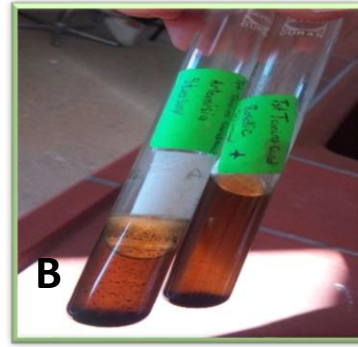
Le criblage a révélé des résultats positifs pour les deux plantes en quête, il semble que *l'A.campestris*. est plus riche en tanins que *l'O.basilicum*.

- la couleur verte foncée des extraits des plantes rend difficile la différenciation de l'intensité des autres couleurs.





A : Après l'ajout de FeCl<sub>3</sub>.



B : Après l'ajout du réactif de Stiasny.

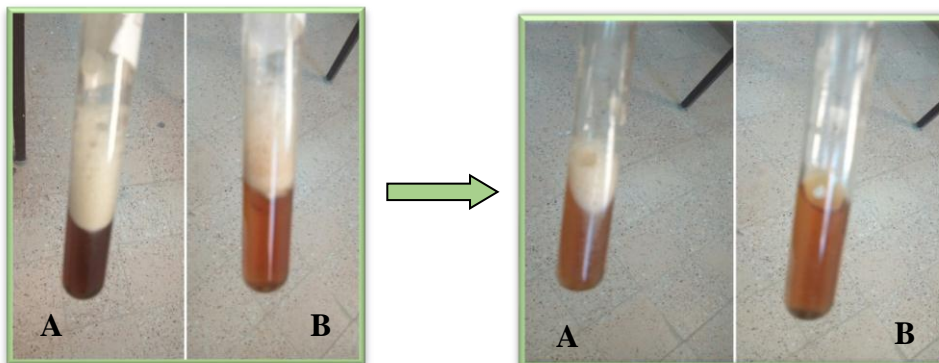
**Figure (36)** : test de révélation des tanins galliques et condensés sur les deux plantes choisies par le réactif de Stiasny.

### I.1.3. Les saponosides/ saponines :

Les saponines sont des composés organiques qui forment un groupe de métabolites secondaires abondamment trouvés dans les feuilles de certaines plantes.

- le nom saponines vient de leur pouvoir de former une mousse en présence d'eau donc l'intensité de la mousse formée donne une idée sur la richesse de la plante en saponines.

Ce test a donné un résultat positif avec *A.campestris* en donnant une mousse constante contrairement à *O.basilicum* dont la mousse se disparaît au bout de quelques instants.



A : *A. campestris*.

B : *O. basilicum*.

**Figure (37)** : mise en évidence de la présence des saponines



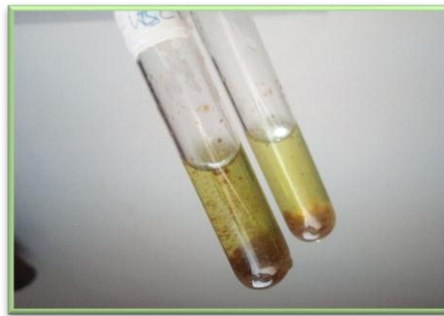
### I.1.4. Révélation de l'amidon :

Le protocole adopté pour ce but est le test au diiode qui donne une coloration bleu-violacée en présence de l'amidon ce qui n'est pas le cas pour les deux plantes sujet d'étude.

### I.1.5. Révélation des sucres réducteurs :

Nous avons opté pour le test de la réduction de liqueur de Fehling qui donne après chauffage un précipité de couleur rouge brique en présence des sucres réducteurs :

Le test s'est montré positif pour les deux plantes.

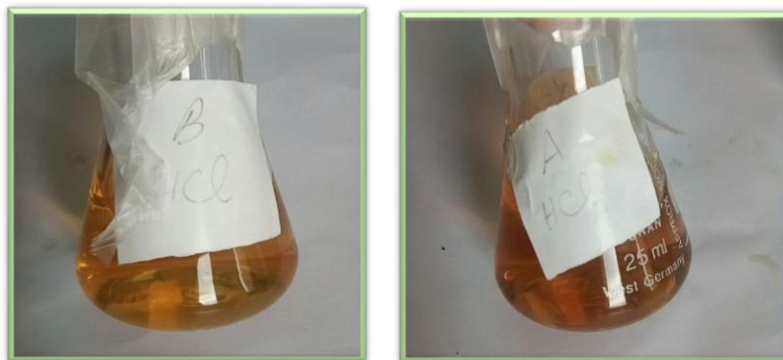


**Figure (38) :** test de révélation des sucres réducteurs pour les deux plantes.

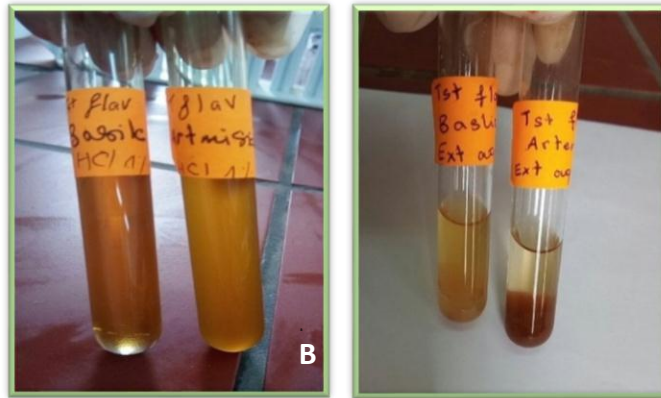
### I.1.6. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des polyphénols considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux ils sont présents au niveau des feuilles, mais ils existent en faible quantité dans les tiges et les racines [4].

- le criblage a révélé la présence de flavonoïdes dans les deux plantes étudiées.



**Figure (39) :** l'extrait des deux plantes dans l'HCl avant l'ajout des réactifs (Témoin) pour le test des flavonoïdes



A : Après l'ajout de  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

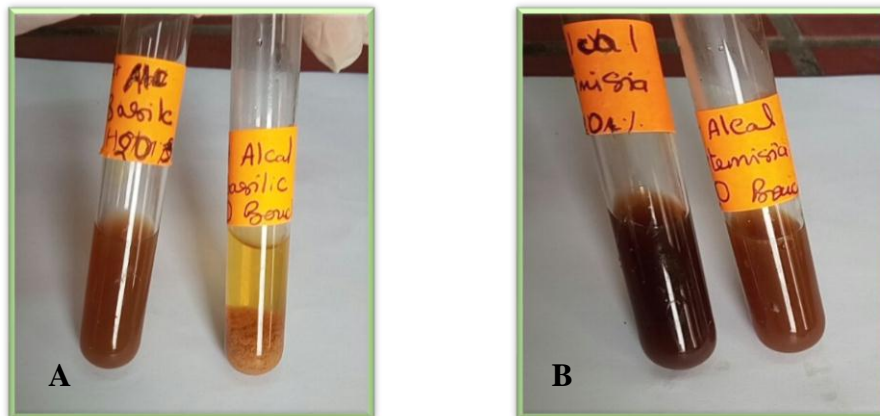
B : Après l'ajout de l'alcool chlorhydrique et isoamylique pour révéler le type de flavonoïdes

**Figure (40) :** mise en évidence de présence des flavonoïdes indiquant le type abondant.

### I.1.7. Les alcaloïdes :

Dans cette partie du travail nous avons suivis deux méthodes :

- Méthode 1 : après l'ajout des réactifs de BOUCHARDAT et DRAGENDORF sur un extrait aqueux où nous avons obtenu un résultat positif ; avec les deux

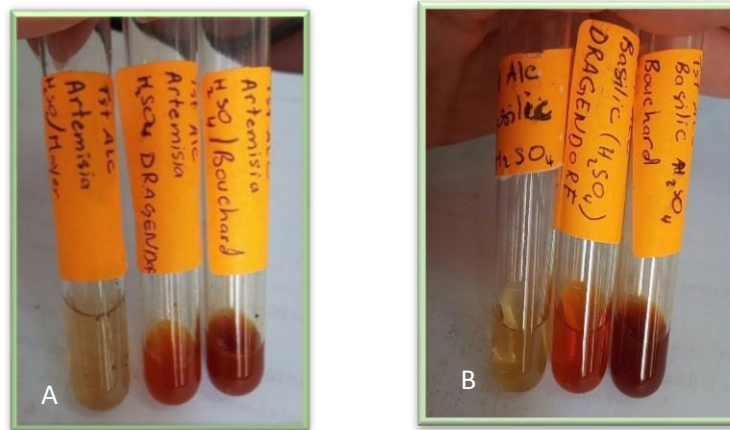


A : avec le réactif de DRAGENDORF

B : avec le réactif de BOUCHARDAT

**Figure (41) :** test des alcaloïdes par le réactif de DRAGENDORF (gauche) et de BOUCHARDAT (droite) sur un extrait aqueux

- Méthode2 : résultat positif après l'ajout des réactifs de MAYER , de BOUCHARDAT et DRAGENDORF sur un extrait de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10%.



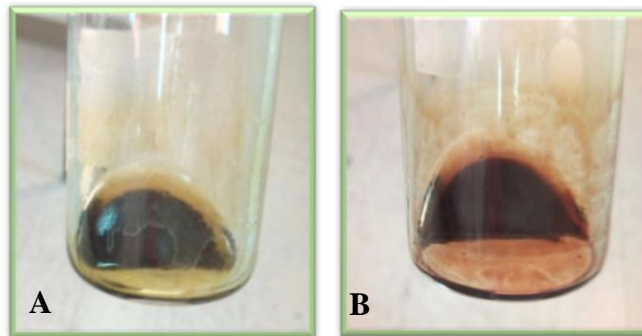
**A** : Résultats d'*A.campestris*.

**B** : Résultats d'*O.basilicum*.

**Figure(42)** : test des alcaloïdes par le réactif de MAYER, de BOUCHARDAT et DRAGENDORF sur un extrait d'acide sulfurique.

### **I.1.8. Les terpènes et stérols non saturés :**

Le test a révélé la présence des terpènes et stérols non saturés :

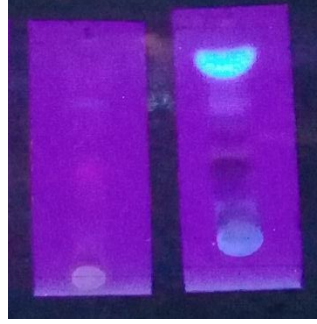


**Figure(43)** : Révélation des terpènes et stérols non saturés pour les deux plantes.

- 1- La photo **A** présente une coloration verte foncée indiquant l'abondance des terpènes dans l'espèce *O.basilicum*.
- 2- La photo **B** présente une coloration rougeâtre indiquant l'abondance des stérols non saturés dans l'espèce *A.campestris*.

### **I.1.9. Les coumarines :**

Contrairement à *O.basilicum*. (qui s'est montrée pauvre en coumarines), la révélation de la plaque CCM sous l'UV ( $\lambda = 366$  nm) révèle la présence des coumarines dans l'espèce *A.campestris* A. en donnant une fluorescence bleu vive.



Figure(44) : chromatogramme de détection des coumarines pour les deux plantes.

**I.1.10. Les antracyanes :**

On observe un changement de couleur de l'extrait indiquant la présence des antracyanes dans les deux plantes suite à l'ajout des réactifs appropriés.

**Conclusion :**

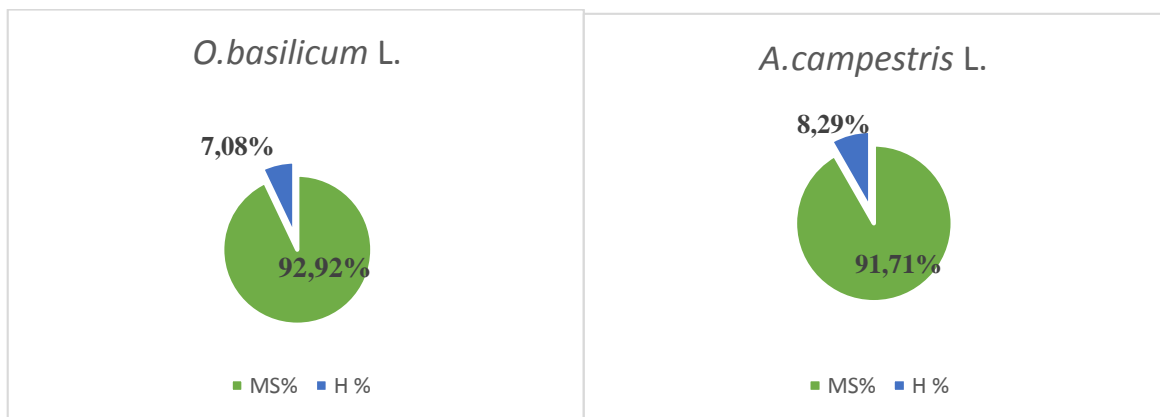
Les deux plantes ont donné des résultats positifs pour la majorité des tests effectués ce qui nous permet de conclure qu'elles sont riches en métabolites secondaires et présentent une diversité de composés avantageux.

**I.2. Contrôle de la qualité de la drogue végétale :**

**I.2.1. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité :**

- le taux d'humidité et matière sèche pour chaque espèce

Tableau (12) : le taux d'humidité et matière sèche		
	<i>O.basilicum</i>	<i>A.campestris</i>
MS %	92.92%	91.71%
H %	7.08%	8.29%



Figure(45) : Taux d'humidité et matière sèche dans la poudre végétale des deux plantes

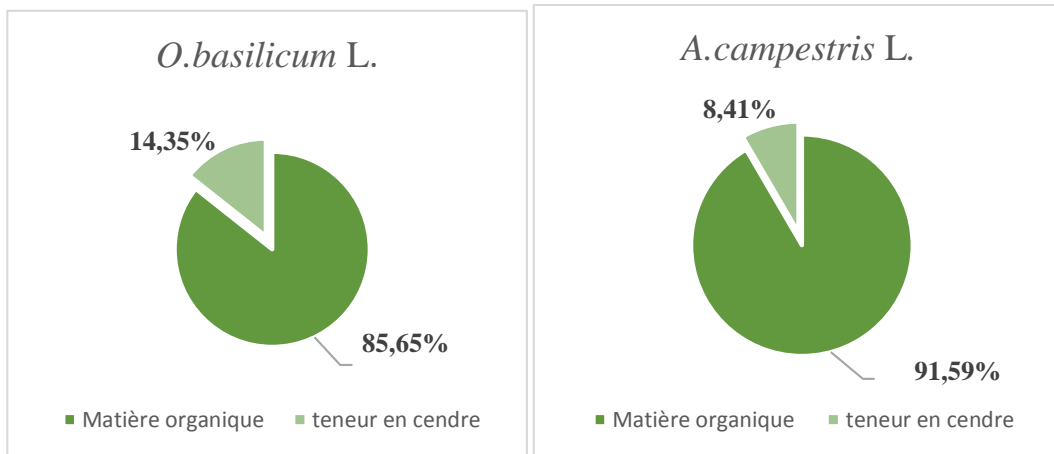
- les teneurs en eau dans les poudres végétales issues des deux plantes étudiées sont inférieures à 10% (7% - 8%) ce qui leur confère une bonne conservation à long terme selon la norme décrite par la pharmacopée européenne [5].

**I.2.2. Les cendres :**

✧ **Teneur en cendres totales :**

La teneur en cendres pour chaque plante :

<b>Tableau (13) : teneur en cendres totale</b>		
	<i>O. Basilicum</i>	<i>A. campestris</i>
T%	14.35 %	8.41 %



**Figure(46) : teneur en cendres dans la poudre végétale.**

- le pourcentage de la matière minérale d'*A. campestris* est de 8,41% qui reste inférieur à 14% donc n'ayant pas dépassée les normes fixées dans la pharmacopée européenne. Cependant, l'espèce *O. basilicum* présente un pourcentage de 14,35% qui est légèrement supérieur à 14% mais elle reste conforme à la norme, et cette légère augmentation est due à la richesse de la plante en composés inorganiques.

I.3.Extraits et leurs caractéristiques :

I.3.1.Extraction des composés phénolique :

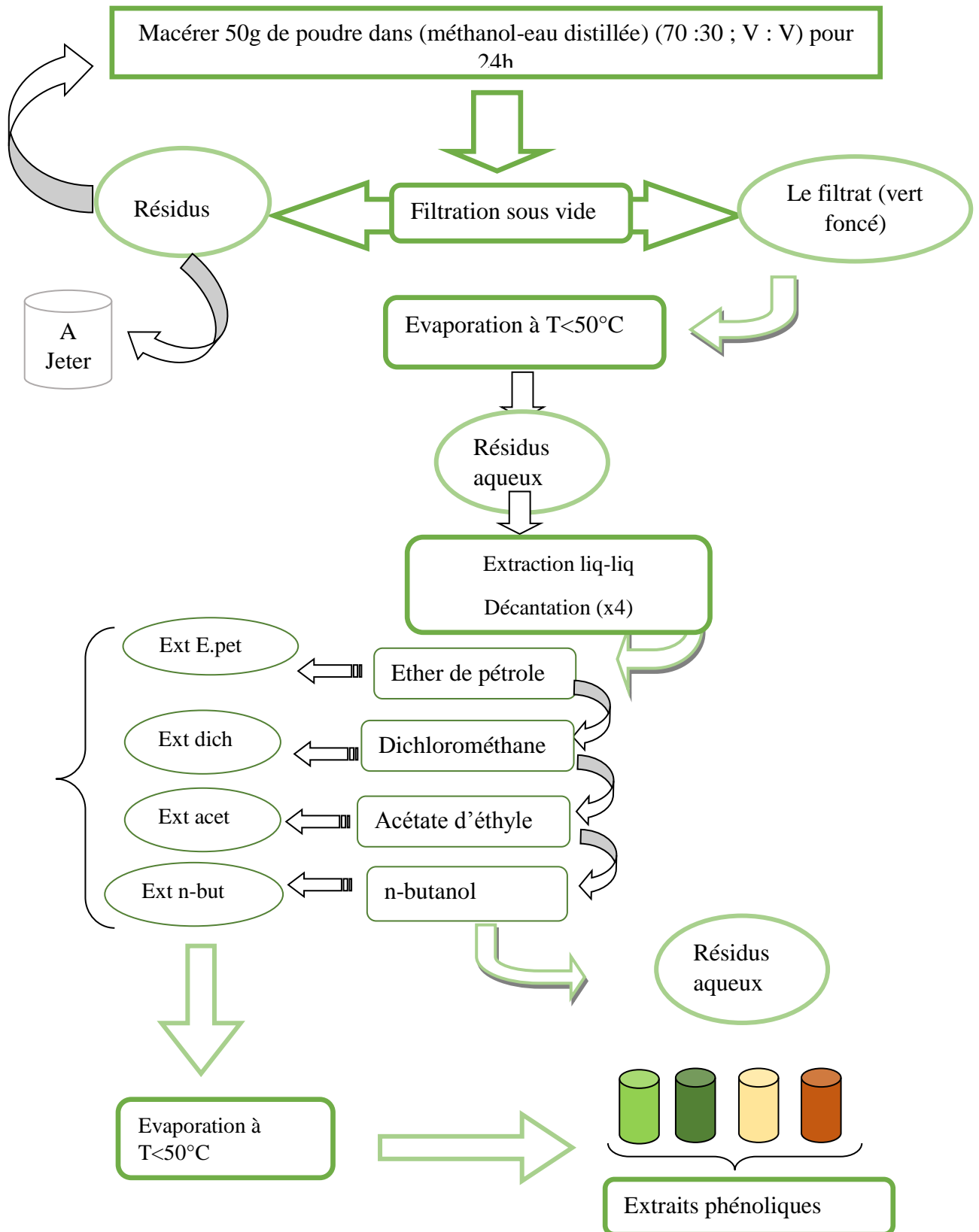


Figure (47) : les étapes suivis pour l'obtention des extraits phénoliques des deux plantes

I.3.2.Extraction des huiles essentielles :

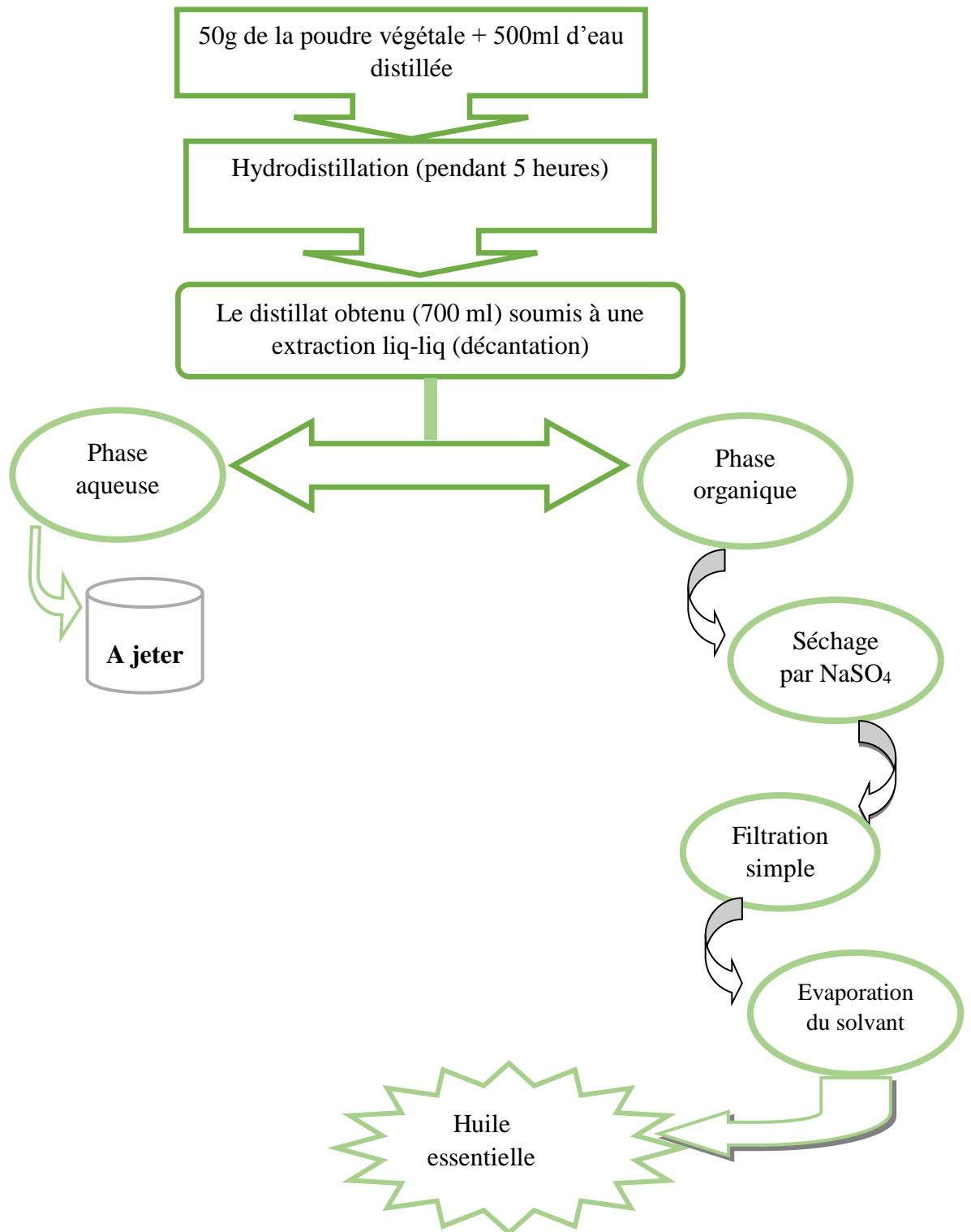


Figure (48) : les étapes suivis pour l'obtention des huiles essentielles des deux plantes.

**I.3.3.Caractéristique et rendement des extraits obtenus :**

<b>Tableau (14) : Caractéristique et rendement des extraits obtenus</b>			
Plante		<i>O.basilicum</i>	<i>A.campestris</i>
caractéristiques			
HE	<b>R% (100g MV)</b>	2,4%	1,8%
	<b>Organoleptique :</b>		
	<b>- aspect</b>	Liquide	Liquide
	<b>- couleur</b>	Jaune pâle	Jaune vif
	<b>- saveur</b>	Epicée	Piquante
	<b>- odeur</b>	Douce	Forte
	<b>Physique :</b>		
	<b>- densité</b>	0,95	0,85
	<b>- indice de réfraction</b>	1,477	1,438
	<b>- pouvoir rotatoire</b>	-0,46°	-1° à +2°
Ext	<b>R%</b>	2,16%	1,5%
E.Pet	<b>Aspect, couleur :</b>	Solide, vert	Solide, vert clair
Ext	<b>R%</b>	6,06%	3,6%
	<b>Aspect, couleur :</b>	Pâteux, collant, vert foncé	Pâteux, collant, vert brun
Ext	<b>R%</b>	7,34%	11,84%
	<b>Aspect, couleur :</b>	Solide, miel	Solide, marron
EXT	<b>R%</b>	10,06	24,56%
	<b>Aspect, couleur :</b>	Forme cristaux, brun	Cristaux, brun foncé
n-But			

- ◆ D’après les résultats obtenus ; on constate que les deux plantes sont riches en huiles essentielles. Le rendement en huiles essentielles est lié au plusieurs paramètres, l’environnement, le génotype, l’origine géographique, l’âge de la plante, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, le procédé d'extraction utilisé, la température, la durée de séchage, les parasites, les virus, les traitements phytosanitaires et les stress hydriques [3] [6].



La teneur en l'huile essentielle de basilic est égale à 2,47%, cette valeur est proche de celles obtenues par MAIDL(2014) [7] et Khelifa et al (2012) [8] qui ont obtenu un rendement de 2,047% et 1,98 %, à partir des espèces collectées de la région de **Laghouat** et de **Khemis Miliana** respectivement. En **Turquie**, **Özcan et Chalchat (2002) [9]**, ont obtenu un rendement égal à 1,25%. Cependant, **Ismail (2006) [10]** a obtenu un rendement de 1,7% avec des plantes de basilic collectées dans une région de l'**Egypte**. Le rendement des huiles essentielles des plantes de basilic collectées par **Ngom et al (2014) [11]** au **Sénégal** était égal à 1,24%.

Les résultats de MAIDL(2014) [7] et KHELIFA et al (2012) [8] sont proches aux nôtres ce qui nous permet de dire que les facteurs (surtout situation géographique) ont influencé les résultats (rendements très proches).

Concernant *A. campestris* A., notre rendement (1.8%) est relativement supérieur à ceux obtenus avec d'autres plantes issues des autres pays à savoir la **Tunisie** (0.65%) [12], la **France** (0,3 à 0,7%) [13], la **Serbie –Yougoslavie** (0,2) [14], et l'**Algerie** (0,1) [15].

- ◆ Pour les extraits phénoliques, on trouve que l'extrait butanolique a donné le rendement le plus élevé, 10,6% et 24,56% pour *O.basilicum* L. et *A.campestris* A. respectivement suivi de l'extrait acétate d'éthyle (7,34% et 11,84%). Par contre, le rendement le plus faible a été obtenu avec l'extrait d'éther du pétrole ; 2,16% et 1,5% pour *O.basilicum* L. et *A.campestris* A. respectivement. Ce solvant n'est utilisé que pour dégraisser la drogue végétale et se débarrasser des impuretés qui peuvent falsifier les résultats des analyses effectuées.

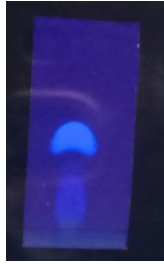

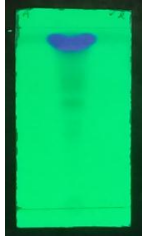

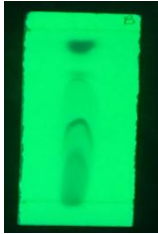
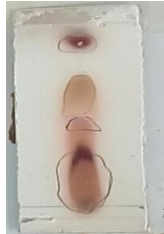


### I.4.Chromatographie sur couche mince :

Pour la caractérisation de nos extraits *d'O.basilicum* et *d'A.camestris* une chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques de gel de silice en utilisant comme phase mobile quatre systèmes d'élution de polarité différente.

- l'analyse chromatographique des différents extraits (HE + Extraits phénoliques) des deux plantes a révélé la variété des composants de ces derniers ce qui valide les résultats du criblage phytochimique obtenu précédemment.

Après développement par différents systèmes d'élution et révélation (**Tableau (8)**) des plaques, on a obtenu les chromatogrammes suivants **Tableaux (15), (16), (17)** pour les HE et extraits phénoliques :

**Tableau (15) :** Les chromatogrammes des huiles essentielles des deux plantes.

Eluant Révélation	Syst01		Syst02	
	UV	Acides	UV	Acides
HE-A				
HE-B				

- Les chromatogrammes obtenus montrent de taches bien distinctes de différents facteurs de rétention, on constate que les deux huiles présentent une variété de composants terpéniques. Cette différence dans la composition des deux plantes est bien claire au niveau des chromatogrammes obtenus à l'égard de cette étude.

- Selon **Saliou NGOM et al (2012) [11]**, l'huile essentiel de *O.basilicum* présente une multitude de composants (monoterpènes, alcools, hydrocarbures, oxydes), selon **Khelipha et al (2012) [8]**, elle est constituée majoritairement de Linalool (32.83%), linalylacetate (16%), elemol (7.44%), geranylacetate (6.18%), myrcene (6.12%), allo-ocimene (5.02%),  $\alpha$ -terpineol (4.9%), (E)- $\beta$ -ocimene (3.68%) et nerylacetate (3.45%).

-**TOUIL Souhila et BENREBIHA Fatima Zohra [16]** ont trouvé que l'huile essentielle de *A.campestris* est caractérisée par la présence de  $\beta$ -pinène (20,75 %) et du limonène (10,46%) et du  $\gamma$ -terpinene (10,18 %) comme principaux constituants chimiques.

Tableau (16) : les chromatogrammes des extraits phénoliques d'*A.campestris* L.

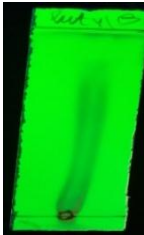

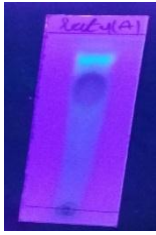

Eluant	Syst01		Syst02		Syst03	
	UV	Acides	UV	Acides	UV	Acides
Révélation Extraits A						
Ext E.pet						
Ex dich						
Ext acet						
Ex n-but						

Tableau(17) : les chromatogrammes des extraits phénoliques d' *O.basilicum L.*

Eluant	Syst01		Syst02		Syst03	
	UV	Acides	UV	Acides	UV	Acides
Révélation Extraits B Ext E.pet						
Ex dich						
Ext acet						
Ex n-but	--	--	--	--	--	--

- aucun système entre les systèmes utilisé n'a pu donner un chromatogramme interprétable pour l'extrait n-but, pour cela on a passé à un autre système plus polaire pour pouvoir révéler la composition de cet extrait qui a donné les résultats du **Tableau (18)**

**Tableau(18) :** résultats de l'extrait n-butanol des deux plantes.

plante	<i>O.basilicum</i>		<i>A.campestris</i>	
Révélation	UV	Acides	UV	Acides
Ext n-but				

Pendant l'analyse CCM, plusieurs systèmes de solvants ont été utilisés sur les extraits bruts obtenus lors de l'extraction liquide-liquide des composés phénoliques, en utilisant des plaques analytiques recouvertes de gel de silice. Chaque extrait avec un système spécifique à une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots, comme il est indiqué sur les chromatogrammes obtenus.

Les spots sont visualisés sous lampe UV puis dans un mélange des solvants, cette dernière a donné des fluorescences plus claires et distinctes.

Comme il existe une relation entre la fluorescence et la nature ainsi que les substitutions du composé phénoliques.

Le solvant éther de pétrole est généralement utilisé pour dégraisser la drogue. A l'œil nu, les taches apparaissent en verts correspondent aux chlorophylles et les taches mauve sont les stérols. Les deux extraits dichlorométhane et l'acétate d'éthyle présentent une bonne migration. Les taches sont bien distinctes avec un facteur de rétention qui diffère d'une tache à l'autre, tout ça montre une richesse considérable des extraits analysés en substances flavonoïques.

Pour l'extrait butanolique qui retient les composés les plus polaires, on remarque l'apparition de quelques tâches de différente couleur et facture de rétention. Chaque tache donne une fluorescence distincte correspond à un composé spécifique.

**I.5. Dosage des polyphénols :**

**I.5.1. dosage des polyphénols totaux :**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, et les mesures sont faites par spectrophotomètre UV à  $\lambda = 765$  nm. Les concentrations ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe**) puis exprimées en mg EAG/g MS.

- les résultats du dosage sont présentés dans le **Tableau (19)** :

Tableau (19)	Concentration des polyphénols totaux (mg EAG/gMS)		
Extraits Plantes	Ext dich	Ext acet	Ext n-but
<i>A.campestris</i>	19.631±2.012	84.863±1.622	12.681±0.781
<i>O.basilicum</i>	49.947±3.907	36.902±0.3	8.580±0.61

- A partir des résultats obtenus on constate que tous les extraits contiennent des composés phénoliques tandis qu'ils donnent une coloration bleue avec le réactif de Follin-Ciocalteu [17], le contenu phénolique total était comparativement (aux résidus secs) faible parce que une décomposition ou perte des composés phénoliques au cours du processus de séchage sont généralement rapportés.

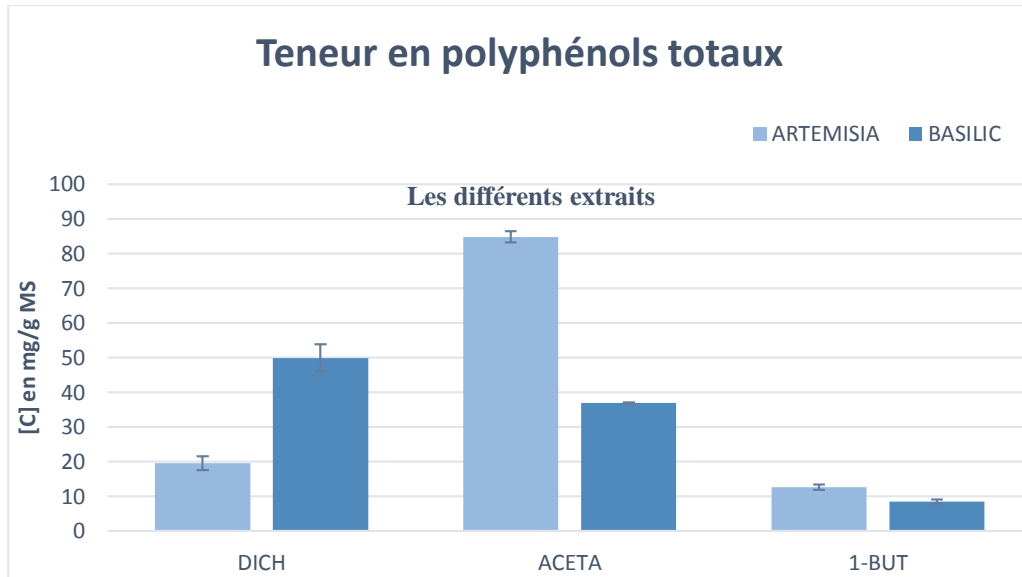
- La teneur en polyphénols variait de (84.863±1.622 à 12.681±0.781 mg EAG/g) qui fait référence aux extraits : acétate d'éthyle et n-butanol respectivement pour l'espèce *A.campestris* et de (49.97±3.907 à 8.580±0.61 mg EAG/g) qui fait référence aux extraits : dichlorométhane et n-butanol respectivement pour *l'O.basilicum*.

- En lisant les résultats représentés dans le **Tableau (19)**, on peut constater que pour *A.campestris* l'extrait acétate d'éthyle est montré le plus riche en polyphénols totaux avec une concentration de 84,86 mg EAG/g suivi de l'extrait dichlorométhane (19.631 mg EAG/g). L'extrait butanolique est le plus pauvre en polyphénols totaux.

- Concernant *l'O.basilicum* l'extrait dichlorométhane est l'extrait le plus riche (49.97 mg EAG/g) suivi de, l'extrait acétate d'éthyle (36.902 mgEAG/g). La concentration la plus faible (8,5 mg EAG/g) a été enregistrée avec l'extrait butanolique.

Le taux important en phénol totaux est enregistré dans l'extrait d'acétate d'éthyle ou dichlorométhane, ceci pourrait être due à la teneur élevée des plantes étudiée en composés

phénoliques apolaires (comme les flavonoïdes aglycones et les acides phénoliques...) qui sont extractibles par les solvants moyennement polaire que les polaires comme les tanins qui sont extractibles par le butanol [18].



**Figure (49) :** Teneur en polyphénols totaux pour les deux plantes et leurs répartitions dans les différents extraits

**I.5.2. Dosage des flavonoïdes :**

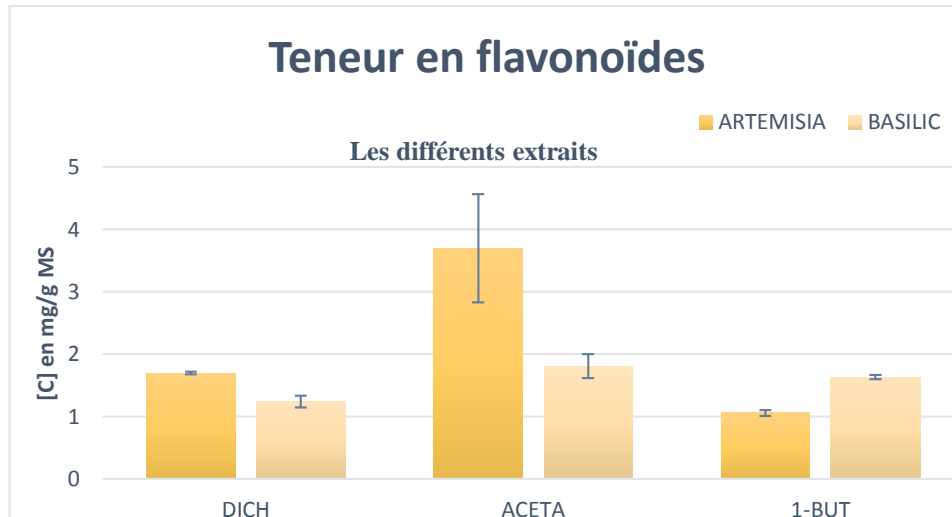
Le dosage des flavonoïdes a été fait par le trichlorure d’Aluminium AlCl<sub>3</sub> qui donne une couleur jaune comme titre positif le calcul des concentrations a été fait à partir de l’équation d’une courbe d’étalonnage de la quercétrine [19]. (Annexe).

- le dosage a donné les résultats présentés dans le **Tableau (20)** :

Tableau (20)	Concentration des flavonoïdes en (mg EQ/gMS)		
Extraits	Ext dich	Ext acet	Ext n-but
<b>Plantes</b>			
<i>A.campestris</i>	1,69±0,022	3,69±0,867	1,05 ± 0,045
<i>O.basilicum</i>	1,239±0,094	1,806±0,192	1,631 ±0,037

- les résultats obtenus révèlent que la teneur en flavonoïdes variait de (3,69±0,867 à 1,05 ± 0,045 mgEQ/g) pour l’extrait acétate d’éthyle et n-butanol respectivement du genre *A.campestris* et de (1,806 ±0,192 à 1,239±0,094 mgEQ/g) pour l’extrait acétate d’éthyle et dichlorométhane respectivement d’*O.basilicum*.





**Figure(50) :** Teneur en flavonoïdes totaux pour les deux plantes et leurs répartitions dans les différents extraits

- En lisant les résultats représentés dans le tableau, on peut constater que pour *A.campestris* l'extrait acétate d'éthyle s'est montré le plus riche en flavonoïdes totaux avec une concentration de (3,69 mgEQ/g) suivi de l'extrait dichlorométhane (1,69 mg EQ/g). L'extrait butanolique (1,05 mgEQ/g) est le plus pauvre en flavonoïdes.

- Ainsi que pour *O.basilicum* l'extrait acétate d'éthyle est le plus riche (1,806 mg EQ/g) suivi de l'extrait butanolique (1,631 mg EQ/g) et l'extrait dichlorométhane s'est montré le plus pauvre avec une concentration de (1,239 mg EQ/g).

-Nous pouvons constater que l'extrait d'acétate d'éthyle est plus riche en flavonoïdes par rapport à l'extrait butanolique et dichlorométhane, ceci est peut être dû à la nature de la plante étudiée car elle contient plus de flavonoïdes apolaires (par exemple les isoflavones, flavanones, les flavonesméthylés, et flavonols) [18]. Ces taux représentent la quantité des flavones et flavonols puisque la méthode de dosage suivie est utilisée spécifiquement pour le dosage de ces deux classes. Ce résultat semble conforme au criblage phytochimique déjà fait qui a montré l'abondance de ces deux types des flavonoïdes dans les plantes étudiées.

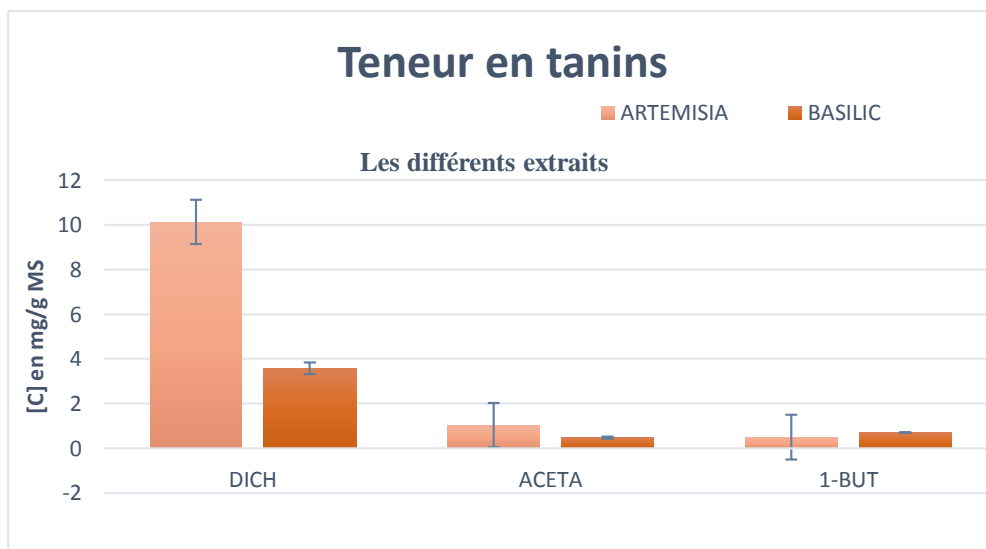


**I.5.3. Dosage des tanins condensés :**

Le dosage des tanins condensés a été fait par la vanilline et acide chlorhydrique qui donne une couleur rouge comme titre positif le calcul des concentrations a été fait à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage d'acide tannique **Tableau(21)** :

Tableau(21)	Concentration des tanins condensés en (mg EAT/gMS)		
Extraits Plantes	Ext dich	Ext acet	Ext n-but
<i>A.campestris</i>	10,13±0,175	1,033 ± 0,072	0,50± 0,0244
<i>O.basilicum</i>	3,57±0,261	0,468±0,046	0,708±0,009

- Les résultats obtenus révèlent que la teneur en tanins condensés variait de (10,13±0,175 à 0,50± 0,0244 mgEAT/g) pour dichlorométhane et l'extrait n-butanol respectivement du genre *A.campestris* et de (3,57±0,261 à 0,708±0,009 mgEAT/g) pour dichlorométhane et l'extrait n-butanol respectivement d'*O.basilicum*.



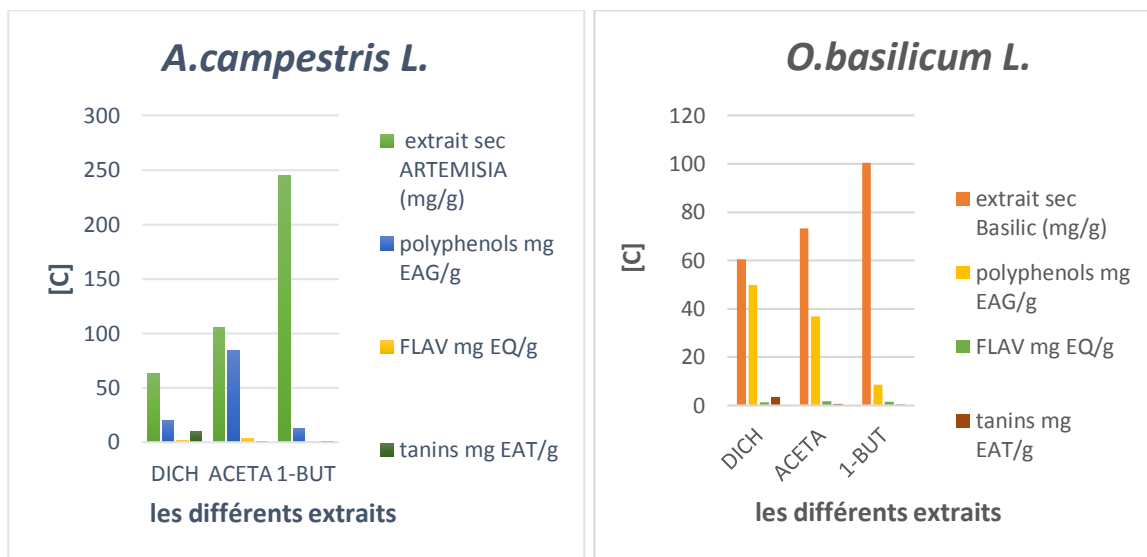
**Figure (51) :** Teneur en tanins condensés pour les deux plantes et leurs répartitions dans les différents extraits

En lisant les résultats représentés dans le tableau, on peut constater que pour *A.campestris* l'extrait dichlorométhane s'est montré le plus riche en tanins condensés avec une concentration de (10,13 mg EAT/g) suivi de l'extrait acétate d'éthyle (1.03 mg EAT/g) et l'extrait butanolique (0,05 mg EAT/g) est le plus pauvre en tanins condensés.

- Ainsi que pour *O.basilicum* l'extrait dichlorométhane est le plus riche (3.578 mg EAT/g) suivi de l'extrait butanolique (0.708 mg EAT/g) et l'extrait acétate d'éthyle s'est montré le plus pauvre avec une concentration de (0,468 mg EAT/g).

### Conclusion :

- Les teneurs en polyphénols sont toujours très faibles par rapport aux rendements des extraits bruts **figure (52)**, ce résultat indique que les extraits bruts obtenus par extraction liquide-liquide contiennent des composés autres que les polyphénols comme les saponines, les terpènes et stérols.



**Figure (52) : comparaison entre les composés phénoliques et les résidus secs.**

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols [20] [21].

## II. Résultats d'évaluation des activités biologiques

### II.1. Résultat de l'évaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des extraits issus des deux plantes est déterminée par la méthode du piégeage des radicaux DPPH, cette méthode est généralement utilisée pour évaluer la capacité des extraits des plantes à piéger les radicaux libres générés à partir du réactif DPPH [22].

L'activité antioxydante évaluée pour les différents extraits ainsi que les standards

(Contrôle positif) utilisés sont exprimées en  $IC_{50}$  (concentration inhibitrice 50%) ; cette concentration d'extrait neutralise (réduit) 50% du radical libre (DPPH), plus l' $IC_{50}$  est faible plus le potentiel antioxydant de l'extrait est puissant.

Après 30 mn d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différentes concentrations), la coloration violette (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) vire vers le jaune (diphenyl-picrylhydrazine) dans les extraits, ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que les échantillons ont un effet piègeur du radical DPPH. L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante des différents extraits des deux plantes est représenté dans le tableau ci-dessous :

**Tableau (22) :**  $IC_{50}$  des différents extraits des deux plantes

Les extraits	HE (p < 0.0001)	Dich (p<0.005)	Acet (p<0.005)	n-but (p < 0.0001)	Témoin (p < 0.0001)
<b><math>IC_{50}</math> (<math>\mu\text{g/ml}</math>) De Basilic</b>	1500	1714	625	1107	225
<b><math>IC_{50}</math> (<math>\mu\text{g/ml}</math>) D'Artemisia</b>	1260	1450	986	1259	225

D'après ces résultats, on aperçoit que :

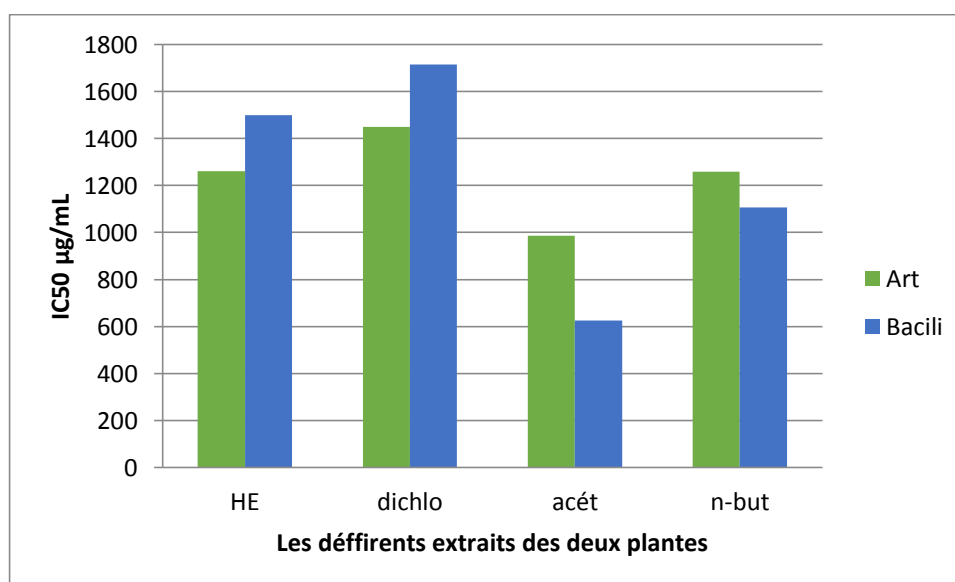
- Pour l'*O. basilicum* tous les résultats obtenus pour les différents extraits phénoliques ainsi que l'HE sont largement supérieures à ceux enregistrés pour l'acide ascorbique (225  $\mu\text{g/mL}$ ) ; Cependant, il convient de distinguer que l'activité antioxydante des extraits phénoliques et d'HE est relativement faible par rapport à celle de standards.
- La fraction la plus active enregistrée est celle de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de 625  $\mu\text{g/mL}$  et cela grâce à sa richesse en les flavonoïdes et les polyphénols **figure (50)** qui sont responsables de l'activité antioxydante suivie par l'extrait de n-butanol avec une valeur de (1107  $\mu\text{g/mL}$ ) et en dernier, l'extrait de dichlorométhane qui est le moins actif avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de 1714  $\mu\text{g/ml}$ .

D'après les recherches de **Jayasinghe, Gotoh, Aokiet al., (2003) [17]** le principal antioxydant retrouvé dans les feuilles de basilic est l'acide rosmarinique (la présence de quatre groupes hydroxyles dans sa molécule).

Selon les résultats trouvés, l'HE d'*O.basilicum* présente une  $CI_{50}$  de 1500  $\mu\text{g/ml}$ , leur effet est dû principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique [23].

- De même pour l'*A.campestris* tous les résultats obtenus pour les différents extraits phénoliques ainsi que HE sont largement supérieure à ceux enregistrée avec l'acide ascorbique (225  $\mu\text{g/mL}$ ). Alors, il convient de distinguer que l'activité antioxydante des extraits phénoliques et d'HE est relativement faible par rapport à celle des standards.
- La fraction la plus active est celle de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de 986  $\mu\text{g/mL}$  pour la même raison que l'*O. basilicum* (figure (50)) ; suivie par l'extrait de n-butanol avec une valeur de (1259 $\mu\text{g/mL}$ ) et en dernier, l'extrait de dichlorométhane qui est le moins actif avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de 1450  $\mu\text{g/mL}$ .

D'après les résultats trouvés, L'HE d'*A.campestris* présente une  $CI_{50}$  de 1500  $\mu\text{g/mL}$ , son effet est dus principalement à la présence  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène et limonène [24].



**Figure(53) :**  $IC_{50}$  des différents extraits des deux plantes

Selon la figure (53) on trouve que la majorité des extraits phénoliques d'*O.basilicum* sont les plus actifs que ceux d'*A.campestris* par contre l'HE d'*A.campestris* (1260  $\mu\text{g/mL}$ ) est le plus actif comparée à celle d'*O.basilicum* (1500  $\mu\text{g/ml}$ ) et les extraits phénoliques des deux

plantes sont été plus performant que l'huiles essentielles ce qui est prouvé par **Khelifi, D.et al. (2013)**, **Akrout et al. (2010)** [25] [26].

Des études antérieures sur la capacité antioxydante d'extraits méthanoliques des deux plantes ont montré des différentes valeurs d' $CI_{50}$ . On cite par exemple : Les travaux **d'Ijaz Hussain et al., (2008)** [27] sur l'HE d'*O. basilicum* en fonction de différentes périodes de récolte durant l'année, qui démontrent que, les HE de la période d'hiver et de printemps est pourvue d'une plus grande activité antiradicalaire comparée à celle de l'automne et de l'été, présentant des valeurs respectives d' $IC_{50}$  de 4.8, 5.3, 6.0 et 6.7  $\mu\text{g/mL}$ .

**Ouibrahim, (2010)** [28] a enregistré une  $CI_{50}$  de 2 mg/mL avec l'HE d'*O. basilicum* de la région d'El Kala, de même **Constantin et al., (2011)**[29] ont trouvé une activité anti radicalaire de 1.8 mg/ml de l'HE du basilic à Ouagadougou.

Concernent l'*A. campestris*, **Boudjrouf ,(2011)** [33] a montré qu'il existe une activité antioxydante dans les extraits de chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éthanol avec une  $IC_{50}$  de (105.76, 100.2, 68.1  $\mu\text{g/mL}$ ) respectivement., de même **Akrout ,(2011)**[24] a trouvé une activité anti radicalaire de 94.5 mg/ml de l'HE d'*Artemisia* sud tunisien.

Cette variabilité entre les résultats des différents études est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique des HE ainsi que sur leurs activités biologiques.

### **II.2.Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne :**

L'évaluation du pouvoir antibactérien *in vitro* est faite par la méthode de diffusion par disques dans un milieu solide, sur 10 souches bactériennes pathogènes.

Les diamètres des zones d'inhibition des souches inoculées avec l'HE et les extraits sont notés et exprimés en millimètres. Les résultats de la méthode de diffusion sont regroupés dans les **Tableau (23), (24), (25)**.

➤ **Les huiles essentielles :**

<b>Tableau (23) : Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles</b>		
<b>Souches bactériennes</b>	<b>HE-A.Camp</b>	<b>HE-O.Bas</b>
<i>Bacillus Cereus</i>	9,33±1,55 (b)	14,33±0,44 (a)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,66±0,88 (b)	16,33±0,44(a)
<i>Listeria monocytogenes</i>	13,33±0,88 (a)	16±0,66(a)
<i>Escherichia coli</i>	6,66±0,88 (c)	9,66±0,44 (b)
<i>Vibrio cholerae</i>	6(c)	10(ab)
<i>Salmonella sp</i>	6,66±0,88(c)	10,33±0,44(ab)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6(c)	6(c)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6(c)	7±0,44(bc)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6,33±0,44(c)	16,33±0,44(a)
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,33±0,44(b)	11±0,44 (ab)

\*La même lettre regroupe les moyennes présentant une différence non significative

Les souches microbiennes testées ont été moyennement sensibles vis-à-vis les huiles essentielles des deux plantes, un extrait est considéré efficace lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm [31].

En lisant les résultats on voit que les zones d'inhibition varient de 8,33±0,44 à 13,33±0,88 mm pour *A.campestris* A. et de 8,33±0,44 à 16,33±0,44 mm pour *O.basilicum* L.

La souche la plus sensible est *L. monocytogenes* avec une zone d'inhibition de 13,33±0,88mm pour *A.campestris* suivis de *S. aureus* (9,66±0,88 mm) et *B. Cereus* (9,33±1,55mm), la plus faible zone observée est celle d'*E.faecalis* (8,33±0,44 mm). Ces résultats sont proches de ceux de **Rafika et al (2018) [31]** qui ont trouvé que ces mêmes souches présentent une sensibilité significative vis-à-vis l'essence d'*A.campestris* A. dont *Enterococcus faecalis* a été la plus sensible (26.01± 0.54 mm) suivis de *S. aureus* (11.13±0.52mm) ainsi que *K. pneumonias*. *E. coli* était résistante. L'activité faible de l'essence *A.campestris* A. est due à son profil chimique qui renferme essentiellement des hydrocarbures ayant un bon pouvoir d'inhibition mais à des concentrations élevées dont l' $\alpha$ -pinène, le sabinène qui sont connus pour leur activité antimicrobienne considérable. Aussi, cette propriété antibactérienne de l'essence d'*A.campestris* A. peut être attribuée aux interactions synergiques entre ses différents composés. Selon plusieurs études rapportées

par **Hassane et al. [32]**, la synergie entre les différents composés peut augmenter considérablement l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle comparée à celle prévisible pour les composés majoritaires.

Alors que pour l'huile essentielle de *O.basilicum L.* qui s'est montré plus active contre presque toutes les souches bactériennes testées, la souche la plus sensible est *S. aureus* K. oxycota avec une zone d'inhibition assez large allant jusqu'à 16,33±0,44mm suivis de *L. monocytogenes* (16,33±0,44mm), *B. Cereus* (14,33±0,44), *Enterococcus faecalis* (11±0,44 mm), *Salmonella sp* (10,33±0,44mm) et même la souche *Vibrio cholerae* a présenté une faible sensibilité (10 mm). Des études antérieures ont révélé des résultats proches de ce que nous avons trouvé, **NGOM et al, 2014 [11]** confirment la sensibilité des souches : *Salmonella*, *B. Cereus*, *E. Coli* contre cet essence et selon **NGOM** cette efficacité est due à sa richesse en alcools et composé phénolique (environ 69 % du total de l'huile). Ainsi que les études de **L.MAIDI, 2014 [7]** sur *l'O.basilicum L.* collectée de la région de **Laghout** ont révélé la sensibilité des souches : *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *B. Cereus*, *E. coli*, avec des zones d'inhibition allant de 8.33±0.28 mm jusqu'à 18,33±0,57 mm respectivement pour une concentration de 50 % (4,6 mg/ml par disque).

Ces résultats restent en accord avec la littérature qui indique que le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est en grande partie attribué à leurs teneurs en composés oxygénés (alcools, phénols, esters et oxydes) [33] [34].

➤ **Les extraits phénoliques :**

<b>Tableau (24) : Diamètre des zones d'inhibition des extraits phénolique d'<i>A.campestris</i> (mm)</b>				
<b>Souche bactérienne</b>	<b>dich(p &lt;0.0001)</b>	<b>acet(&lt; 0.0001)</b>	<b>n-but (p&lt;0.05)</b>	<b>T+ (p&lt; 0.0001)</b>
<i>Bacillus cereus</i>	13.33 ±0.44(a)	13.66 ±0.44 (a)	9.66 ±0.88 (a)	32.33 ±2.22 (a)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.33 ±0.88(a)	13.33±0.88 (a)	7.66 ±1.11(ab)	35 ±2 (a)
<i>Listeria monocytogenes</i>	11 ±1.33 (b)	12± 2.66 (bc)	7.33 ±0.44(ab)	34.33 ±3.11 (a)
<i>E. coli</i>	9 (bc)	9.66±0.44 (bc)	7.33 ±0.44(ab)	23 ±2 (b)
<i>Vibrio cholerae</i>	8.66 ±0.44	9.33±1.11 (bc)	7.33 ±0.44(ab)	24 ± 0.66 (b)
<i>salmonella</i>	8.33 ±0.44 (c)	8.66±0.44 (bc)	6.66 ±0.44 (b)	25.33 ±1.11 (b)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 ±1.33 (c)	8±0.66 (c)	8.33 ±0.88(ab)	23.33 ± 0.44 (b)
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	7.66 ±0.88 (c)	7.33±0.88 (c)	8 ±0.66 (ab)	22 ± 2 (b)
<i>Klebsiellaoxytoca</i>	9 (bc)	7± 1.33 (c)	7 (b)	25.66 ±0.44 (b)
<i>Enterococcusfaecalis</i>	10.33 ± 0.44(bc)	7 (c)	8 (ab)	24.66 ± 0.88 (b)

\*La même lettre regroupe les moyennes présentant une différence non significative.

En lisant les résultats représentés dans le tableau ; on peut constater que seulement avec les souches ; *B. cereus*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* et *E. faecalis*, les diamètres des zones d'inhibition ont été supérieurs à 10 mm ( $13.33 \pm 0.44/13.66 \pm 0.44$ mm), ( $13.33 \pm 0.88/13.33 \pm 0.88$ mm) et ( $11 \pm 1.33/12 \pm 2.66$ mm) en présence des deux extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle respectivement. Ce qui nous permet de dire que ces deux extraits sont les plus actifs contre ces bactéries.

Les souches ayant un diamètre d'inhibition compris entre 10 et 8 mm telle que : *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *P. aeruginosa* peuvent être considérées étant sensibles aux deux extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle mais à des concentrations plus élevés [32].

Comparé avec les extraits dich et acet, L'autre extrait (n-but) s'est montré le moins efficace contre toutes les bactéries testées, la *B. cereus* a été la bactérie la moins résistante à cet extrait avec un diamètre d'inhibition de  $9.66 \pm 0.88$ mm.

Ces résultats confirment ceux des travaux de **NAILI et al, 2010 [35]** sur de extrait méthanolique obtenus à partir des parties aériennes de plante collectée de sud de la **Libye**. Ainsi que **Boudjouref.M, 2011 [30]** qui a étudié l'activité antimicrobienne des extraits d'*A.campestris* collecté de la région de **Boussaâda** Wilaya de **Msila**, cette étude a été la base d'une autre faite en **2018** par **GHOUAR.M et SABEG.K [36]** elles ont fait une étude comparative entre les extraits de *A.campestris* collectée de la région de **Boussaâda** et **Oum El Bouaghi**. Tous ces travaux révèlent la sensibilité des souches de *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, et *P. aeruginosa* vis-à-vis des extraits : méthanolique, chloroformique, acétate d'éthyle et aqueux. **NAILI et al, 2010 [35]** sont les seuls qui ont étudié l'effet de l'extrait méthanolique sur *salmonella* qui a donné une zone d'inhibition de 8 mm.

Les bactéries les plus résistantes sont des gram (-). En fait, la paroi des bactéries Gram- est riche en LPS (lipopolysaccharides) qui constituent une barrière de perméabilité contre les molécules hydrophobes telles que les polyphénols [37]. Les Gram(+) sont riches en peptidoglycane qui n'empêchent que les molécules ayant un poids moléculaire  $>50000$  Da ce qui rend les bactéries de ce groupe moins protégées contre les agents antimicrobiens.



**Tableau (25) : Diamètre des zones d'inhibition des extraits phénoliques d'*O.basilicum* (mm)**

Souche bactérienne	dich(p < 0.0001)	acet(< 0.0001)	n-but (p<0.05)	T+ (p< 0.0001)
<i>Bacillus cereus</i>	9 (a)	8(bc)	6 (c)	32.33 ±2.22 (a)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 (b)	6 (c)	6 (c)	35 ±2 (a)
<i>Listeria monocytogenes</i>	7 ±0.66 (b)	6 (c)	6 (c)	34.33 ±3.11 (a)
<i>E. coli</i>	6 (b)	6 (bc)	6 (c)	23 ±2 (b)
<i>Vibriocholerae</i>	6 (b)	6 (c)	6 (c)	24 ± 0.66 (b)
<i>Salmonella</i>	6 (b)	6 (c)	6.667± 0.44 (b)	25.33 ±1.11 (b)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.333 ±0.88(b)	7.333 ± 0.44 (a)	7 (a)	23.33 ± 0.44 (b)
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	6 (b)	6 (c)	6 (c)	22 ± 2 (b)
<i>Klebsiellaoxytoca</i>	6 (b)	6 (c)	6 (c)	25.66 ±0.44 (b)
<i>Enterococcusfaecalis</i>	6 (b)	7 ± 0.66 (ab)	6 (c)	24.66 ± 0.88 (b)

\*La même lettre regroupe les moyennes présentant une différence non significative

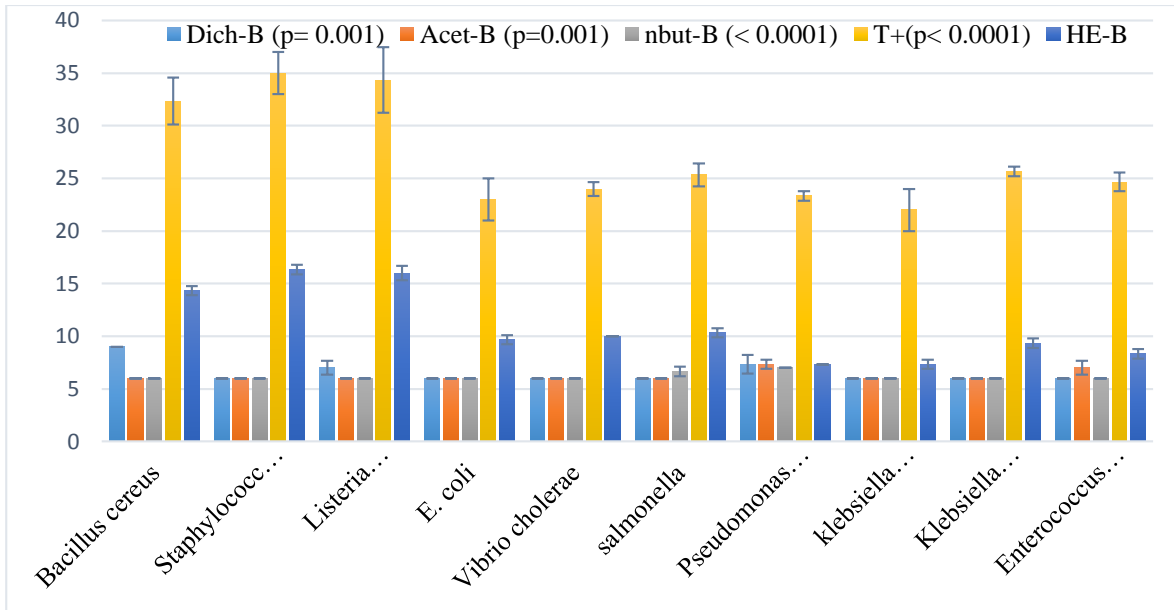
En lisant les résultats du tableau on constate que les extraits d'*O.basilicum L.* n'ont aucun effet sur toutes ces bactéries sauf contre la souche *B. cereus* qui a montré une légère sensibilité envers l'extrait dichlirométhane avec une zone d'inhibition de 9 mm.

Ces résultats sont proche de ceux obtenus par **Métali.M et Kerras.K,2016 [38]** pour un extrait aqueux et **MAIDI.L, 2014 [7]** qui a trouvé que des résultats similaires pour l'extrait butanolique alors que l'extrait acétate d'éthyle présente un pouvoir inhibiteur important contre *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *P.aeruginosa* à une concentration de 3 mg/ml par disque.

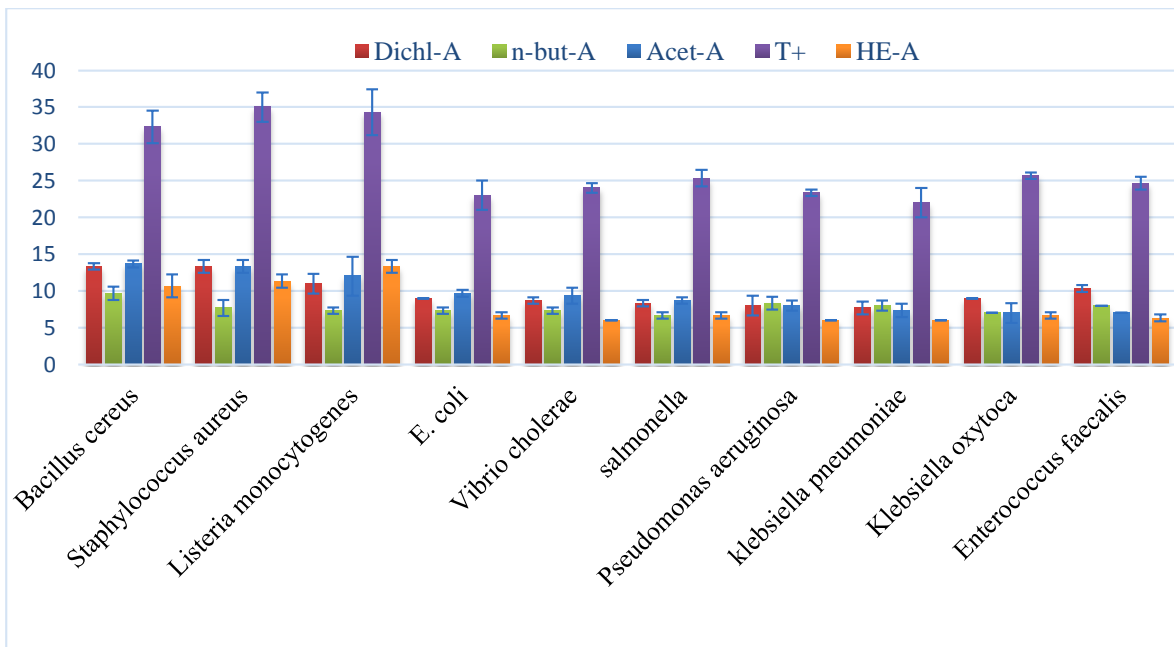
Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne. Ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, coumarines et les triterpenoïdes [39], le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs concentration ainsi que leurs compositions chimiques. Donc on conclure que cette différence est due à la teneur de notre plante en polyphénols, flavonoïdes et tannins qui est très loin des teneurs obtenus chez les plantes issues d'autre région notamment : **Khemis Meliana (Métali.MKerras.K,2016) [38]** et **Laghouat (MAIDI.L, 2014) [7]**.

**Conclusion :**

Tous les résultats obtenus concernant l'évaluation de pouvoir antibactérien *in vitro* sont présentés dans les figures (54), (55) :



**Figure (54) :** les zones d'inhibitions des extraits et huiles essentielle d'*O.basilicum L.*



**Figure (55) :** les zones d'inhibitions des extraits et huiles essentielle d'*A.campestris A.*

D'après les figure (54), (55) on constate que l'huiles essentielle d'*O.basilicum L.* est plus active que ses extraits phénoliques par contre les extrait phénolique d'*A.campestris A.* ont été plus performant que l'huiles essentielle.

# **Conclusion générale**

### Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Au cours de ce mémoire, nous avons étudié l'*Artemisia campestris* L. (التقفوت) de la famille des Asterasia et l'*Ocimum basilicum* L. (الحبق) de la famille des Lamiasea, ces plantes sont très utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour ces vertus thérapeutiques.

Dans le présent travail, différents aspects d'*A. campestris* L. et d'*O. basilicum* L. ont été étudiés : quelques propriétés phytochimique et activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits bruts et HE.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés, alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins et HE était dépendante du solvant.

Le screening phytochimique réalisé, a mis en évidence la présence de divers métabolites secondaires tels que : huiles essentielles, polyphénols, flavonoïdes, tanins, stérols, terpènes, saponosides ... dans ces plantes.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la qualification, par analyse chromatographie CCM, qui a révélé la présence de plusieurs composés non identifiables. L'analyse semi-quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés des extraits phénoliques a été réalisée par dosage colorimétrique. Celle-ci nous a permis de confirmer que cette plante est riche en composés phénoliques. La teneur en polyphénols totaux déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, est comprise entre (84.863±1.622 à 12.681±0.781 mg EAG/g) qui fait référence aux extraits : acétate d'éthyle et n-butanol respectivement pour l'espèce *A.campestris* et de (49.97±3.907 à 8.580±0.61 mg EAG/g) qui fait référence aux extraits : dichlorométhane et n-butanol respectivement pour l'*O.basilicum*.

Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  a révélé, que l'extrait acétate d'éthyle détient la quantité la plus élevée (3,69±0,867 mg EQ/g), suivi par l'extrait dichlorométhane

(1,69±0,022 mg EQ/g) pour l'espèce *A.campestris* et variait de (1,239±0,094 à 1,806±0,192 mg EQ/g) pour l'extrait dichlorométhane et acétate d'éthyle respectivement pour le genre *O.basilicum*.

Pour l'espèce *A.campestris* la teneur la plus élevée en tanins condensés par la vanilline est attribuée à l'extrait dichlorométhane (10,13 mg EAT/g) suivi de l'extrait acétate d'éthyle (1.03 mg EAT/g) et l'extrait dichlorométhane (3.578 mg EAT/g) suivi de l'extrait butanolique (0.708 mg EAT/g) pour le genre *O.basilicum*.

Les résultats de cette quantification prouvent la richesse en composés phénoliques de l'extrait d'acétate pour l'*A.campestris* et la richesse de l'extrait dichlorométhane pour *O.basilicum L.*

De plus, les extraits phénoliques et l'HE des feuilles de deux plantes choisies ont été testés pour leur pouvoir de piégeage des radicaux libres via la méthode DPPH, les résultats obtenus ont montré que la majorité des extraits phénoliques d'*O.basilicum L.* sont les plus actifs que ceux d'*A.campestris* par contre l'HE d'*A.campestris* (1260 µg/ml) est la plus active que celle d'*O. Basilicum L.* (1500 µg/ml), les extraits phénoliques des deux plantes ont été plus performants que l'huile essentielle, la fraction la plus active est celle de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une IC50 de l'ordre de 625 µg/ml et 986 µg/mL respectivement pour l'*O.basilicum* et l'*A.campestris*.

L'activité antimicrobienne in vitro a été déterminée sur dix souches bactériennes pathogènes, selon la méthode de diffusion dans un milieu solide, Les résultats indiquent que :

- Pour l'HE les zones d'inhibition varient de 8,33±0,44 à 13,33±0,88 mm pour l'*A.campestris* et 8,33±0,44 à 16,33±0,44 mm pour l'*O.basilicum*.

Concernant l'*A.campestris* ; la souche la plus sensible est *L. monocytogenes* suivis de *B. Cereus*, *S. aureus* et la plus faible zone est observée chez l'*E. faecalis*. Pour l'*O.basilicum* la souche la plus sensible est *S. aureus* et *K. oxycota* avec une zone d'inhibition assez large allant jusqu'à 16,33±0,44 mm suivis de *L. monocytogenes*, *B. Cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella sp* et même la souche *vibrio cholerae* a présenté une faible sensibilité.

- Pour les polyphénols seule les souches *B. cereus*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* et *E. faecalis*, ont montré une bonne activité avec des zones d'inhibition supérieures à 10 mm chez l'*A.campestris*., en présence des deux extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle respectivement. En revanche l'extrait butanolique a présenté une faible activité vis-à-vis de

ces bactéries ; Concernent l'*O.basilicum* tous les extraits n'ont aucun effet sur toutes ces bactéries sauf que la souche *B. cerus* a montré une légère sensibilité envers l'extrait dichlorométhane avec zone d'inhibition de 9 mm.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antioxydants et 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 ces plantes.

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 de toxicité *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une information plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de ces plantes pour mettre en évidence l'utilité de ces plantes à des intérêts thérapeutiques dans un cadre scientifique.

# **Annexe**

### **A/Réactifs utilisés dans le criblage phytochimique :**

#### 1- Préparation de réactif de DRAGENDORF :

Réactif de détection des alcaloïdes, il se compose de :

- 0.85g de Nitrate de Bismuth ( $\text{BiNO}_3$ ) ;
- 8g d'Iodure de potassium anhydre (KI) ;
- 10mL d'Acide acétique glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ;
- 70mL d'Eau distillée

#### 2- Préparation de réactif de BOOUCHARDAT :

Réactif de détection des alcaloïdes, il se compose de :

- 2g de Diode ( $\text{I}_2$ ) ;
- 2g d'Iodure de potassium anhydre (KI) ;
- 10mL d'Eau distillée

#### 3- Préparation de réactif de MAYER :

- 1.35g de chlorure mercurique ;
- 5g d'Iodure de potassium ;
- 30mL d'Eau distillée ;

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter :

- q.s.p 100mL d'Eau distillée.

#### 4- Préparation de réactif de STIASNY :

- 6mL de Formole ;
- 3 mL d'Acide chlorhydrique (HCl) concentré

#### 5- préparation de l'alcool chlorhydrique :

- 40 mL de butan-1-ol ;
- 10 mL d'acide chlorhydrique concentré.



### 6- préparation de liqueur de Fehling :

#### **Solution A**

- Dans un erlenmeyer de 250 mL :
- Dissoudre 7g de sulfate de cuivre pentahydraté ( $M = 250 \text{ g/mol}$  ;  $n = 28 \text{ mmol}$ ) dans 100 mL d'eau

#### **Solution B**

- Dans un erlenmeyer de 250 mL :
- Dissoudre 34,6 g de tartrate double de sodium et de potassium (Sel de Seignette ou sel de Rochelle) ( $M = 210 \text{ g/mol}$  ;  $n = 165 \text{ mmol}$ )
- 10 g d'hydroxyde de sodium ( $M = 40 \text{ g/mol}$  ;  $n = 250 \text{ mmol}$ ) dans 100 mL d'eau

Préparer la liqueur de Fehling en mélangeant dans un bécher de 100 mL, 20 mL de solution A et 20 mL de solution B.

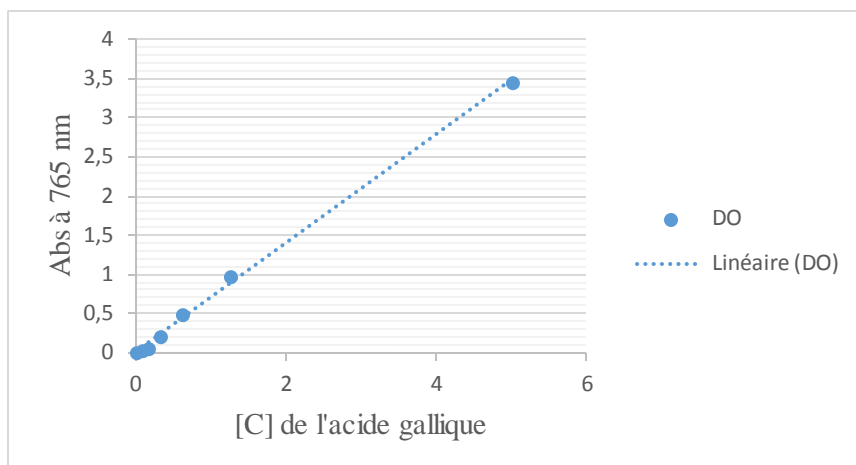
### 7- préparation de la solution de diiode :

- 150 mL d'eau distillée ;
- 2 g d'iodure de potassium KI ;
- 1 g d'iode  $I_2$ .

## B/ Courbes d'étalonnages pour le dosage des polyphénols :

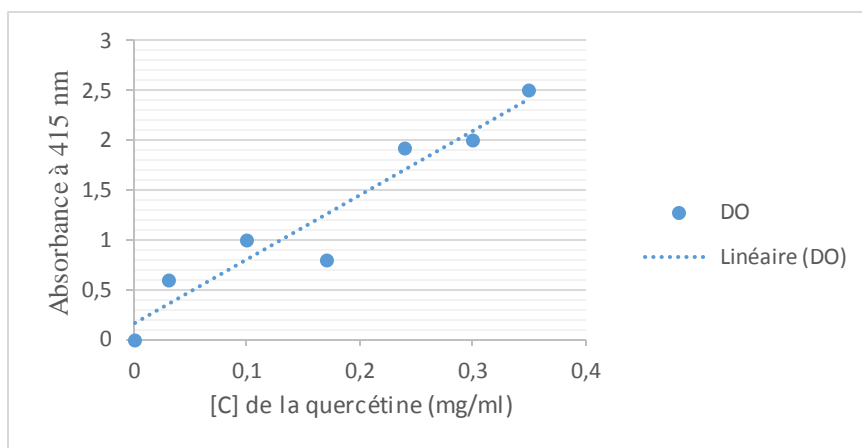
### - Courbe l'étalonnage d'acide gallique :

L'équation de la droite :  $y = 0,6957x + 0,0021$   $R^2 = 0,9982$



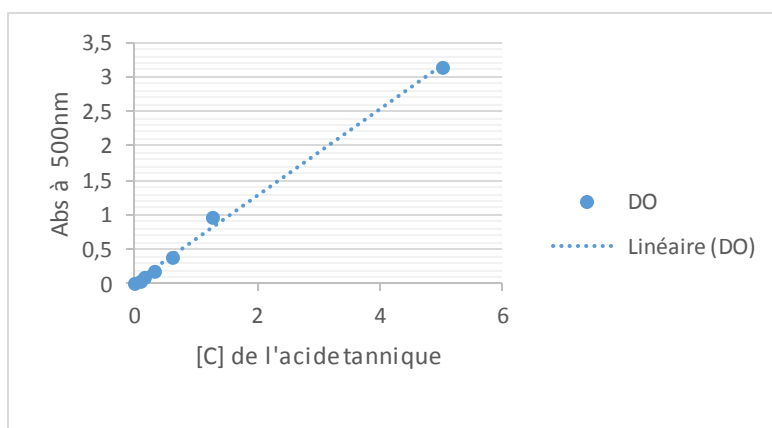
### - Courbe d'étalonnage de la quercitrine :

L'équation de la droite :  $Y = 5,996X + 0,1844$   $R^2 = 0,9309$



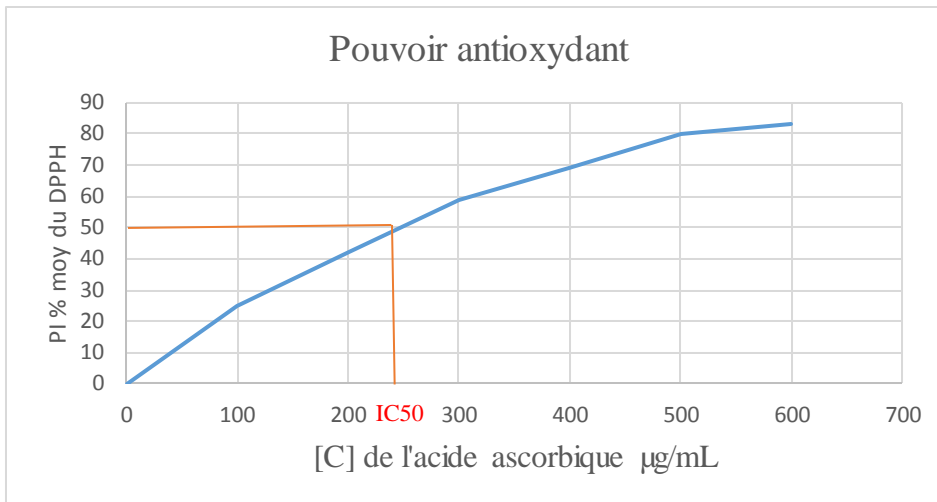
### - Courbe d'étalonnage de l'acide tannique :

L'équation de la droite :  $y = 0,6268x + 0,0287$   $R^2 = 0,9962$

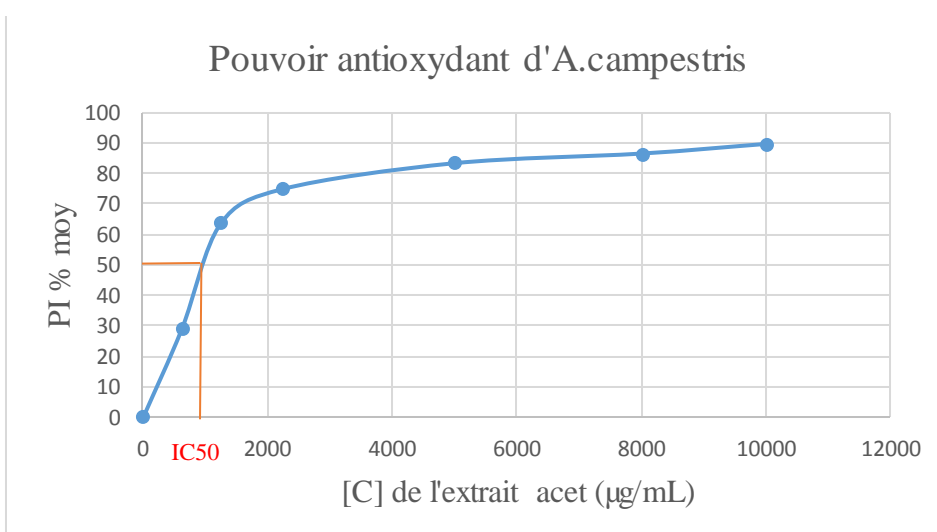
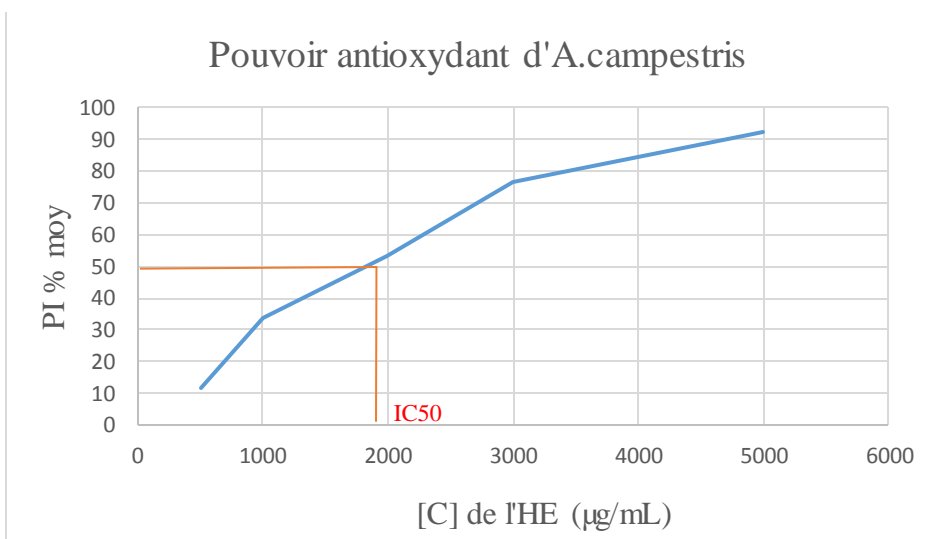


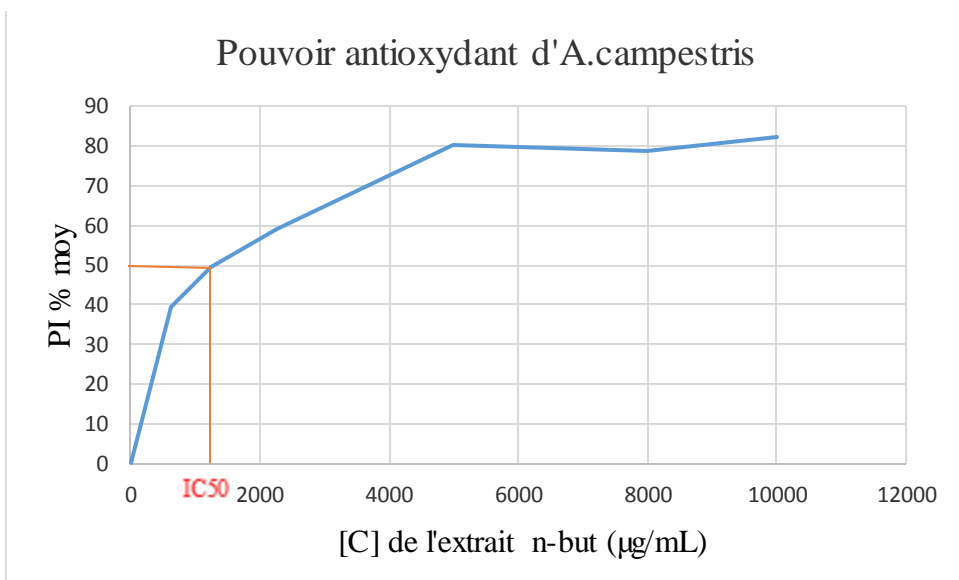
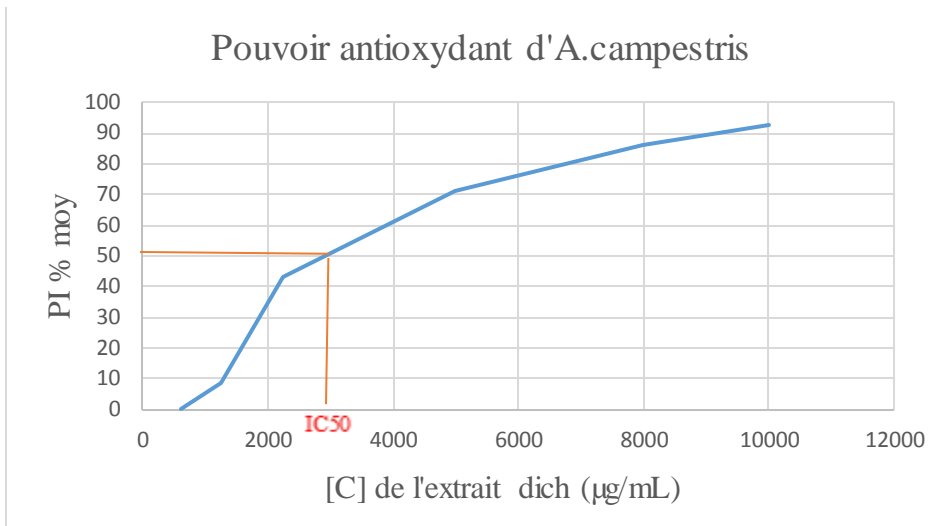
C/ Courbe des pourcentages d'inhibition du radicale DPPH:

1- Courbe du pouvoir antioxydant d'acide ascorbique :

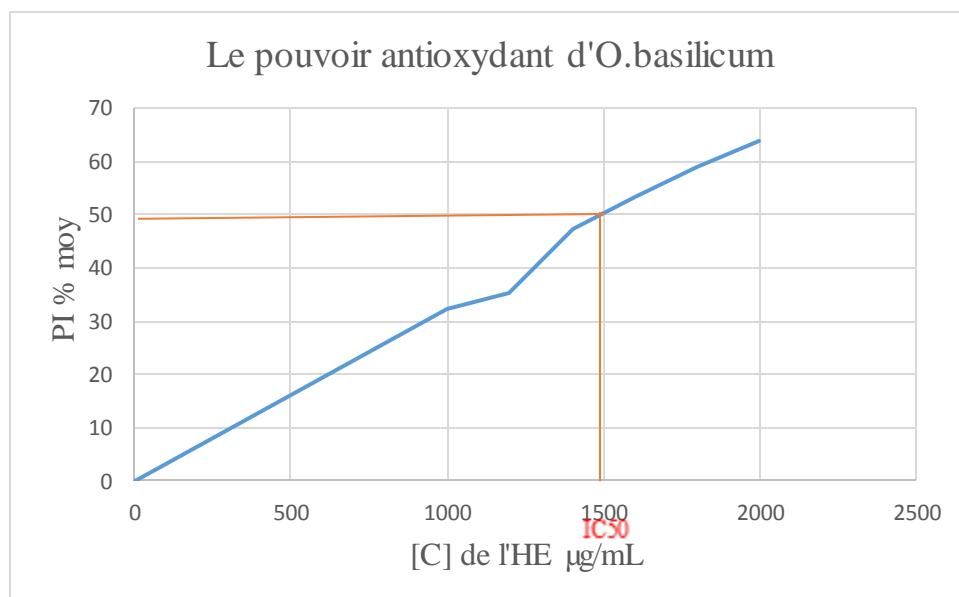


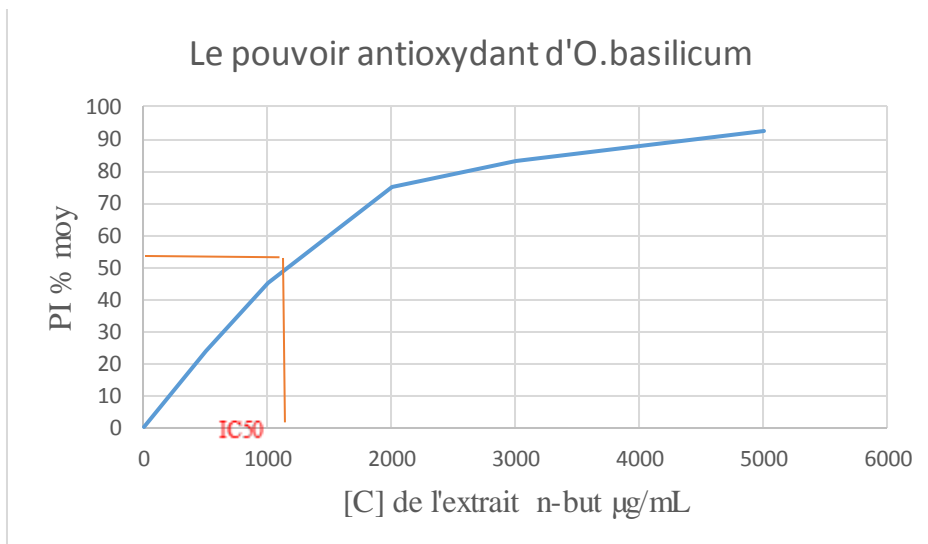
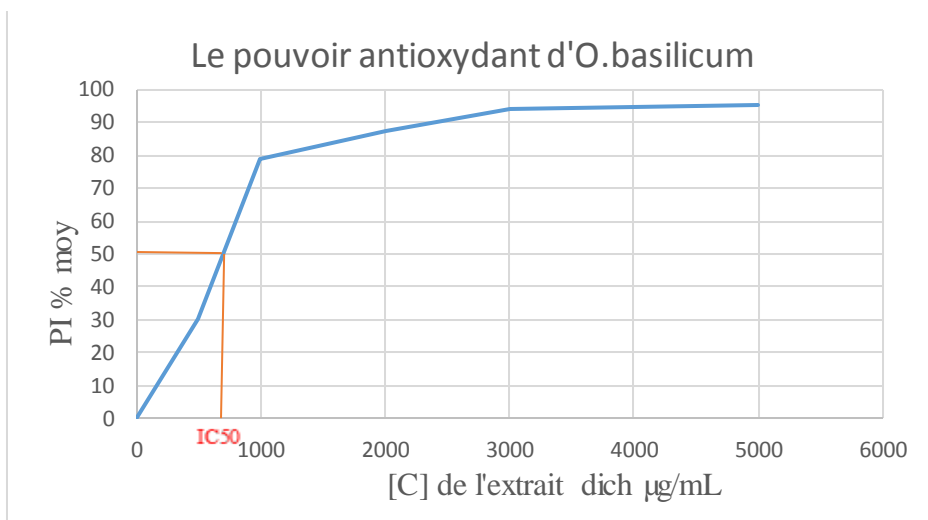
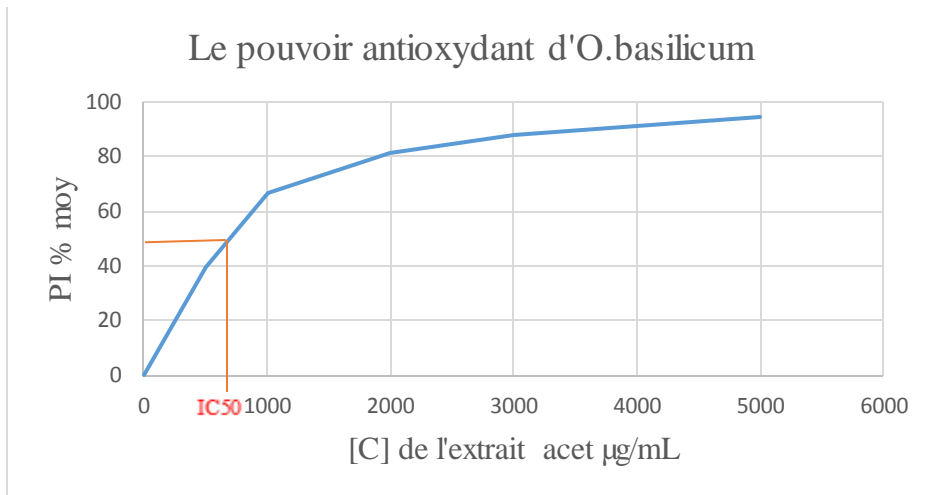
2- Le pouvoir antioxydant des différents extraits d'A.campestris :





3- Le pouvoir antioxydant des différents extraits d'*O.basilicum* :

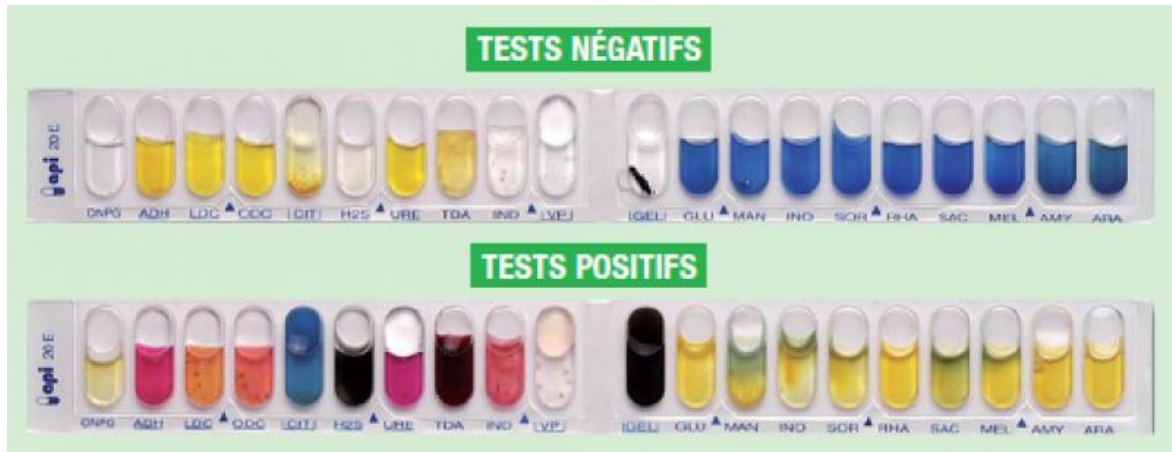




## D/ Microbiologie :

### 1- Identification des bactéries par galerie API :

Une **galerie API** (analytical profile index) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.



Les galeries Api utilisent plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'une enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par-dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48h.

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, les derniers triplets pouvant inclure des caractères bactériens comme la morphologie, le Gram, la mobilité, l'oxydase, la catalase, etc. qui ne sont étudiés dans la galerie mais qui sont indispensables à son interprétation. Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième. Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement huit possibilités pour la somme d'un triplet : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique du micro-organisme étudié. La comparaison de ce code à ceux référencés dans la base de données gérée par Biomérieux permet en général d'identifier ce micro-organisme. Si le code numérique obtenu ne figure pas dans cette base de données, il peut s'agir d'un profil

ou d'un micro-organisme non référencé, un problème technique (inoculum non respecté, paraffine oubliée, réactifs périmés, etc.) ou une mutation lors du développement bactérien

# Liste des références



**Chapitre 1 :**

- [1] : **Nabli M. A. (1989).** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis). p186-188
- [2] : **Abu-Irmaileh B.E. et Afifi F.U. (2003).** Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. Journal of Ethnopharmacology, 89(2-3): p193-197.
- [3] : **MAILHEBIAU P., (1994).** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. P : 635.
- [4] : **LES PLANTES MEDICINALES, Gingembre Zingiber Officinale Roscoe fleur ; Institut Européen des substances végétales. 2015-2016**
- [5] : **CARRON C.A, REY C.H et BRUTIN (2004) :** Essai de variétés de basilic en montagne. Revue suisse vitic. Arboric. Hortic. Vol 38 (1) : 51-55.
- [6] **Grayer, R. J.; Bryan, S. E.; Veitch, N. C.; Goldstone, F. J.; Paton, A.; Wollenweber, E.** External flavones in sweet basil *Ocimum basilicum*, and related taxa. *Phytochemistry* 1996, 43, 1041-1047.
- [7] : **EL KALAMOUNI C., (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliés de Midi- Pyrénées ; thèse de doctorat ; université de Toulouse
- [8] : **Baba-Aissa F., 2011.** Encyclopédie des plantes utiles, flore Méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale) substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition El- Maarifa, 68p
- [9] : **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 4ème Edition. Lavoisier, Paris
- [10] : **Dupont F et Guignard J.L., 2012.** Botanique des familles de plantes. 15ème Edition. Elsevier Masson SAS, 237-300p.
- [11] : **Ali-Delille L., 2010.** Les plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Berti. Alger, 239 p.;
- [12] : **Buronzo M.A., 2008.** Grand guide des huiles essentielles : Santé. Beauté. Bien-être. Hachette pratique, 254p
- [13] : **Djerroumi A et Nacef M., 2012.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Edition Houma, 44p
- [14] : **Ngom S., Faye F.D., Diop M., Kornprobst J.M et Samb A., 2012.** Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* et de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège., 81, 166 – 175.
- [15] : **Umerie S.C., Anaso H.U et Anyasoro L.J.C., 1997.** Insecticidal Potentials of *Ocimum basilicum* Leaf-extract. *Bioresource Technology*, 64, 237-239.
- [16] : **Pascual-Villalobos M.J et Ballesta-Acosta M.C., 2003.** Chemical variation in an *Ocimum basilicum* N germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 673–679

- [17] : **Govindarajan M., Sivakumar R., Rajeswary M et Yogalakshmi K., 2013.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*, 134, 7-11
- [18] : **Ekren S., Sönmez C., Özçakal E., Kurttas Y.S.K., Bayram E et Gürgülü H., 2012.** The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agricultural Water Management*, 109, 155-161
- [19] : **Benedec D., Oniga I., Oprean R.U et Tamas M., 2009.** Chemical composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* L. cultivated in romania. *Farmacia*, 57, 625-629.
- [20] : **DETRAZ P., (2001). Catalogue des basilics. Jardin des saveurs. Et YUGER-COMATY J., (2001).** Growing, Selecting and Using Basil. HYG-1644-94, Ohio state University Extension Fact Sheet.
- [21] : **MACKEE H. S., (1994).** Catalogue des plantes introduites et cultivées en Nouvelle-Calédonie. Deuxième édition. Flore de Nouvelle-Calédonie et Dépendances. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. Hors-série: 164 pp.
- [22] : **موسوعة النباتات العام للدكتور عبد العزيز الصباغ ديوان المطبوعات الجامعية الجزائر , P 681**
- [23] : **Botineau.M,(2010),**Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs,Ed:Tec et Doc,Lavoisier,Paris,p 1021-1043
- [24] : **P. Discorides, theMateriaMedica, Oxford, 1934**
- [25] : Nature Midi-Pyrénées - fiche réalisée par Régis Mathon et validée par le groupe Botanique de NMP
- [26] : **AïtYoucef, M.** «Plantes médicinales de Kabylie», Ed. Ibis Press, Paris **2006**, p350
- [27] : **Delille, L.** «Les plantes médicinalesd'Algérie», Ed.Berti, Alger **2007**, pp. 47–48.
- [28] : **RIAZ M., QAMAR S., CHOUDHARY F.M. ET PACK. J., (1999).** Sci. Ind – Res; Vol 6; P: 332
- [29] : **ARABICI O. ET BAYRAM E., (2004).** The effect of nitrogen and different plant density on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L. (Basil); *Asian Network for Scientific Information*; 3(4): 255-262.
- [30] : **POUSSET L.J., (2004).** « Plantes médicinales d’Afrique : comment les reconnaître et les utiliser ? » ; Ed. La calade, UE ; P : 287 (187-188)

- [31] : **KOUDJEGA K. (2004)**. Développement de stratégies de gestion intégrée de la fertilité des sols pour le basilic (*Ocimum basilicum* L.) Sur les exploitations de Darégal Equatorial ; Mémoire d'Ingénieur Agronome, IFDC Afrique / ESA -UL, P : 96
- [32] : **HUBERT R., (2007)**. Les plantes aromatique et huiles essentielles à Grasse, Quatrième partie : les Lamiacée, Les basilics''*Ocimum ssp*'', ''Botanique- culture- chimie-production et marché'' ; Ed. L'Harmattan, France (paris) ; P : 414
- [33] : **Hadj kelifa.L ;B rada.M ;Brahimi.F ;Achour.D ;Fauconnier.M.L et Lognay.G,(2012)**,Chemical composition and antioxydant activity of essentiel oil of
- [34] : **Khedimallah.N et Filali I.N, 2018** thèse de master « phytochimique et activités biologiques des deux espèces d'*Ocimum basilicum* .L et *Lavandula angustifolia* Miller. » Université des Frères Mentouri Constantine **et Hubert.R ,(2007)**,Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse,4ème partie : Les lamiacées ,Les basilics « *Ocimum basilicum* »,Botanique-Culture-Chimie- Productionet marché,Ed :L'Harmattan,France(Paris),p414 : (254-256)p
- [35] : **Simon, J.E.; Morales, M.R.; Phipp en, W.B.; Vieira, R.F.; Hao, Z.**«Basil: A source of aroma compounds and apopular culinary and ornamental herb»,InJanick, J. (Ed.),Perspectives on New Crops and New Uses,ASHS Press: Alexandria, VA, USA **1999**, pp. 499–505.
- [36] : **Pushpangadan, P.and George, V. « Basil », In Peter, K.V. (Ed.)**, Handbook of herbs and spices, WoodheadPublishingLimited,Cambridge, **UK2012**, pp. 55–72.
- [37] : **BRUNETON J., (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales ; Tec. Et Doc. Lavoisier. 3eme édition ; P: 484-488.
- [38] : atlas des risques de la traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristé
- [39] : **Magness.J.R ;Markle.G.M,(1971)**,C.C.Compton,Food and feed corps of the United state,Bul 828,New jersey Expt.Stat .
- [45] : **Mucciarelli M and Maffei M. (2002)**. Artemisia: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- [46] : **Kundan S., and Anupam S. (2010)**. The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol.pp:1-9.
- [47] : **Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E.,and Sonboli. A. (2007)**. Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia*from Iran. J. Essent. OilRes.19 : 326–329
- [48] : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Artemisia\\_campestris](https://fr.wikipedia.org/wiki/Artemisia_campestris)

- [49] : **Quezel, et Santa.**«Nouvelle flore de l'Algérie, et des régions désertique méridionales». Tome II, Edition du centre national de la recherche scientifique. Paris. 1963.
- [50] : **JUDD., CAMPBELL., KELLOGG., STEVENS.**«Botanique systématique et une perspective phylogénétique». Edition De Boeck-université. Janvier 2002.
- [51] : Nature Midi-Pyrénées - fiche réalisée par Régis Mathon et validée par le groupe Botanique de NMP
- [52] : **Caratini R. (1971).** Bordasencyclopedie.Ed Bodas.Belgique.23: 137-195
- [53] : les plantes médicinales du Sahara
- [54] : **Mamy.**«Plants medicinal», Tout sur l'armoise. 16-04-2008
- [55] : **Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.J. Pharmaco. Bio. 45 (5): 421–428 et **Ould el haj Janvier 2003.** M. «Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla». Courrier du savoir –N°03, PP. 47-51.,
- [56] : **GHLISSI, Zohra, SAYARI, Nadhim, KALLEL, Rim, et al.** Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016, vol. 84, p. 115-122.)
- [57] : **MASOTTI, Véronique, DE JONG, Laetitia, MOREAU, Xavier, et al.** Larvicidal activity of extracts from *Artemisia* species against *Culex pipiens* L. mosquito: Comparing endemic versus ubiquist species for effectiveness. Comptes rendus biologies, 2012, vol. 335, no 1, p. 19-25.)
- [58] : **Jerkovic J., Mastelic M. Milos., Juteau F., Masotti V and VianoJ. (2003).** Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia Flavour. *Fragr. J.* (18): 436–440
- [59] : **Akrout A., Neffati M., Chemli R., Aouni M., Jerraya R., Dammak M., Dar A. (2007).**Composition chimique et activité biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L.Revue des régions arides. pp 231-240.
- [60] : **Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M. and Parkanyi C. (1995).** GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria.Dev. Food Sci. 37A: 147-205
- [61] : **Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361
- [62] : Soins de nature , pharmacie française spécialisée dans les produits de soins naturels , inscrite à l'ordre des pharmaciens sous le numéro 00123792/A
- [63] : Agence nationale du médicament et des produits de santé (ANSM)-pharmacopée française 1987.

- [64] : Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C. (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514
- [65] : Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* 48: 1986–1993.)
- [66] : Allen P-C., Lydon J., Danforth H. (1997). Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. *Poult. Sci.*, 76: 1156-1163.
- [67] : Messai. A , Faculte des Sciences et Technologies et des Sciences de le Matiere, Sminaire International sur les Plantes Medicinales\_SIPM2/.pdf
- [68] : *Food and Chemical Toxicology* 49 (2011) 342–347
- [69] : Le Floch E. Contribution à une Étude Ethnobotanique de la Flore Tunisienne, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Éditions: Tunis, Tunisia, 1983; 939–40.
- [70] : Neffati M. Comportement Allélochimique d'*Artemisia Campestris* L. dans les Parcours de la Djefara Tunisienne, mémoire de fin d'étude. INAT Éditions: Tunis, Tunisia, 1984; 6–9, 12, 70–71, 100–101, 107–109

### Chapitre 2 :

- [1] : Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne
- [2] : Maarouf A .2000. Dictionnaire botanique Pp 129 + Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne
- [3] : Brzozowska, J., Hanower, P., Tanguy, J. (1973). Polyphenols des feuilles de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel. *Phytochemistry*, 12: 2353-2357
- [4] : Harbone, J. B. (1975), «The Flavonoids», Mabry, TM. Mabry H. Eds: Chapman et Hall, London.
- [5] : Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regerat F. « Intérêt nutritionnel des flavonoïdes » .*Méd. Nut.* 32 (1): 17-27. 1991.

- [6] : **Boizot N. & Charpentier .J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA. pp: 79-82.
- [7] : **Middleton E., Kandaswami C. & Theoharides T.C., 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.*52: 673-839
- [8] : **Herbert, R.B. 1989.** The Biosynthesis of secondary metabolites. 2éme edition Chapman and Halle p 2, 11-115.;+ Macheix, J.J., Flieriet, A et Christian, A .2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne)
- [9] : **Harborne, J.B. 1980.** Secondary Plant Products. *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, 1980,pp.329-402. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique.
- [10] : **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- [11] : **Bahorm.T,(1997),**Substances naturelles et actives : La flore mauricienne une source d'apparvisionnement potentielle.Université de maurice,AMAS,Food and agricultural research council,Réduit,Mauritius,P 83. □
- [12] : **Fulbert J. C, Cals M. J.,**« les Radicaux libre en biologie clinique». *Panthol. Biol*, 49 (1), 66-77. 1992.
- [13] : **Pascal. R. G.,**«Phénol et composés phénoliques chez les végétaux», 23-24, 72, 220-222. 1968.)
- [14] : **Medic–Saric M., Jasprica I., SmolcicBubaloA., and Momar A. (2003).** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids.*CroaticaChemicaActa* .77 (1-2):361-366. (cited in Mohammedi Z, (2005).
- [15] : **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- [16] : **Middleton and Elliott J. (1996).** Biological properties of plant flavonoids an overview. *Int.J. Pharmacol.* 34 (5): 344-348.
- [17] : **Mookerjee B.K., Lee T.P., Logue G.P., Lippes H.A., and Middleton E. (1986).** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo. Res.* 213: 511-20. ...Namgoong S.Y., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., and Kim H.P. (1994). Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 54 (5): 313-20)..
- [18] : **Chaudhry P.S., Cabrera J., Juliani H.R., and Varma S.D. (1983).** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin.*Biochem. Pharmacol.* 32: 1995.

- [19] : **Ong K.C., and Khoo H.E. (2000)**. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life. Sci.* 67: 1695-1705.
- [20] : **Paris M et Hurabielle. (1981)**. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- [21] : **Khanbabae K and Ree T.R. (2001)**. Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008)..
- [22] : **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001)**. Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008..
- [23] : **Volák, J., et Stdola, J.,**« Plantes médicinales». GRÜND, Paris. **1983**.
- [24] : **Benziane M, M,**«Screening phytochimique de la plante Ruta montana. Extraction de l'HE et de la rutine. Activité antioxydante de plante». Mémoire de Magister en Chimie Organique. Université d'Oran Es-Sénia. **2007**
- [25] : <https://tice.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/Famille2/Produit2/COUMARINES2.htm>
- [26] : <https://www.aquaportail.com/definition-10605-coumarine.html>
- [27] : **Muanda F.N, 2010**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, université Paul Verlaine, Metz. France.
- [28] : **Naczk M. & Shahidi F., 2004**. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A.*1054: 95-111.
- [29] : **Grigonis D., Venskutonis P.R., Sivik B., Sandahl M. & Eskilsson C.S., 2005**. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *J. Supercrit. Fluids.*33(3): 223-233.
- [30] : **Wang L. & Waller C. L., 2006**. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Tech.*17: 300 – 312.
- [31] : **Penchev P.I., 2010**. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- [32] : **Bezza L, Mannarino A, Fattarsi K, Mikail C, Abou L, Hadji-Minaglou F, and Kaloustian J. (2010)**. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie.* 8(5). p277-281.
- [33] : **Sylvie Verbois,** Associer Plantes et Huiles Essentielles Selon la Tradition Indienne, Ed. Trajectoire, **2004**.
- [34] : **Khadija. R** «Etude du mécanisme de l'action bactéricide de HE sur *Mycobacterium Phlei* et *Mycobacterium fortuitum*», Thèse de Doctorat d'état. En biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Fès, **2002**.  
•Guide pratique des huiles essentielles, Danielle Huard, Éd. Cristal, 2005 (ISBN 9782848950068))
- [35] : **HUILES ESSENTIELLES LE GUIDE VISUEL**

- [36] : Georges Sens-Olive, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine, 1979,.
- [37] : **Belaiche, (1979)**. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. ET Mah,ine, Park.
- [38] : **Buchbauer G., Jirovetz L. (1994)** Aromatherapy- Use of fragrances and essential oils as medicament, *Flavonur, and Fragrance J.*, 9: 217-222
- [39] : HEVEA L INFINI VEGETAL
- [40] : Les huiles essentielles, désintoxiquer et fortifier l'organisme, Sophie Barthe, Éd. Exclusif, 2007 (ISBN 9782848910437) • Guide pratique des huiles essentielles, Danielle Huard, Éd. Cristal, 2005 (ISBN 9782848950068)
- [41] : **Walker, J.E.M., Saraste, M.J., Runswick and N.J.Gay. (1982)**. Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J*, 1 (8) : 945-51
- [42] : **Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Garyk., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003)**. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6):7. (cited in Mohammedi Z, 2005).
- [43] : **Favier A. (2003)**. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. pp: 108-115.
- [44] : **Rahman, I. (2002)**. Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic target. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 1(3) : 291-315.
- [45] : **Aurousseau, B. (2002)**. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 15 (1): 67-82.
- [46] : **Aruoma, O. I. (1998)**. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75: 199–212.
- [47] : **Smith, M. A., Perry, G., Richey, P. L., Sayre, L. M., Anderson, V. E., Beal, M. F., et al. (1996)**. Oxidative damage in Alzheimer's [letter]. *Nature*, 382: 120.
- [48] : **Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G., & Monks, T. J. (2000)**. Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol*, 13: 135.), de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites (Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.
- [49] : **Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., Yusuf, S. (1995)**. The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann. Intern Med*, 123: 860.



- [50] : **Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, E.C.S., Fonseca Maria, J.V. (2003)**. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci*, 5 (2) : 1-5.
- [51] : **Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008)**. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.
- [52] : **Halliwell B. (1994)**. Free radicals and antioxidants. *Nutr.Rev.*52:253-265.(cited in Yakhlaf G, 2009).
- [53] : **Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur (2006)**. "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions*160(1): 1-40
- [54] : **Rice-Evans, C. A., N. J. Miller et G. Paganga (1996)**. "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids." *Free Radical Biology and Medicine*20(7): 933-956.
- [55] : **Richard C et Kiredjian M., (1995)**. Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella*. 2ème édition. Ed Institut. Pasteur .Paris. pp: 42-43.
- [56] : **Binov L., (2001)**. Oxydants/antioxydants : un équilibre important. 68: 53-62.
- [57] : **Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M., (2001)**. Stress oxydant et pathologies humaines. *Presse med.* 30(21): 1076-1081.
- [58] : **Delattre J., Durand G. & Jardillier J.C., (2003)**. Biochimie pathologique aspects moléculaires et cellulaires. 2ème édition. Ed. Médecine-science Flammarion, Paris.
- [59] : **Gee J.M. & Johnson I.T., (2001)**. Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Curr. Med. Chem.*8: 1-182.
- [60] : **Rock E., (2003)**. Stress oxydant, micronutriments et santé. INRA – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments, Université d'été de nutrition Clermont-Ferrand, France. pp: 37-42.
- [61] : **Yu R., Mandlekar S. & Tony Kong A.N., (2000)**. Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Mol. Pharmacol.*58: 431- 437.
- [62] : **Barlow S.M., (1990)**. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: Hudson B.J.F. *Food antioxidants*. Ed. Elsevier, London. pp: 253-307.
- [63] : **Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier et C. Berset (1995)**. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT -Food Science and Technology*28(1): 25-30.
- [64] **Awika, J. M., L. W. Rooney, X. Wu, R. L. Prior et L. Cisneros-Zevallos (2003)**. "Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*51(23): 6657-6662.

- [65] : **Benzie, I. F. F. et J. J. Strain (1996).** "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay." *Analytical Biochemistry*239(1): 70-76.
- [66] : **Ou, B., M. Hampsch-Woodill et R. L. Prior (2001).** "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*49(10): 4619-4626
- [67] : **GUINOISEAU E., (2010).** Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Univ. Corse; Option: Biochimie- Biologie moléculaire ; France ; P50
- [68] : **IPAILIENE A., VENSKUTONIS P.R., BARANAUSKIENE R. ET SARKINAS A., (2006).** Antimicrobial Activity of Commercial Samples of Thyme and Marjoram Oils. *Journal of Essential Oil Research*; P: 698-703
- [69] : **WENDA KOON C.N., SAKAGUCHI M., (1995).** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices; *J. of Food Protection*; 58: 280-283.
- [70] : **EL KALAMOUNI C., (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliées de Midi- Pyrénées ; thèse de doctorat ; université de Toulouse)
- [71] : **Nauciel. C., and Vildé J.L. (2005).** *Bactériologie médicale*, 2èmeEd. Masson . Paris. pp: 5-10.
- [72] : **Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989)** *Bactériologie: bactéries des infections humaines.* Médecine-Sciences Flammarion.
- [73] : **Khiati M (1998)** *Guide des maladies infectieuses et parasitaires.* OPU, Alger.
- [74] : **Garnier Delamare (1992)** *Dictionnaire des termes de médecine.* Editions Maloine, Paris
- [75] : **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995)** *Microbiologie générale, la bactérie et le monde*].
- [76] : **Cohen Y et Jacquot C. (2001).** *Pharmacologie.* 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.)

### Chapitre 3 :

- [1] : **Badiaga M (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, P 74. Available on : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00719564/document>
- [2] : **Bentabet Lasgaa N (2015).** Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredolia aretioides* et *echium vulgare* de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, P 20-21. Available on : [www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf](http://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf)

- [3] : **Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B., Trabi F.H et Ehouan E. Éhilé.** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences et Nature*, 4, 217-225.
- [4] : **Azzi R (2012).** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'ouest algérien : enquête ethnopharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat, P 75. Available on : [dSPACE.univ-tlemcen.dz/.../Contribution-a-l-etude-de-%20plantes-%20medicinales.pdf](http://dSPACE.univ-tlemcen.dz/.../Contribution-a-l-etude-de-%20plantes-%20medicinales.pdf)
- [5] : **6J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud, (1968),** Les composés phénoliques des végétaux, *Traité d'œnologie*, Paris : Édition Dunod 254 p.
- [6] : **Moyse M. (1965).** Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. 412 p. Guide technique pour l'élaboration des monographies, *Pharmacopée européenne* Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé 6e Edition 2011, 2.4.12. perte à la dessiccation p43 et Paris R. et
- [7] : **Khorsi Kadda (2015).** , Contribution à la valorisation de deux plantes médicinales de la région de Saida : *Marrubium vulgare* L (Marrioua ) et *Laurus nobilis* L (rand). Mémoire master en chimie .
- [8] : **DIALLO D., SANOGO R., YASAMBOU H., TRAORE A., COULIBALY K., MAIZA A. (2004).**-Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali, *C.R.Chimie*, 7; pp:1073-1080.
- [9] : **Liyana-Pathirana, C. M; Shahidi, F. (2006).** Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 54: 1256-1264, 2006
- [10] : **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7292-7295.
- [11] : **Lucchesi M.S. (2005)** : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Université de la Réunion. Thèse de Doctorat en science.:
- [12] : *Pharmacopée Française*, Xème Edition, Janvier. **1983.**
- [13] : **H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba and C. Abdelly (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* Vol. 331. pp. 372-379.
- [14] : • Auteurs: Chavanne, Beaudoin, Jullien, Flamand . Editeur: Belin "Chimie organique expérimentale"

## Références bibliographiques

- Auteur: Rouessac . Editeur: Masson "Analyse chimique (méthodes et techniques instrumentales modernes)"
  - Auteur: Defranceschi. Editeur : Ellipses"144 manipulations de chimie générale et minérale"
  - professeur au lycée Louis Vincent. cours de chromatographie en phase gazeuse de Jean UMBER,
- [15] : Singleton V.L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent.Method.Enzymol. 299: 152-178.
- [16] : Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. Pp 79-82.cited in DjemaiZoueglache S, 2008.
- [17] : Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., and Knez, Ž. (2005)."Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities." Food Chemistry, 89(2), 191-198.;
- [18] : Dewanto,V.,Wu,X.,Adom, K.K., Liu , R .H.(2002) Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxiant activity.Journal of agriculture ans Food chemistry,50,3010-3014 .
- [19] : L.Lagnika2005, "Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, , page :249
- [20] : Ayoola.G. A., Ipav.S. S., Solidiya.M. O., Adepoju-Bello.A. A., Coker.H. A. B. etOdugbemi T. O.(2008). Phytochemical screening and free radical scavenging activities ofthe fruits and leaves ofAllanblackia floribundaoliv (Guttiferae).International journal ofhealthresearch.,1(2) : 81-93.
- [21] : H.P.S.Makkar (2000)., "*In Quantification of tannins in tree foliage*" Working document, FAO/IAEA, Vienna,
- [22] : P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell (2001)., "*Analysis of condensed tannins*" a review. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. (91), page : 21.
- [23] : B.Sun, , JM.Richardo-da-Silvia, , I.Spranger (1998), "*Critical factors of vanillin assay forcatechins and proanthocyanidins*" J. of Agriculture and Food Chemistry, , Vol. (46),page : 4267.
- [24] : R.Julkunen-Titto (1985), "*Phenolic constituents in the leaves of northem wiliows methods forthe analysis of certain phenolics*" Journal of Agricultural and Food chemistry, , Vol.
- [25] : Gulcin I, Huyut Z et Elmastas M. (2010). « Radical scavenging and antioxydant activity of tannic acids ». Arabian journal oh chemistry. Vol. 3, pp43-53.
- [26] : Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., and García-Villanova, B. (2011). "Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in

pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia." Food research international, 44(7), 2047-2053.

[27] : **MOLYNEUX P., (2004).** The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol, 26 (2), 211-219.

[28] : **Published in: Topclass Journal of Herbal Medicine (2012)**, vol. 1, iss. 2, pp. 53-58. Status: Postprint (Author's version)

[29] : **POKORNY J., YANISHLEIVA N. ET GORDON M., (2001).** Activity antioxydant in food, Pratical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463x

### Chapitre 4:

[1] : **Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B., Trabi F.H et Ehouan E.** Éhilé. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences et Nature, 4, 217-225.

[2] : **Huard, Éd. Cristal, 2005** Les huiles essentielles, désintoxiquer et fortifier l'organisme, Sophie Barthe, Éd. Exclusif, 2007 (ISBN 9782848910437) • Guide pratique des huiles essentielles, Danielle (ISBN 9782848950068)

[3] : **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 4ème Edition. Lavoisier, Paris.

[4] : **N.BENHAMOU (2009).** la résistance chez les plantes Edit, P : 45

[5] : guide de pharmacopée européenne 6eme Edition, 2.4.12. perte à la dessiccation p43

[6] : **Ekren S., Sönmez C., Özcakal E., Kurttas Y.S.K., Bayram E et Gürgülü H., 2012.** The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Agricultural Water Management, 109, 155-161.

[7] : **MAIDI Leila (2014),** Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des extraits de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie, Université Ziane Achour – Djelfa

[8] : **khelifa et al (2012)** Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* Leaves from the Northern Region of Algeria

[9] : **Özcan M et Chalchat J.C., (2002).** Essential Oil Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. Czech J. Food Sci, 20, 223–228

[10] : **Ismail M., (2006).** Central Properties and Chemical Composition of *Ocimum basilicum* Essential Oil. Pharmaceutical Biology, 44, 619-626.

[11] : **Saliou NGOM1\* , Moussoukhoye DIOP2 , Mbaye MBENGUE 1 , Fatou FAYE2 , Jean Michel KORNPROBST 3 et Abdoulaye SAMB., (2014).** Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et

d'Hypytissuaveolens (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. Afrique SCIENCE 10(4) (2014) 109 - 117 109 ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>

[12] : Akrouf, A. Chemli, R. Chreif, I. Hammami, M. (2001)«Analysis of the essential oil of Artemisia CampestrisL.». Flavour and Fragrance Journal, 16: 337-339..

[13] : Chier. A, Juteau. F, Bessiere. J-M, Masotti. V, Viano, J18-19 avril 2002..«Impact du séchage sur la composition de l'huile essentielle d'Artemisia CampestrisVar. glutinosa». Societe Francaise de Chimie, Section PACA. XVe Journée de la Chimie -

[14] : Chalchat, JC, Cabassu, P., Petrovic, SD, Maksimovic, ZA, Gorunovic, MS (2006)«Composition de l'huile essentielle de Artemisia campestrisL, de la Serbie»., Journal of Essential Oil Research, Chimie des Huiles Essentielles, Université Blaise Pascal de Clermont, Campus des Cézeaux, 63177 Aubière Cedex, France..

[15] : Dob, T., Dahman, D., Berramdane, T. Chelghoum, C (2005).« Chemical composition of the essential oil of Artemisia CampestrisL. from Algeria». Faculté de Chimie USTHB, Algérie. Revue, Journal Title, Pharmaceutical biology ISSN. 1388-0209..

[16] : TOUILSouhila et BENREBIHA Fatima 1 Zohra COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES D'ARTEMISIA HERBAALBAASSO ET ARTEMISIA CAMPESTRIS L DE LA REGION ARIDE DE DJELFA ( 1 )La boratoire de biotechnologie de s production végétales, universitéBlida 1 <http://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2014/01/40-45-benrebiha-6p.pdf>

[17] : JAYASINGHE C., GOTOH N., AOKI T. ET AL (2003)., Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). J. Agric Food Chem; 51:4442-4449.

[18] : Andersen Ø.M., K.R. Markham., 2006. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications, Taylor & Francis Group, 1197p

[19] : Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P et Vidal N., (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97, 654–660.

[20] : Hubert.R ,(2007),Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse,4ème partie : Les lamiacées ,Les basilics « *Ocimum basilicum* »,Botanique-Culture-Chimie-Productionetmarché,Ed :L'Harmattan,France(Paris),p414 : p (254-256).

[21] : Aganga A.A et Mosase K.W., (2001). Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of Lonchocarouscapussa, Ziziphismucropata, Sclerocaryabirrea, Kirkiaacuminataand Rhuslanceaseeds. Animal Feed Science and Technology, 91, 107-113.

[22] : MOLYNEUX P., (2004). The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakar J. Sci. Technol. , 26 (2), 211-219.

- [23] : **HUSSAIN A.I., (2009).** Caractérisation and biological activities of essential oil of some species of Lamiaceae. Thèse de doctorat. Pakistan. 257p
- [24] : **akrout (2011).** Antioxydant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia
- [25] : **Khelifi D, Sghaier R.M, Amouri S, Laouini D, Hamdi M and Bouajila J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology*. 55(0), p202-208.
- [26] : **Akrout A, El Jani H, Amouri S, Neffati M. (2010).** Screening of Antiradical and Antibacterial Activities of Essential Oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Growing Wild in the Southern of Tunisia. *Recent Research in Science and Technology*. 2(1): 29-39.
- [27] : **Hussain, A.I.; Anwar, F.; Sherazi, S.T.H.; Przybylski, R.** *Food Chem.* 2008, 108, 986–995. La principale flavanone est la naringénine, alors que la dihydroflavonols la plus rencontré est la catéchine (Bruneton, 1999).
- [28] : **OUIBRAHIM A., (2015).** « Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien » ; Thèse de doctorat ; Univ. Badji Mokhtar – Annaba.
- [29] : **CONSTANTIN D., ROGER H.C., NEBIE, ANDRE B., MOUHOUSINE N. ET FAUSTIN S. SIB., (2011).** Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. ; *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(3): 1082-1095
- [30] : **Boudjouef Mourad (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.
- [31] : **Rafika et al, R. O. KOUAME, S. YOLOU, J. B. BOTI, K. N. GUESSENND, K. KANKO, C. AHIBO, J. CASANOVA(2008),** *European Journal of Scientific Research*, 24 94-103.
- [32] : **O. S. HASSANE, B. SATRANI, M. GHANMI, N. MANSOURI, H. MOHAMED, A. CHAOUCH, 15 (2) (2011)** *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 251-258
- [33] : **B. SATRANI, M. GHANMI, A. FARAH, A. AAFI, F. HASSAN, B. BOURKHISS, D. BOUSTA, M. TALBI, Bul(2008) l. Soc. Pharm. Bordeaux,** 146 85-96.
- [34] : **Naili et al (2010)** Evaluation des activités antibactériennes et antioxydantes d'*Artemisia campestris* (Asteraceae) et de *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae)
- [35] : **GHOUAR.M et SABEG.K (2018)** étude de l'activités biologiques de la plante Université Oum el Bouaghi.
- [36] : **BOUYAHYA (2017)** la résistance aux antibiotique et les mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries .

---

## Références bibliographiques

**[37] : Métali (2016)** Etude des activités antibactériennes et antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* (basilic) dans la région de Ain Defla

**[38] : M.M. COWAN oct. 1999** clinical microbiology reviews, 0893-8512/99/\$04.0010, p. 564–58