

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHECHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES  
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

# *Mémoire de fin d'études*

*En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Sciences Biologiques*

**Option: Microbiologie Appliquée**

**Thème:**

**Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne d'*Artemisia campestris L.***

**Présenté par:**

**M<sup>elle</sup> LARBI SARA**

**M<sup>elle</sup> SLAMANI FATMA**

**Soutenu devant le jury composé de:**

M.	MSELA A.	MCB	Président
M <sup>me</sup>	BRAHMI F.	MCB	Promotrice
M.	BOUACEM K.	MCA	Co-promoteur
M <sup>me</sup>	SALMI D.	MAA	Examinatrice

**Promotion 2021 /2022**

## *Remerciements*



La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à l'aide de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner notre gratitude.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice Madame BRAHMI F. ainsi qu'à Monsieur BOUACEM K. pour leur disponibilité et leurs judicieux conseils.

Nous tenons aussi à remercier spécialement Madame LAMRI L. pour son aide et ses encouragements et Madame GUENDOUIZI S. pour avoir eu la patience de répondre à nos innombrables questions.

Un grand merci à Madame BENAZZOUZ K. pour sa générosité et le soutien qu'elle nous a apporté.

Nous adressons également nos remerciements à Monsieur HOUALI K. pour sa gentillesse mais aussi, pour nous avoir ouvert les portes de son laboratoire de recherche.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce présent travail.

Enfin, nous rendons grâce à tous les intervenants et toutes les personnes qui, par leurs conseils, nous ont permis de mener à bien ce travail.

# *Dédicaces*

À mes chers parents, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Veuillez trouver en ce travail, le témoignage de mon profond respect et de mon estime.

À la mémoire de mon frère HOCINE et HAMRI YACINE. C'est avec le cœur meurtri que j'ai une pensée pour vous. Vous êtes partis trop tôt pour que je puisse partager ce moment avec vous.

À la mémoire de mon grand père TAHAR. Je te remercie pour m'avoir légué cette éducation.

À mon frère KAÇI et ma belle sœur TASSADIT. Je vous dis merci et je vous souhaite bonheur et sérénité.

À mes sœurs SADIA, NORA, SAMIA et DALILA. Merci pour votre indéfectible soutien et votre patience infinie. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

À ma nièce YANNA et mes neveux ILYAS et YOUNES. Vous avez apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je vous aime.

À MASSINISSA et JUGURTHA, Je vous suis très reconnaissante pour votre aide et votre soutien. Vous êtes vraiment un atout pour moi. J'ai de la chance d'avoir deux amis aussi dévoués et dignes de confiance. Vos efforts et votre implication sont admirables. C'est grâce à vous que ce travail est réalisé.

Les mots ne suffiront jamais à remplir ma jarre de remerciements et d'éloge à votre égard.

Sara



## *Dédicaces*

Je dédie ce travail à toute ma famille.

À mes parents MADJID et FARIDA qui m'ont doté d'une éducation digne, pour leur soutien, sacrifices et leur amour.

Que vous trouviez ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

À ma sœur SABRINA.

À mon petit frère ABDELAZIZ.

À mes ancres BOUSSAD et MOUSSA.

À mes meilleures amies WISSEM, MELISA, KATIA, HANIA et DYHIA.

À LINA qui m'a soutenue dans les moments les plus difficiles et pour sa foi en moi.

À ma très chère grand-mère ZOHOR, paix à sa belle âme.

À RENA et MIMINOU qui participent largement à mon bonheur.

**Fatma**

**EOR:** Espèces oxygénées réactives

**MDA:** Malonaldehyde

**NOS:** Nitric oxide synthase (l'oxyde nitrique synthase)

**Protein NF- $\kappa$ B:** Nuclear factor-kappa B

**R3:** El Gabel (commune Hammamet)

**R4:** Henchir Zeroual (commune d'Ouenza)

**SARM:** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

**SARS-CoV-2:** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

**UFC:** Unité formant colonie

**V3:** Fedj El Botma (commune El Aouinat)

**V4:** Remila (commune El Kouif)

<b>Figure 01:</b>	<i>Artemisia campestris L.</i> .....	04
<b>Figure 02:</b>	Distribution géographique de l'espèce <i>Artemisia campestris L.</i> .....	05
<b>Figure 03:</b>	Structure de quelques alcaloïdes.....	08
<b>Figure 04:</b>	Biosynthèse des polyphénols par la voie de Shikimate.....	10
<b>Figure 05:</b>	Structure de base du phénol.....	11
<b>Figure 06:</b>	Structure de base des flavonoïdes.....	12
<b>Figure 07:</b>	Structure de base des acides phénoliques.....	15
<b>Figure 08:</b>	Structure chimique du trans-resvératrol.....	15
<b>Figure 09:</b>	Classification des lignanes.....	16
<b>Figure 10:</b>	Alcools phénoliques formant la lignine.....	16
<b>Figure 11:</b>	Structure d'une lignine.....	17
<b>Figure 12:</b>	Structure de base d'une coumarine.....	17
<b>Figure 13:</b>	Structure chimique d'un tannin hydrolysable.....	19
<b>Figure 14:</b>	Structure des tanins condensés.....	19
<b>Figure 15:</b>	Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.....	21
<b>Figure 16:</b>	Caractéristiques structurales des flavonoïdes à forte activité de piégeage des radicaux libres.....	22
<b>Figure 17:</b>	Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques.....	22
<b>Figure 18:</b>	Schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries.....	30
<b>Figure 19:</b>	Diagramme du travail effectué.....	37
<b>Figure 20:</b>	Photo représentative des infusés issus des différentes poudres végétales d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	38
<b>Figure 21:</b>	Schéma illustrant le protocole de l'activité antibactérienne.....	42
<b>Figure 22 :</b>	Rendements des extractions méthanoliques des échantillons d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	47
<b>Figure 23:</b>	Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur <i>Staphylococcus aureus</i> MU 50.....	59
<b>Figure 24:</b>	Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14575.....	59
<b>Figure 25:</b>	Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	60
<b>Figure 26:</b>	Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	60
<b>Figure 27:</b>	Effet antifongique des extraits d' <i>Artemisia campestris L.</i> vis-à-vis d' <i>Aspergillus niger</i> .....	61

<b>Tableau I:</b>	Taxonomie d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	03
<b>Tableau II:</b>	Principales classes des composés phénoliques.....	12
<b>Tableau III:</b>	Structure des principales sous-classes de flavonoïdes.....	13
<b>Tableau IV:</b>	Provenance des différents extraits utilisés.....	36
<b>Tableau V:</b>	Matériels utilisés.....	37
<b>Tableau VI:</b>	Résultats du criblage chimique des extraits aqueux d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	45
<b>Tableau VII:</b>	Rendement, aspect et couleur des extraits d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	47
<b>Tableau VIII:</b>	Contenu phénolique total dans les extraits d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	49
<b>Tableau IX:</b>	Contenu en flavonoïdes dans les extraits d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	50
<b>Tableau X:</b>	Contenu en tanins condensés dans les extraits d' <i>Artemisia campestris L.</i>	51
<b>Tableau XI:</b>	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches testées.....	53
<b>Tableau XII:</b>	Résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis d' <i>Alternaria sp.</i> .....	56
<b>Tableau XIII:</b>	Résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis d' <i>Aspergillus niger</i> .....	57

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste de figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>

**Synthèse bibliographique:**

**Chapitre I : Généralités sur *Artemisia campestris L.***

1. Présentation d' <i>Artemisia campestris L.</i> .....	02
2. Classification systématique.....	02
3. Description botanique .....	03
4. Répartition géographique.....	04
5. Ecologie de la plante.....	05
6. Composition chimique.....	06
7. Usage.....	07

**Chapitre II : Métabolites secondaires**

1. Généralités.....	08
2. Saponines.....	08
3. Alcaloïdes.....	08
4. Huiles essentielles.....	09
5. Composés phénoliques.....	09
5.1. Biosynthèse des polyphénols.....	09
5.1.1. Voie de Shikimate.....	09
5.1.2. Voie de l'acétate malonate.....	10
5.2. Structures phénoliques.....	11
5.3. Classification des polyphénols.....	12
5.3.1. Les flavonoïdes.....	12
5.3.2. Les non flavonoïdes.....	14
5.3.2.1. Acides phénoliques.....	14
5.3.2.2. Stilbènes.....	15
5.3.2.3. Lignanes.....	15
5.3.2.4. Lignines.....	16
5.3.2.5. Coumarines.....	17
5.3.3. Tanins.....	18
6. Rôles et intérêt des polyphénols.....	19
6.1 Chez l'être humain.....	19
6.1.1. Activité antioxydante.....	20
6.1.1.1. Modes d'action des polyphénols.....	20
6.1.2. Activité anticancéreuse.....	23
6.1.3. Activité anti-inflammatoire.....	24
6.1.4. Activité anti-cardiovasculaire.....	24
6.1.5. Activité antivirale.....	25
6.1.6. Protection contre les maladies neurodégénératives.....	26
6.1.7. Effets antiallergiques.....	27
6.1.8. Activité antidiabétique.....	27
6.2 Chez les végétaux.....	28

**Chapitre III : Activité antimicrobienne**

1. Activité antibactérienne.....	29
2. Activité antifongique.....	31
3. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	32
3.1. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	32
3.1.1. Aromatogramme sur milieu solide.....	32
3.1.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	33
3.1.1.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	33
3.1.2. Aromatogramme sur milieu liquide.....	33
3.1.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	33
3.2. Évaluation de l'activité antifongique.....	34
3.2.1. Technique des disques.....	34
3.2.2. Technique de confrontation par contact direct.....	34
3.2.3. Méthode des puits.....	34
3.2.4. Microatmosphère.....	35

**Matériel et méthodes**

1. Matériel.....	36
1.1. Matériel végétal.....	36
1.2. Appareillage et outillage.....	37
1.3. Solvants et réactifs chimiques.....	38
2. Méthodes d'analyse.....	38
2.1. Screening phytochimique.....	38
2.1.1. Préparation de l'infusé.....	39
2.1.2. Criblage des Tanins totaux.....	39
2.1.3. Criblage des flavonoïdes.....	39
2.1.4. Criblage des anthocyanes.....	39
2.1.5. Criblage des coumarines.....	40
2.1.6. Criblage de l'amidon.....	40
2.1.7. Criblage des quinones.....	40
2.1.8. Criblage des Alcaloïdes.....	40
2.1.9. Criblage des Saponosides.....	40
2.1.10. Criblage des Stérols et des polyterpènes.....	40
2.2. Préparation des extraits méthanoliques bruts.....	41
2.2.1. Rendement d'extraction.....	41
2.3. Dosage des composés phénoliques.....	41
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	41
2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	42
2.3.3. Dosage des tanins condensés (TCs).....	42
2.4. Activités biologiques des extraits polyphénoliques.....	42
2.4.1. Activité antibactérienne.....	42
2.4.1.1. Revivification des souches.....	43
2.4.1.2. Préparation de l'inoculum bactérien.....	43
2.4.1.3. Méthode de diffusion sur disque.....	43
2.4.1.4. Lecture.....	44
2.4.2. Activité antifongique.....	44
2.4.2.1. Préparation de l'inoculum.....	44
2.4.2.2. Méthode de contact direct sur milieu gélosé.....	45

2.4.2.3. Lecture..... 45

**Résultats et discussion**

1. Résultats du screening phytochimique..... 46  
2. Rendement des extractions..... 49  
3. Résultats des dosages biochimiques..... 49  
3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)..... 50  
3.2. Teneur en flavonoïdes totaux (FVT)..... 51  
3.3. Teneur en tanins condensés (TCs)..... 52  
4. Résultats de l'activité antibactérienne..... 53  
4.1. Méthode de diffusion sur disque..... 53  
5. Résultats de l'activité antifongique..... 57  
5.1. Méthode de contact direct sur milieu gélosé..... 57  
Conclusion..... 63

**Références bibliographiques..... 65**

**Annexes**

**Résumé**

---

# **Introduction**

---

Depuis des millénaires, l'utilisation des plantes médicinales a figuré dans l'arsenal thérapeutique humain et vétérinaire. Elles sont une excellente source de molécules bioactives d'intérêt pharmacologique (Atanasov *et al.*, 2015).

Aujourd'hui et face à l'usage abusif des antibiotiques dans la médication ; les bactéries demeurent multi-résistantes. Il est donc primordial de trouver une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques et d'explorer de nouveaux agents bioactifs dénués de tout effet adverse depuis des sources naturelles (Yala *et al.*, 2001).

Ces dernières années, on constate un intérêt croissant pour l'utilisation des antimicrobiens naturels isolés des extraits végétaux étant une source potentielle de principes actifs à effets correctifs bénéfiques. Ils ont fait l'objet d'investigations majeures puisqu'ils pourraient être d'un grand secours et contribuer efficacement à la lutte contre les maladies infectieuses (Dai et Mumper, 2010).

L'Algérie recèle d'un couvert végétal riche et diversifié dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes. Parmi les plantes médicinales et aromatiques qu'elle abrite, se trouve l'espèce *Artemisia campestris L.* ou « l'Aurone des champs ». C'est une plante herbacée vivace de la famille des Astéracées, renfermant des huiles essentielles et des polyphénols, responsables de ses propriétés biologiques telles qu'antimicrobienne et antioxydante (Akrouf *et al.*, 2011).

Le motif principal du choix de cette plante est son utilisation traditionnelle dans le traitement des troubles digestives, les ulcères, le diabète, les rhumatismes, les piqûres de scorpion et les morsures de serpent (Al snafi *et al.*, 2015). Une revue de la littérature a permis de constater que les études portant sur la présente plante, restent peu nombreuses en Algérie.

Ce travail élaboré sur *Artemisia campestris L.* est entamé premièrement par une étude bibliographique sur les généralités de la plante en question, suivi d'un approfondissement sur les métabolites secondaires ainsi qu'un aperçu sur l'activité antimicrobienne.

Dans un deuxième temps, nous décrirons le matériel et les méthodes utilisés afin d'extraire qualitativement (screening phytochimique) et quantitativement (dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins) les métabolites secondaires à partir de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.*, ainsi que la détermination de son activité antimicrobienne.

Dans un troisième temps, nous exposerons nos résultats et la discussion relative aux différentes expérimentations menées.

Enfin, nous terminerons par une conclusion et des perspectives de recherche future.

---

# **Synthèse bibliographique**

---

---

**Chapitre I :**  
**Généralités sur *Artemisia campestris* L.**

---

### 1. Présentation d'*Artemisia campestris* L.

L'espèce *Artemisia campestris* L., communément appelée « Armoise rouge », « Armoise champêtre » ou « Aurone des champs », est une plante vivace appartenant au genre *Artemisia* de la famille des *Asteraceae* connue sous le nom de *Compositae* (Varsha et al., 2021).

Le terme générique (*Artemisia*) semble dériver de "Artemisia", épouse Mausole, roi de Carie. Selon d'autres étymologies, il est dédié à "Artemis", une déesse de la chasse qui présidait aux accouchements et secourait les femmes malades, ou tiré d'un mot grec "Artemes" qui veut dire "Santé" référant aux propriétés médicinales des plantes du genre *Artemisia* (Giacomo, 1960).

*Artemisia*, étant le genre le plus répandu de la famille des *Asteraceae*, il comprend plus de 400 espèces utilisées localement à des fins médicinales. Il a été rapporté que les huiles essentielles du genre *Artemisia* possèdent une forte activité antimicrobienne et une activité insecticide en plus de leurs richesses en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les stérols, les quinones et les anthraquinones (Akrouit et al., 2011).

### 2. Classification systématique

L'espèce *Artemisia campestris* L. fait partie de la famille des Astéracées. C'est une famille cosmopolite et diversifiée qui renferme environ 1600 genres et plus de 23000 espèces dans le monde. L'Algérie présente une richesse générique avec 136 genres et 557 taxons, dont 53 endémiques (Filleul, 2019).

Selon Juteau et al. (2002) la plante *Artemisia campestris* L. est classée dans:

**Tableau I:** Taxonomie d'*Artemisia campestris* L. (Juteau et al., 2002).

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

### 3. Description botanique

*Artemisia campestris* L. est un sous-arbrisseau vivace, aromatique, très rameuse, qui peut atteindre 30-150 cm de hauteur. Pour une description détaillée de la plante, il y'a nécessité de décrire les organes constituant l'Aurone des champs (Kreitschitz et al., 2007) :

Les racines sont secondaires par racine pivotante.

Les tiges sont robustes rigides, un peu couchées, ligneuses striées à la base, de 30 à 80 cm voire 100 cm de haut, ramifiées et ascendantes d'une forme panicale, généralement brunâtre rouge et glabre.

Les feuilles sont parfumées de couleur vertes ou vert-brunâtres à grain vert foncé glabres, soyeuses et blanchâtres avant que la plante se développe et des rameaux rougeâtres. Elles sont découpées vers leur sommet, rétrécies et linéaires à leur base, à segments plus ou moins allongés, le plus souvent pointus.

Les capitules sont minuscules (1 à 1,5 mm), étroits, brièvement pédicellés, ovoïdes ou coniques à involucre scarieux contenant des fleurons de disque fonctionnellement mâle (avec des ovaires abortifs). Généralement, elle ne contient que 3 à 8 fleurs jaunâtre bordées de rouge.

Le pédoncule est muni de poils blanchâtres à brunâtre.

Les fleurs sont jaunâtres et réunies en de nombreux capitules très petits, c'est à dire serrées les unes à côté des autres, ovoïdes et réceptacle glabres. La floraison a lieu du mois d'août au mois d'octobre. Elles se présentent sous la forme d'une coupe ou de collerette appelée un involucre.

Les fruits sont des akènes dépourvus de pappus à la saveur amère et à l'odeur agréable. Leur forme est oblongue et comprimée sur les cotés avec une surface glabre et légèrement innervé.

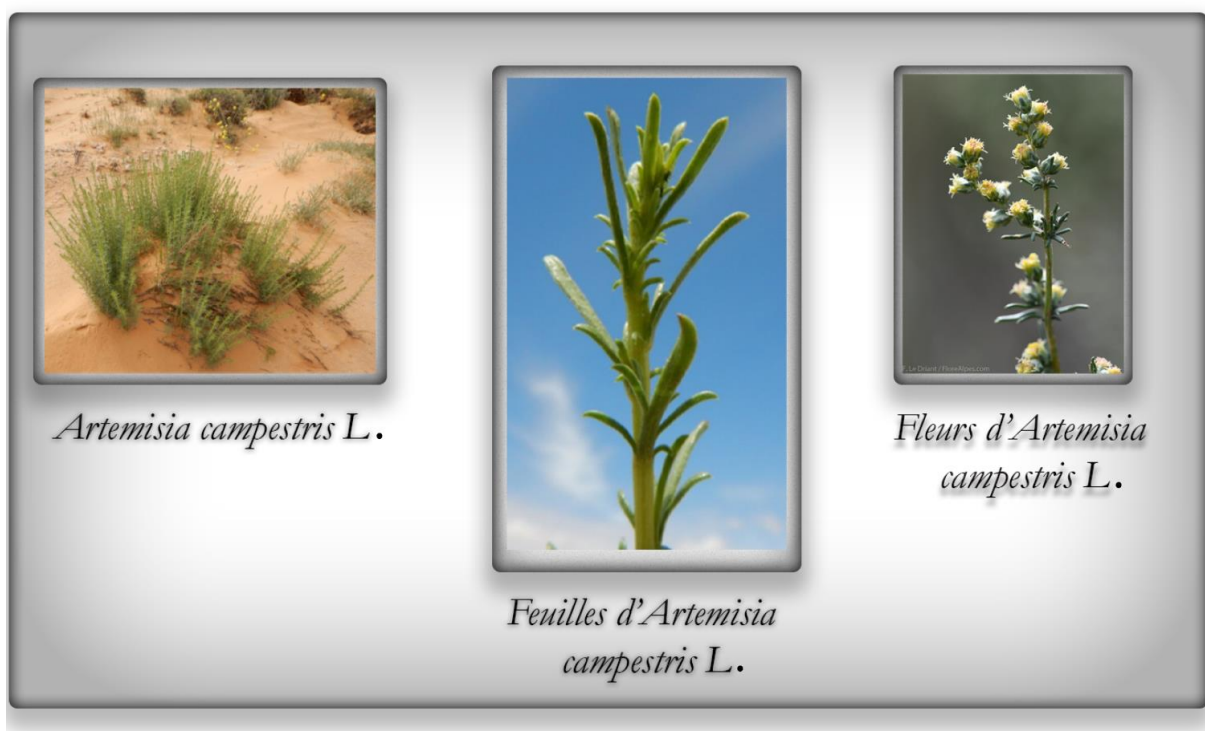
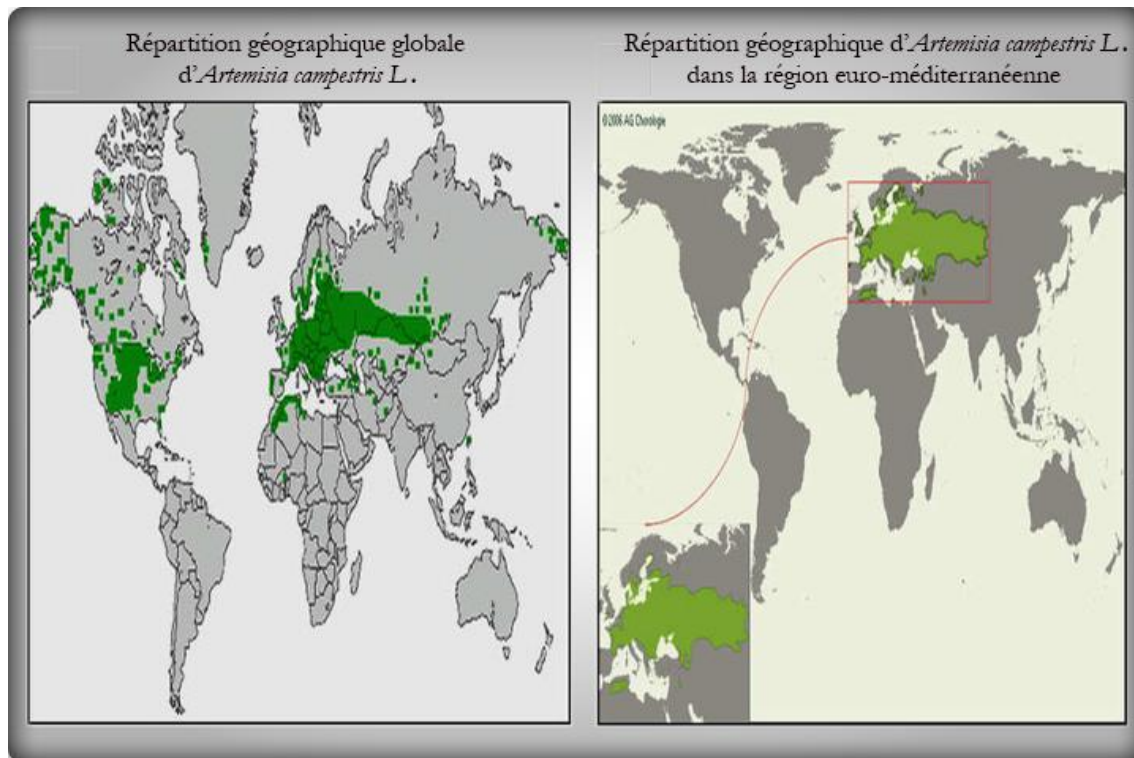


Figure 01: *Artemisia campestris* L. (Mouldi et al., 2021).

#### 4. Répartition géographique

Le genre *Artemisia*, disposé autour du monde, prédomine dans les régions semi-arides du bassin méditerranéen et s'étend jusqu'à l'Himalaya, l'Amérique du nord, l'Afrique du Nord en particulier le Maroc, la Tunisie et l'Algérie. Elles se trouvent aussi en Australie, en Asie centrale, en Asie du nord, en Europe centrale et en Europe du sud précisément dans les sols alcalins.

En Algérie, cette armoise est célèbre dans le nord, les hauts plateaux et l'Atlas saharien, notamment dans le Hoggar, plus rare au Tefedest et au Tassili des Ajjer (Dib, 2017).



**Figure 02:** Distribution géographique de l'espèce *Artemisia campestris* L. (Dib et al., 2017).

### 5. Ecologie de la plante

Ecologiquement, *Artemisia campestris* L. occupe une amplitude considérable qui s'étend de l'étage thermo-méditerranéen jusqu'à l'étage montagnard et depuis les zones sahariennes jusqu'aux zones humides (Subally et al., 2002).

Généralement, elle s'accroît dans des habitats ouverts tels que les prairies arides, les pinèdes, les clairières et les sommets, les zones rudérales et elle tolère les sols secs (Nobis et al., 2014). En outre, il a été détaillé que différentes formes d'*Artemisia campestris* L. existent en fonction des différents habitats et écotypes (Turesson, 1925) :

- Une forme de dune mouvante, principalement reliée à l'écotype des dunes ;
- Une forme qui tolère les milieux salés le long de la côte ;
- Une forme liée aux champs qui pousse au niveau des champs de pâturages secs et des sols graveleux ;
- Une forme calcaire qui prédomine dans les champs de roches calcaires et les terres arides.

## 6. Composition chimique

Plusieurs études chimiques de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* ont révélées la présence de différentes classes de métabolites secondaires : les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles (Joao et al., 1998). Les feuilles d'*Artemisia campestris L.* contiennent aussi des alcaloïdes et des saponines (Naili et al., 2010).

Différents flavonoïdes ont été trouvés chez l'espèce *Artemisia campestris L.* à savoir : flavone (apéginie), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (Boudjouref, 2011).

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré et les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil) et selon la phase du développement de la plante (Bruneton, 1999 ; Jerkovic et al., 2003).

Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris L.* sont de composition très variée et décrite par plusieurs travaux. L'étude menée par Goven, (1963) en Turquie rapporte que le composé majoritaire est le  $\alpha$  pinène (21 %) suivie par le  $\beta$  pinène (12 %), 1,8-cineole (8 %), thujone (4%), Alcool thujyl (15 %), géraniol (13 %), et un composé non identifié (11 %).

Les travaux effectués par Silvestre et al. (1999) en Italie ont mis en évidence le composé majoritaire de l'huile essentielle de cette armoise : le  $\alpha$  pinène (15,3 %) suivie par  $\beta$  pinène (9,80 %), oxyde caryophyllène (18,2 %), Spathuléol (9.3 %), limonène (4,9 %) et 1,8-cineole (5.2 %).

D'après Akrouf et al. (2011), les constituants les plus abondants de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* qui provient de quatre régions différentes de la Tunisie sont : le  $\beta$  pinène comme composé majoritaire (24 % à 49,8 %) suivie par  $\alpha$  pinène (5,9 % à 12,5%), p-cymène (3,4 % à 9,4 %) et le limonène (4,9 % à 9,3 %).

En Algérie, Dob et al. (2005) ont montré que le composé majoritaire de cette l'huile est: (Z, E) farnésol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %), verbenone (3.8 %).

## 7. Usages

Autrefois parfumant les armoires de nos ancêtres et appréciée des jardiniers pour ses belles feuilles, l'armoise possède de nombreuses propriétés médicinales, repoussant les chenilles et les escargots, et prévenant les parasites. Traditionnellement, *Artemisia campestris L.* est conseillée pour traiter plusieurs maladies, grâce à ses divers effets bénéfiques sur la santé (Al snafi et *al.*, 2015).

En Asie, l'armoise est principalement utilisée comme herbe médicinale en raison de ses propriétés antibactériennes, antifongiques et protectrices de la peau. Elle est utilisée dans les bains traditionnels pour ses propriétés détoxifiantes. La partie aérienne est localement recommandée pour traiter les brûlures, la diarrhée, les morsures de serpent, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, les infections urinaires, la toux, le diabète et les douleurs menstruelles (Al snafi et *al.*, 2015). Les fleurs ont été utilisées comme agents hypoglycémiques, dépurative, anti-lithiasique, contre l'obésité ainsi que pour diminuer le taux de cholestérol (Sijelmassi, 1993).

La plante a été utilisée comme abortif pour mettre fin aux grossesses difficiles et appliquée sous forme de poudre à l'extérieur des articulations rhumatismales, ecchymoses et plaies. Un cataplasme de feuilles broyées a été appliqué sur les yeux douloureux. L'infusion des racines a été utilisée comme tonique capillaire et pour traiter les infections du cuir chevelu chez les enfants. Elle est également utilisée dans le traitement de fébrifuge, vermifuge et comme agent anti-cancer, anti tumeur (Dob et *al.*, 2005).

En Italie, cette espèce est recueillie et séchée afin de l'utiliser dans la fabrication des boissons alcoolisées et amères et pour parfumer les apéritifs et dans une gamme d'applications alimentaires qui comprennent les soupes, les sauces et les salades (Mucciarelli et *al.*, 1995).

Aujourd'hui, l'armoise est utilisée dans la préparation des produits pharmaceutiques et cosmétiques. Les feuilles et les pousses sont principalement utilisées pour leurs effets antibactériens, antioxydants, apaisants et anti-âge, calmer les éruptions cutanées, les démangeaisons et les irritations, ainsi que pour traiter la dermatite (Bonnie, 2018).

---

## **Chapitre II : Métabolites Secondaires**

---

### 1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques synthétisés par des réactions biochimiques dans la cellule végétale. Ils sont indirectement essentiels à la survie de la plante, contrairement aux métabolites primaires (glucides, protéines et lipides) impliqués dans les processus vitaux.

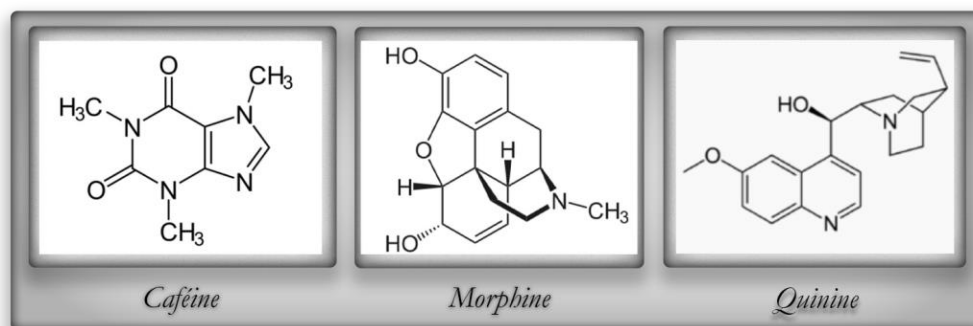
Ces produits, à structure chimique complexe sont très dispersés selon les espèces. On distingue classiquement: les composés phénoliques, les saponines, les alcaloïdes et les composés azotés et les terpènes. Ils jouent un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement (Bruneton, 1999).

### 2. Saponines

Les saponines sont des hétérosides utilisés comme savon d'où le nom donné à cette classe de métabolites secondaires. Ces produits issus du métabolisme secondaire des plantes, sont constitués d'une partie lipophile appelée génine ou aglycone et d'une partie hydrophile osidique. Ils possèdent de nombreuses activités biologiques telles qu'antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire. Les saponines se classent en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique (George et *al.*, 2002).

### 3. Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée et hétérocyclique à réaction basique fréquente issus d'acides aminés. Très actifs, les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicaments. Chez les végétaux, ils sont responsables de l'amertume, la protection de la plante contre les prédateurs et servir de réservoir d'azote. Certaines substances peuvent être analgésiques (morphine), antipaludiques (quinine), anticancéreuses (vinblastine, vincristine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), détressant cardiaque, stimulant centrale (Caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaïne), sympathomimétique (éphédrine) (Jacques, 2011).



**Figure 03:** structure de quelques alcaloïdes (Tadeusz, 2007).

#### 4. Huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique. Elles protègent les plantes contre un excès de lumière et attirent les insectes pollinisateurs. Ils sont utilisés pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma, et soulagent les problèmes intestinaux. Leur utilisation est également présente dans l'industrie cosmétique et alimentaire. Les huiles essentielles sont généralement composées des terpènes (hydrocarbures non aromatique), des groupes aromatiques dérivés du phényle propane et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, esters) (Amroune, 2018).

#### 5. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des phyto-micronutriments du métabolisme secondaire des végétaux. Ils comportent un noyau benzénique (aromatique) auquel est directement lié un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction (Bruneton, 1999). On les trouve dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et écorces de bois) où ils sont responsables de l'arome, de la couleur des fruits, des fleurs et des feuilles (Scalbert et *al.*, 2005).

Ils contribuent à la lutte des plantes contre les agressions environnementales (infections, blessures, radiation UV), à leurs adaptation au sein de leurs milieu naturel et ils sont impliqués dans la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et charpentier, 2006).

Ils sont abondants dans les légumes, les fruits, les céréales, le cacao et les boissons (vin rouge, café, thé) et font donc partie intégrante de notre alimentation (Scalbert et *al.*, 2005). On leur attribue de nombreux bienfaits sur la santé grâce à leurs effets biologiques : anti-inflammatoire, antioxydante, antivirale et antibactérienne (Izzo et *al.*, 2020).

##### 5.1. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont issus de deux voies d'élaboration biogénétique (Bruneton, 2009).

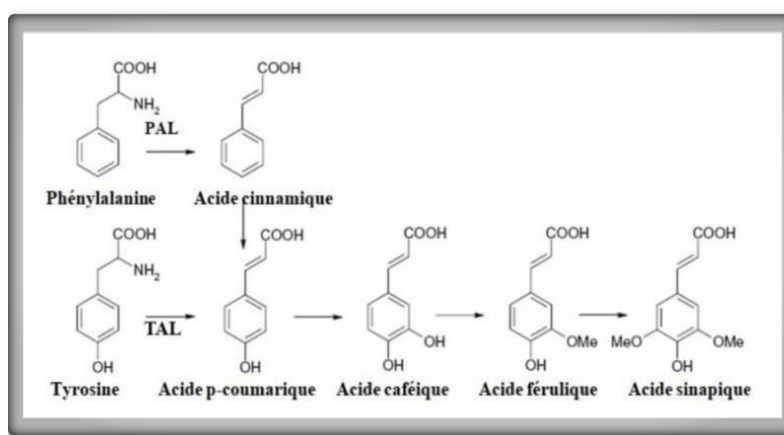
###### 5.1.1. Voie de Shikimate

La voie de Shikimate est une voie métabolique très spécifique des végétaux qui conduit à la synthèse de trois acides aminés aromatiques (tryptophane, phénylalanine, tyrosine) pouvant être à l'origine de métabolites secondaires ou primaires (Hopkins, 2003).

La biosynthèse de ces acides aminés débute par la condensation du phosphoénol pyruvate (PEP) avec l'érytrose-4-phosphate pour former le 3-désoxyD-arabinoheptulosonate-7-phosphate (DAHP), un composé en C7 (Jean, 2009). Le (DAHP) résultant est cyclisé puis déshydraté pour former le shikimate (Hopkins, 2003), qui après transformation en acide chorismique, produit la tyrosine, tryptophane et phénylalanine (Morot-Gaudry, 1997).

La majeure partie des molécules phénoliques chez les végétaux dérivent de la phénylalanine ou de la tyrosine (Macheix et *al.*, 2005). La tyrosine peut être désaminée directement par la tyrosine ammonia-lyase(TAL) et forme l'acide p-coumarique tandis que la désamination de la phénylalanine par une enzyme clé : la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), conduit à l'acide cinnamique qui par l'addition d'un radical hydroxyle se transforme en acide p-coumarique. L'addition séquentielle de radicaux hydroxyle et méthyl donne naissance respectivement aux acides caféïques et féruliques (**Figure 04**) (Hopkins, 2003).

La désamination de ces acides aminés conduit aux acides cinnamiques l'acide cinnamique, et à leurs nombreux dérivés : acides benzoïques, lignanes et lignines, acétophénones, coumarines (Jean, 2009).



**Figure 04:** Biosynthèse des polyphénols par la voie de Shikimate (Hopkins, 2003).

### 5.1.2. Voie de l'acétate malonate

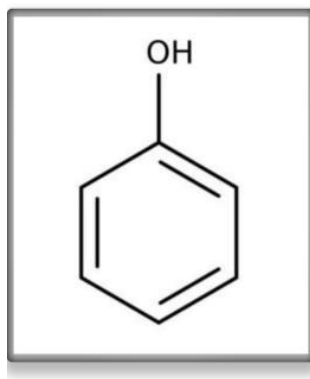
La voie du poly-acétate consiste à réaliser non plus un seul noyau benzénique, mais un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation de chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétate comme l'éleuthérinol, une chromone provenant de la condensation de groupements acétates. Cette seconde voie intervient chez les végétaux supérieurs afin de réaliser un second noyau benzénique pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates (Guignard, 1996).

C'est la malonyl-CoA qui fournit par décarboxylation, les unités en C2 pour allonger le complexe acyl-CoA. L'acide polycétonique formé se referme en un cycle portant une chaîne latérale. Le cycle A de la structure flavane est construit sur ce principe ; il est ensuite complété à l'aide de dérivés de l'acide cinnamique, par un hétérocycle central, puis par un second cycle aromatique (cycle B). Ainsi, les deux voies responsables de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent (Richter, 1993 ; Guignard, 1996 ; Guignard, 2000). La diversité structurale des polyphénols est due à cette double origine biosynthétique (voies du shikimate et de l'acétate) dans l'élaboration de composés mixtes, comme les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

### 5.2. Structures phénoliques

La structure des molécules phénoliques contient un noyau benzénique (phénol) auquel est directement lié un ou plusieurs groupes hydroxyle (Jean, 2009) (**Figure 05**).

Il existe un nombre varié de structures phénoliques allant des molécules simples (acides phénoliques) jusqu'aux substances hautement polymérisées (Tanins condensés) (Dai et Mumper, 2010).



**Figure 05:** Structure de base du phénol (Cheynier, 2005).

Ils sont répartis en plusieurs classes définies en fonction de la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (Macheix et *al.*, 2005) (**Tableau II**).

**Tableau II:** Principales classes des composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005).

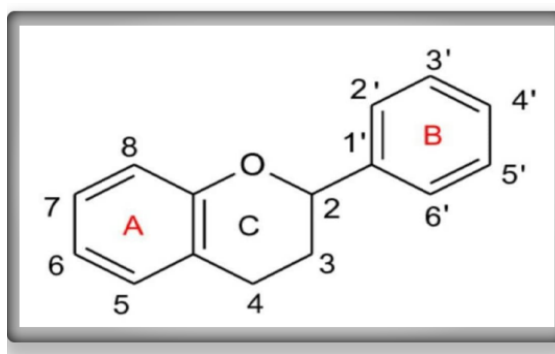
Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
<b>C6</b>	Phénols simples	Catéchol	
<b>C6-C1</b>	Acides Hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
<b>C6-C3</b>	Acides Hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme, Pomme de terre
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
<b>C6-C4</b>	Naphthoquinones	Juglone	Noix
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes		
	- Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	- Anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges
	- Flavanols	Catéchine, épicatechines	Pomme, raisin
	- Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Diadzéine	Soja, pois
<b>(C6-C3)2</b>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
<b>(C6-C3)n</b>	Lignines		Bios, noyau des fruits
<b>(C15)n</b>	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### 5.3. Classification des polyphénols

Trois grandes classes de polyphénols sont distinguées, à savoir les non flavonoïdes (Hoffmann, 2003), les flavonoïdes et les tanins (Pincemail et *al.*, 2007).

#### 5.3.1. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques hydrosolubles naturels de faible poids moléculaire (Stalikas, 2007). Ce groupe est rencontré dans les fruits et légumes et contribue à la pigmentation des végétaux. Ils sont responsables de la couleur variée des fruits, des fleurs et des feuilles. Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base, le noyau flavane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les cycles A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne le cycle C (Dacosta, 2003) (**Figure 06**).

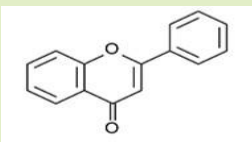
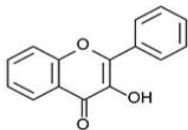
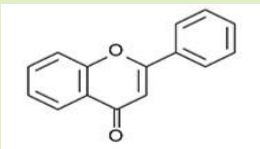
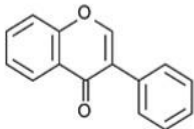
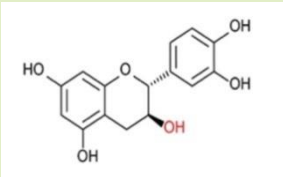
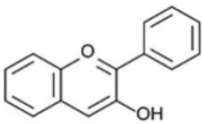


**Figure 06:** Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000).

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses vertus médicinales par leur caractère anti-oxydant et sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (Govindarajan et *al.*, 2013).

Structurellement ils sont répartis en six classes: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et les anthocyanidines ou anthocyanidols (Khiredine, 2014) (**Tableau III**).

**Tableau III:** Structure des principales sous-classes de flavonoïdes (Izzo et *al.*, 2020).

Sous-classes	Structures chimique	Liaisons	Composés
Flavones		Double liaison entre C2- C3 et une cétone en C4 de cycle C	Apigénine Lutéoline Morine Tricine
Flavonols		Groupe hydroxylique, une double liaison entre C2- C3 et une cétone dans le cycle C	Quercétine Myricétine Fisétine Kaempférol
Flavanones		Manque la double liaison entre C2-C3 dans le cycle C; uniquement des groupes hydroxyle et méthoxy comme substituants	Silibinine Naringénine Hespéridine
Isoflavones		Grande diversité de structure dans le cycle C. Le cycle B est attaché en C3 plutôt qu'en C2 de cycle C	Genistéine Daidzéine Glycitéine
Flavanols ou Catéchines		Pas de double liaison C2-C3 dans le groupe hydroxyle en position 3	EGCG Épicatéchine Epicatechin-3- Gallate
Anthocyanidines		Groupes hydroxyle se liant au cation flavylum et / ou groupe (s) méthoxy en position R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> et R <sub>3</sub>	Delphinidine Cyanidine Péonidine

### 5.3.2. Les non flavonoïdes

#### 5.3.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques présentent la classe majeure d'acides organiques possédant des noyaux phénoliques, largement distribués dans les plantes (Li et *al.*, 2020). On distingue deux principales classes d'acides phénoliques: les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques (Colette, 2010).

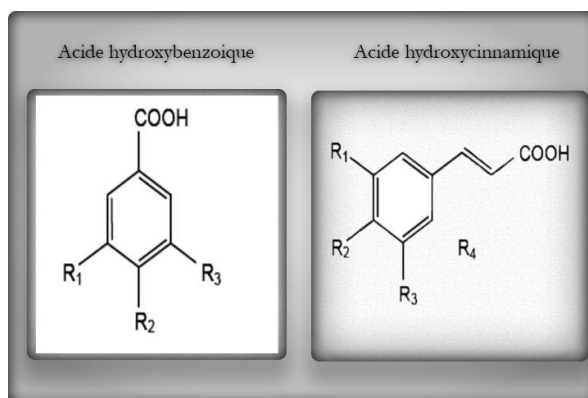
##### - Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque

Les acides hydroxybenzoïques dérivent de l'acide benzoïque et présentent une structure commune de type (C6-C1) (Kumar et Goel, 2019). Le squelette de base étant le même avec celui de l'acide hydroxycinnamique, leur confèrent une similarité de structure (**Figure 05**). Le nombre et la position des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique quand à eux, font la différence et établissent la variété (Stalikas, 2007). Ils existent sous forme libre ou combinée à l'état d'ester ou de glucosides et peuvent être intégrés dans des structure complexes comme les tanins hydrolysables (Bernal et *al.*, 2010).

On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide salicylique, l'acide gentsique et l'acide gallique. Ce dernier est le principal composé dont la teneur est comprise entre 100 et 230 mg/kg (Chira et *al.*, 2008).

##### - Dérivés de l'acide hydroxycinnamique

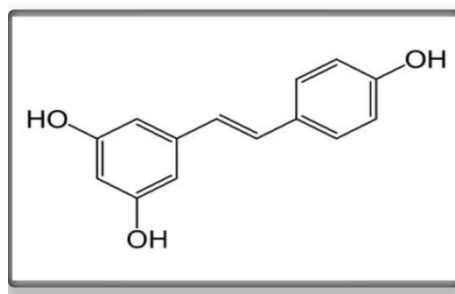
Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique dérivent de l'acide cinnamique dont la structure de base est de type (C6-C3). Ils existent rarement à l'état libre ou sont combinés (Kumar et Goel, 2019). Leur squelette de base est un noyau benzénique (**Figure 07**) avec une chaîne aliphatique à trois carbones et un ou plusieurs groupements hydroxyles (Chira et *al.*, 2008). Ils jouent un rôle de précurseurs basiques dans la biosynthèse de divers phénols végétaux (Kaurinovic et Vastag, 2019); et sont principalement composés l'acides p-caumarique, caféique (CaA), férulique (FA) et sinapique (Miller et *al.*, 2014).



**Figure 07:** Structure de base des acides phénoliques (Stalikas, 2007).

### 5.3.2.2. Stilbènes

Les stilbènes sont un groupe important de composés phytochimiques non flavonoïdes dérivés de la voie phénylpropanoïde (Sirerol et *al.*, 2016). Les membres de cette famille possèdent une structure C6-C2-C6 avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène (Chira et *al.*, 2008). Ils sont présents en petites quantités dans l'alimentation humaine (raisin et le vin qui en est issu, amandes, haricots, bleuets, prune, soja et arachides) (Crozier et *al.*, 2006). La plupart dérivent de l'unité de base *trans*-resvératrol (**Figure 08**) (Shen et *al.*, 2009). Le plus connu d'entre eux est le resvératrol largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses (El gharra, 2009).

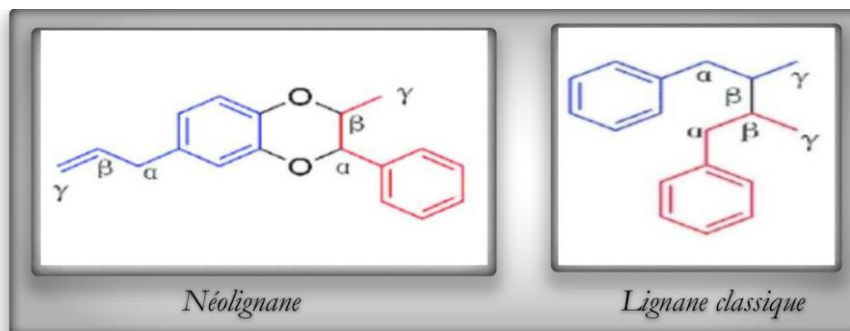


**Figure 08:** Structure chimique du *trans*-resvératrol (Durazzo et *al.*, 2019).

### 5.3.2.3. Lignanes

Les lignanes forment un groupe de métabolites secondaires important avec une distribution botanique large (Pihlava et *al.*, 2018). La plupart sont trouvés à l'état libre et certains peuvent se combiner avec du glycone et former des glycosides et d'autres dérivés. Le lignane comporte un squelette de base de deux unités de phénylpropane ou plus. Il présente une structure de type (C6-C3)<sub>2</sub> dont l'unité (C6 - C3) est considérée comme un propylbenzène (Cui et *al.*, 2020). Lorsque le mode de liaison des deux unités est unique, en 8 et 8' (appelé ainsi  $\beta$ - $\beta'$ ), ces composés sont appelés «lignanes classiques». En revanche, les

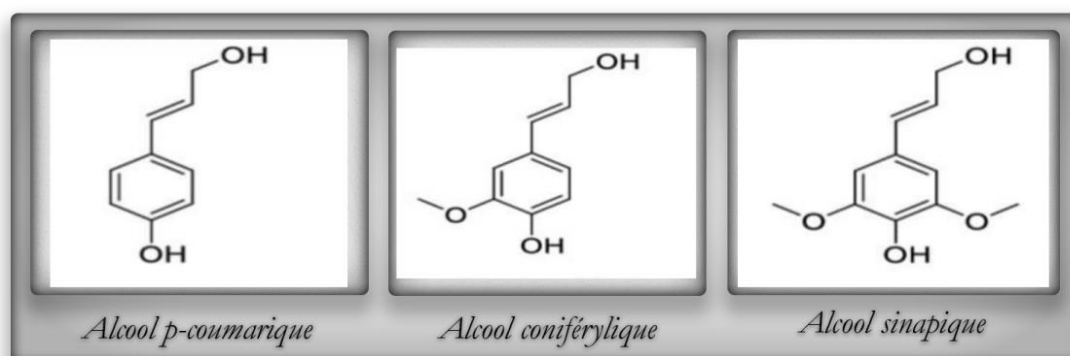
composés sont appelés «néolignanes» si les principales unités structurales sont couplées de toute autre manière (liaison non 8-8) (Lamblin et *al.*, 2008) (**Figure 09**).



**Figure 09:** Classification des lignanes (Cui et *al.*, 2020).

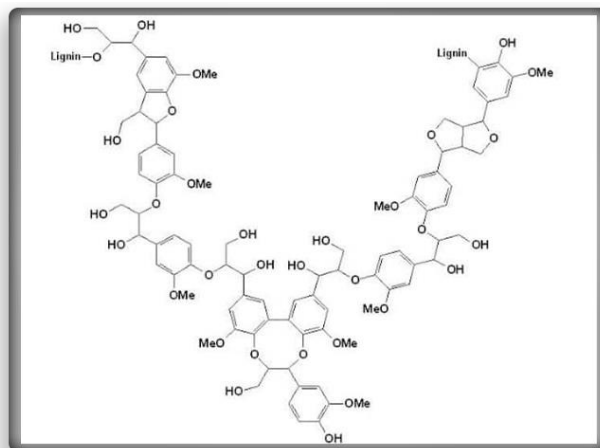
#### 5.3.2.4. Lignines

Les lignines constituent un des éléments structuraux polymériques les plus abondants sur terre après la cellulose (Bagniewska-Zadworna et *al.*, 2014) et seraient formées par trois alcools phénoliques simples : *p*-coumarylique, sinapylique et coniférylique (**Figure 10**) (Vanholme et *al.*, 2010).



**Figure 10:** Alcools phénoliques formant la lignine (Vanholme et *al.*, 2010).

Vu les formes complexes aromatiques, hydrophobes, de haut poids moléculaire et hautement polymérisés des lignines, leur extraction est impossible sans dégradation (Sayadi et Odier, 1995). De plus, une structure tridimensionnelle très ramifiée est formée suite aux multiples assemblages des trois monomères de bases comme la montre la (**Figure 11**) (Hopkins, 2003).

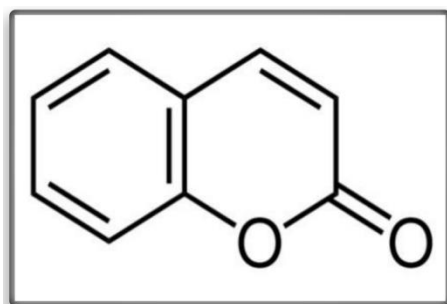


**Figure 11:** Structure d'une lignine (Morot-Gaudy, 2010).

### 5.3.2.5. Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés naturels très intéressants avec leurs structures et leurs activités biologiques (Jean, 2009) avec un squelette de base en C6-C3 généralement hydroxylés en position 7 (kumar et *al.*, 2015).

Structurellement, elles sont classées en quatre types à savoir les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les coumarines à substitution pyrone (Garg et *al.*, 2020). La coumarine la plus simple, dépourvue de groupe hydroxyle -OH, est la 1-benzopyran-2-one C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> (Foret, 2018) (**Figure 12**).



**Figure 12:** Structure de base d'une coumarine (jean, 2009).

Comme les autres composés phénoliques, les coumarines se rencontrent dans la nature soit à l'état combiné avec des sucres (hétérosides) ou à l'état libre. Dans la cellule, elles sont présentes sous forme glycosylée qui serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance (Hoffmann, 2003).

Etant une substance aromatique, elle est utilisée comme agents de saveur en parfumerie. Utilisée aussi dans l'industrie pharmaceutique, la coumarine a des propriétés anti-inflammatoires, anti-tumorales, antiseptiques et analgésiques (Youcef, 2006). Plusieurs

coumarines ont des propriétés bactériostatiques, d'où leur utilisation dans le traitement de la brucellose en médecine vétérinaire (Jean, 2009).

### 5.3.3. Tanins

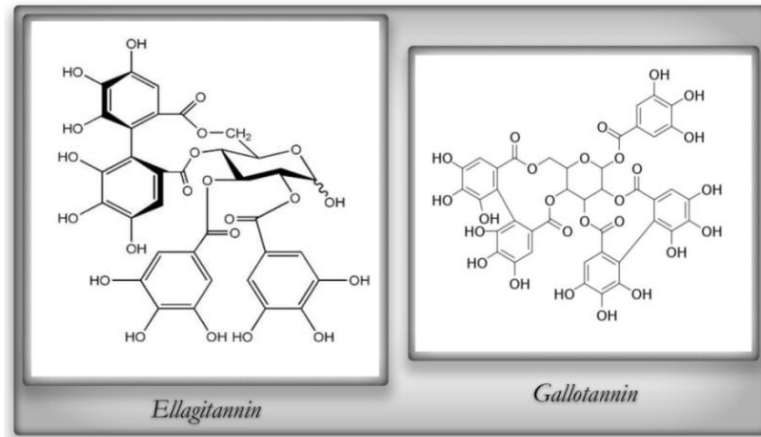
Les tanins sont des substances polyphénoliques hydrosolubles de haut poids moléculaire compris entre 500 et 30000 (Séréme et *al.*, 2008). Ils se trouvent dans (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines et les graines) (Vandi et *al.*, 2016). Ils sont très répandus dans l'alimentation humaine, tel que les pépins de raisin, les pommes, les baies, le vin rouge, le chocolat et le cacao (Bule et *al.*, 2020). Les tanins sont de saveur astringente ayant le pouvoir de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible, grâce à leur capacité à s'associer aux protéines, l'amidon ou la gélatine (Gazengel et *al.*, 2012).

Ils possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses et sont utilisés comme protecteurs veineux et capillaires et contre les varices (Paris et Hurabielle, 1981). On distingue deux catégories: les tanins hydrolysables et condensés, classés selon leur structure chimique (Chen et *al.*, 2020).

#### - Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ou acides tanniques sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation: l'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Roux et *al.*, 2007). Le traitement avec des acides faibles hydrolyse facilement les résidus d'acide gallique et produit des acides phénoliques avec un hydrate de carbone coré. Cependant, la production de multiples structures tanniques hydrolysables suggère qu'ils sont utilisés dans une fonction spécialisée qui est la défense des plantes contre les toxines et pour éviter la prédation herbivore (Holderness et *al.*, 2008).

Les tanins hydrolysables sont divisés en deux groupes : les Gallotanins et les Ellagitannins dont le premier groupe est formé à partir de l'acide gallique et le deuxième est obtenu à partir de l'acide ellagique (**Figure 13**) (Khanbabaee et *al.*, 2001 ; Cai et *al.*, 2006).

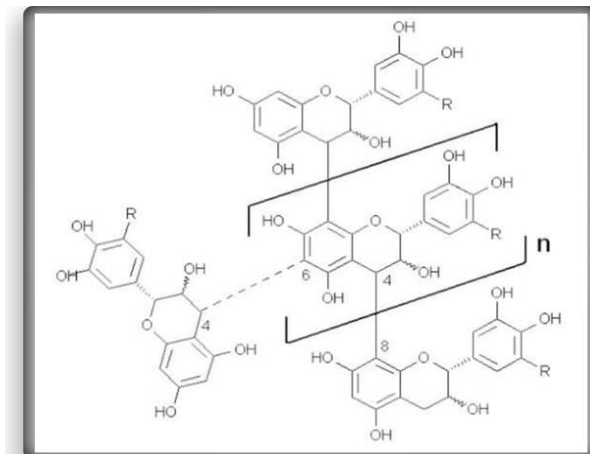


**Figure 13:** Structure chimique d'un tannin hydrolysable (Khanbabaee et *al.*, 2001).

- **Tanins condensés**

Les tanins condensés aussi appelés tanins catéchiques, sont des molécules phénoliques hydrolysables de masse molaire élevée (de 1000 à 30000) (Bruneton, 1993). Ceux-ci possèdent une structure voisine à celle des flavonoïdes, caractérisée par l'absence de sucre contrairement aux tanins hydrolysables (Paris et Hurabielle, 1981) (**Figure 14**).

Ils ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux et sont abondants dans l'alimentation (fruits, vin, thé, etc.) et sont susceptibles de défendre les plantes contre les herbivores (Bruneton, 1999).



**Figure 14:** Structure des tanins condensés (Bule et *al.*, 2020).

## 6. Rôles et intérêt des polyphénols

### 6.1. Chez l'être humain

Le rôle des composés phénoliques est montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leurs interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet et *al.*, 2005). Leurs efficacités varient en fonction de leurs natures, leurs concentrations, leurs vitesses d'absorption dans l'intestin grêle et de leurs dégradations par la flore intestinale (Macheix et *al.*, 2005). Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés veinotoniques, antitumorales, anti-radicalaires, anti-inflammatoires, analgésiques, antiallergiques, antispasmodiques, antibactériennes. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires comme ils favorisent la relaxation vasculaire, empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines et luttent contre le vieillissement. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (Bruneton, 1993).

#### 6.1.1. Activité antioxydante

Les polyphénols sont de puissants antioxydants puisqu'ils empêchent les dommages oxydatifs (Shikanga et *al.*, 2010). Les antioxydants sont toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat. Ces composés rassemblent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E,  $\beta$ -carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique) (Halliwell, 2015). 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 les effets nocifs des espèces réactives de l'oxygène (EOR) et des radicaux libres (Carocho et Ferreira, 2013 ; Godic et *al.*, 2014).

##### 6.1.1.1. Modes d'action des polyphénols

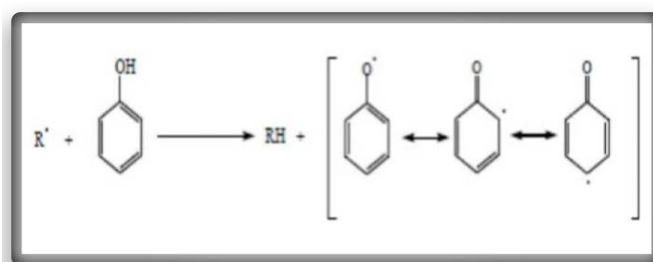
D'après Chae et al. (2013), les polyphénols agissent selon divers mécanismes:

- Le piégeage des radicaux libres (cations de fer et de cuivre) ;
- La chélation des ions métalliques impliqués dans la production des (EOR) ;
- L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres.

### ✚ Piégeage des radicaux libres

Les polyphénols exercent une activité antioxydante via le piégeage des radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, dont le processus est radicalaire (Sökmen *et al.*, 2012).

Selon un mécanisme proposé par Sherwin dès 1976, ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules en donnant un atome d'hydrogène aux radicaux libres : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électron suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire. Il est stabilisé par sa méso-structure conjuguée (**Figure 15**) (Sökmen *et al.*, 2012).



**Figure 15:** Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Berset et Cervelier, 1996).

Les radicaux intermédiaires phénoxy ( $PO\bullet$ ) sont relativement stables en raison de la résonance et n'initient donc pas facilement de nouvelles réactions en chaîne (Dai et Mumper, 2010). De plus, ils peuvent interagir avec d'autres radicaux libres selon la réaction:

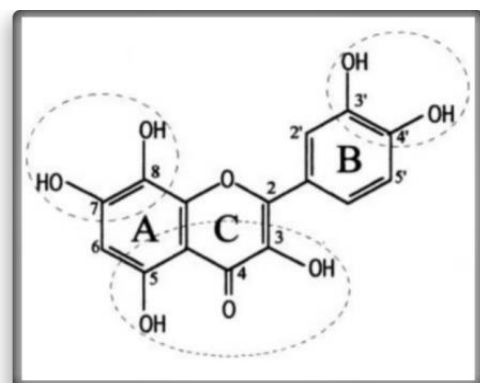


Structurellement, les composés phénoliques sont idéals pour le piégeage des radicaux libres car ils ont :

- Des groupes phénoliques hydroxyles pouvant donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance (Dai et Mumper, 2010).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier, sont de bons piégeurs des radicaux libres (Fraga, 2007). En raison de la présence de 3',4'-dihydroxy et d'ortho-dihydroxy (structure catéchol) sur le cycle aromatique B; ils ont la propriété de donneur d'électrons. De plus, la présence du 3-OH du cycle C favorise également l'activité antioxydante des flavonoïdes. La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le

groupe 4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui renforce encore l'activité de piégeage (Amic et *al.*, 2003) (**Figure 16**).



**Figure 16:** Caractéristiques structurales des flavonoïdes à forte activité de piégeage des radicaux libres (Amic et *al.*, 2003).

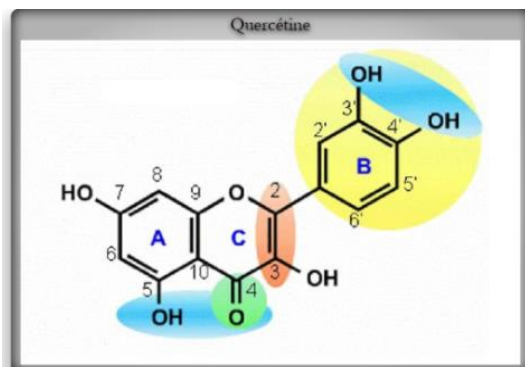
#### ✚ Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques tels que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ), sont essentiels pour plusieurs fonctions biochimiques et physiologiques cellulaires. Néanmoins, ceux-là peuvent entraîner une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou des lésions tissulaires, par d'exemple :  $\text{Cu}^{2+}$  est un stimulateur de la peroxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL), quand leur mécanisme d'action n'est pas contrôlé (Tiwari, 2001). Les polyphénols et avec les groupes catéchol et gallate, inhibent le métal induit et la formation du radical oxygène en se coordonnant avec le  $\text{Fe}^{2+}$  et en améliorant l'auto-oxydation de  $\text{Fe}^{2+}$ , ou en formant des complexes inertes par des interactions relativement faibles avec  $\text{Cu}^{2+}\cdot\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^+$  (Yoshino et *al.*, 1998 ; Perron et Brumaghin, 2009).



Les flavonoïdes, chélatent ces ions métalliques au niveau de trois sites principaux. Le noyau catéchol sur le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Pietta, 2000) (**Figure 17**).

A titre d'exemple : la quercétine et la myricétine répondent à tous ces critères nécessaires pour avoir une activité anti-radicalaire efficace (Middleton et *al.*, 2000).



**Figure 17:** Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Ma et *al.*, 2007).

#### **✚ Inhibition enzymatique**

Les polyphénols présentent une affinité pour une grande gamme de protéines (Dangles et *al.*, 2008). De ce fait, la précipitation des complexes protéines-polyphénols se produit fréquemment, ce qui est à l'origine de leur usage dans les procédés de tannage du cuir (Handique et Baruah, 2002). Ce phénomène a été très étudié, notamment dans le cas des flavonoïdes qui se lient avec beaucoup de protéines globulaires: enzymes, récepteurs et transporteurs (Dangles, 2012). Afin d'élucider le mécanisme d'action de l'activité inhibitrice des flavonoïdes, l'effet de la quercétine sur l'oxydation de l'acide linoléique par une lipoxygénase a été étudié. Les chercheurs ont constaté que le mécanisme par lequel la quercétine inhibe la lipoxygénase n'est pas dû à la complexation ou à l'oxydation de  $Fe^{2+}$ , mais plutôt à l'inhibition irréversible résultante de liaisons covalentes entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine (quinone ou radical phénoxy) (Chebil, 2006). De nombreux flavonoïdes sont aussi de puissants inhibiteurs des métallo-enzymes-lipoxygénase, myéloperoxydase et NADPH oxydase (Dangles et Dufour, 2008 ; Dangles, 2012).

#### **6.1.2. Activité anticancéreuse**

La prévention du cancer figure parmi les propriétés biologiques considérables des polyphénols. Cependant, les données disparates sur les effets des polyphénols vis-à-vis d'un large éventail de cancers (sein, prostate et digestif) montrent qu'il peut être fortement influencé par l'apport nutritif en lipides et en antioxydants et que l'huile d'argan contribue à la prévention du cancer de la prostate (Bennani et *al.*, 2009).

Récemment, les activités anti-cancérogènes de la curcumine, le resvératrol et l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) pour le traitement du cancer du col ont été révélées (Di et *al.*, 2012). Le resvératrol exerce son effet anti-cancer en agissant sur tous les stades de la cancérogenèse. Il a la faculté de potentialiser l'effet des chimiothérapies traditionnelles à

faible dose (Delmas et *al.*, 2006). De plus, il permet non seulement de prévenir un cancer mais aussi de lutter contre un cancer déjà déclaré (Kundu et Surh, 2008).

Par leurs effets inhibiteurs, le thé vert et noir, sont impliqués dans le traitement du cancer. Les polyphénols du thé de type flavan-3-ol sont des composés bioactifs puissants qui interfèrent avec l'initiation, le développement et la progression du cancer par des processus critiques (Lambert et *al.*, 2010 ; Yang et *al.*, 2013). D'autres études ont montré que la quercétine administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer est dotée d'une activité anticancéreuse (Hodgson et *al.*, 2010).

Les polyphénols déclenchent l'apoptose dans les cellules cancéreuses à travers la modulation d'un certain nombre d'éléments principaux en signal cellulaire (Link et *al.*, 2010). Les flavonoïdes engendrent l'inactivation des cancérogènes et l'inhibition des enzymes qui activent des procarcinogènes (Khan et *al.*, 2019). Les isoflavones du soja sont qualifiés de phyto-oestrogènes grâce à leur affinité pour les récepteurs des oestrogènes. La quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques ou inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée (Saleh, 2011).

### 6.1.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réaction utile à l'organisme qui lui permet de se défendre contre une agression par des agents pro-inflammatoires d'origine virale, bactérienne ou autre (les lipoprotéines oxydées, marqueurs du stress oxydant). Elle est régulée afin de limiter les altérations des biomolécules de l'hôte. Néanmoins, une régulation inappropriée de ce phénomène peut engendrer un état inflammatoire chronique et la plupart des pathologies chroniques possèdent une composante inflammatoire parmi lesquelles on peut citer l'obésité, le diabète de type II, les maladies cardiovasculaires et le cancer (Hotamisligil, 2006).

Les polyphénols diminuent les marqueurs de l'inflammation et agissent comme modulateurs au centre des voies de signalisation de l'inflammation sur de nombreuses cibles moléculaires. Chez l'homme sain, le suivi d'un régime riche en fruits et légumes est inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma et la consommation d'anthocyanes diminue le taux de cytokines circulantes (Lenoir, 2011). Les flavonols accélèrent la réparation des tissus au niveau moléculaire pour prévenir de la douleur musculaire. Spécifiquement, ils inhibent l'enzyme NOS responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique, qui est un déclencheur chimique de l'inflammation (Scalbert et *al.*, 2005).

#### 6.1.4. Activité anti-cardiovasculaire

Les polyphénols participent à la lutte contre les maladies cardiovasculaires. En effet, un grand apport de flavonoïdes tirés des fruits et des légumes corrèle avec la réduction du risque d'apparition de maladie cardiovasculaires (Adriouch et *al.*, 2017).

Parvenus au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'athérosclérose. Ils inhibent également l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui provoque l'occlusion des artères. En prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (Akroum, 2010).

Les polyphénols sous forme purifiée, comme le resvératrol, la berbérine et la naringénine, ont des effets bénéfiques sur la dyslipidémie chez les modèles humains et animaux. Un traitement à la naringénine atténue l'athérosclérose en corrigeant la dyslipidémie (Mulvihill et *al.*, 2010). Les coumarines sont des agents anticoagulants, antiagrégants plaquettaire et antiathérogènes, ce qui explique leur effet protecteur contre ces pathologies (Chang et *al.*, 2009 ; Zhou et *al.*, 2009).

Les flavonoïdes diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance (veino-actifs) (Bruneton, 2009), ce qui les implique dans le renforcement de l'élasticité et l'étanchéité des vaisseaux sanguins. Ils contribuent également à l'amélioration de l'irrigation et la dilatation des artères et régulent ainsi la tension artérielle, comme ils luttent contre l'altération des fibres de collagène, indispensable au maintien de la santé cellulaire (Mulvihill et *al.*, 2010). Les flavonoïdes de l'argousier (les leucocyanidines, la catéchine et les flavonols) normalisent le rythme cardiaque (Li et Beveridge, 2004). Parmi les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces on trouve : l'apigénine, lutéoline, kaempferol et lagénisteine (Xiuzhen et *al.*, 2007).

Les rapports épidémiologiques ont démontré que les fortes prises de quercétine et de kaempférol réduisent le taux de mortalité due à des accidents cardiaques de type ischémie, dans lesquels peuvent être mises en cause les plaques d'athérome (Knekt et *al.*, 2002).

### 6.1.5. Activité antivirale

Les polyphénols sont des composés naturels qui possèdent des activités antivirales avec des résultats prometteurs. Récemment, il a été rapporté que la photothérapie avec des polyphénols constitue une approche puissante pour la prévention et le traitement antiviral de la maladie COVID-19 (Levy et *al.*, 2020).

Le thé noir contient en quantité importante des théaflavines qui sont des polyphénols antioxydants. Ceux-là inhibent l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) de manière dose-dépendante à un stade précoce de l'infection. L'action des théaflavines est due à leur effet direct sur le virus et à l'inhibition de sa propagation (Chowdhury et *al.*, 2018).

Dans les coronavirus, un rapport récent a montré que les théaflavines inhibaient l'activité de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) en bloquant le site actif du SARS-CoV-2 (Lung et *al.*, 2020). Un fort apport nutritif en flavonols et flavones est inversement corrélé aux taux de mortalité par maladies coronariennes (Hollman et *al.*, 1999). Aujourd'hui, les aliments comme le thé, pomme, orange, cacao sont fortement consommés en vue de leur richesse en polyphénols pour une bonne protection contre les maladies coronariennes (Li et *al.*, 2020).

### 6.1.6. Protection contre les maladies neuro-dégénératives

Les polyphénols présentent un intérêt considérable par leurs effets neuro-protecteurs, en tant qu'antioxydants (Hartman et *al.*, 2006). Des études soutiennent leur rôle dans la prévention des maladies neurodégénératives, particulièrement de la maladie d'Alzheimer, et la maladie de Parkinson qui représentent un problème croissant associé au vieillissement cérébral, principalement parce que la prévalence de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson augmente avec l'âge. Ces maladies et d'autres, semblent être déclenchées par des événements multifactoriels, notamment la neuro-inflammation, l'augmentation du stress oxydatif et l'épuisement du fer et/ou des antioxydants endogènes. De plus, la consommation régulière d'aliments riches en flavonoïdes est liée à un risque de démence réduit de 50 %, au maintien des capacités cognitives avec l'âge, à l'apparition retardée de la maladie d'Alzheimer et à un risque réduit de maladie de Parkinson (Vauzour et *al.*, 2010).

La curcumine peut perturber les plaques séniles et restaurer les neurites déformées dans les souris model de la maladie d'Alzheimer (Masters et *al.*, 1985).

Le resvératrol exercerait des effets neuro-protecteurs selon plusieurs études (Richard et *al.*, 2011) car il entre dans la circulation sanguine après la formation de conjugués

glucuronides et peut facilement traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Baur et Sinclair, 2006).

Les aliments ou les boissons dérivées de baies telles que le raisin, le thé ou les myrtilles ont montré une amélioration de la mémoire et de la cognition. Cependant, les propriétés antioxydantes des flavonoïdes contenus dans ces aliments ne semblent pas suffisantes pour expliquer leurs effets bénéfiques sur le cerveau, d'autant plus que les composés se retrouvent à des concentrations relativement faibles à ce niveau. Il a donc été suggéré que les polyphénols pourraient agir en protégeant les neurones fragiles, en stimulant la fonction neuronale et le flux sanguin, et en favorisant la neurogenèse (Lenoir, 2011).

#### **6.1.7. Effets antiallergiques**

Les flavonoïdes inhibent les enzymes AMP cyclique -phosphodiesterases et ATPase  $Ca^{2+}$  dépendantes, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles, ce qui leur confère un effet antiallergique. Il a été montré que la quercétine inactive l'enzyme ATPase  $Ca^{2+}$  dépendante, rendant son action supérieure à celle du cromoglycate de sodium utilisé comme traitement antihistaminique (Di et al., 1999).

#### **6.1.8. Activité antidiabétique**

L'administration de polyphénols peut avoir des vertus préventives et curatives sur le diabète et les troubles qu'il provoque. Ceux-là inhibent l'absorption du glucose au niveau intestinal ou encore son assimilation dans les tissus périphériques en plus de leur capacité à séquestrer les radicaux libres (Kadiata et al., 2022).

Ils peuvent également réguler le métabolisme des glucides et des lipides, diminuer l'hyperglycémie, la dyslipidémie et la résistance à l'insuline, améliorer le métabolisme du tissu adipeux, et affaiblir les voies de signalisation sensibles au stress oxydatif et les processus inflammatoires (Bahadoran et al., 2013).

Les effets anti-diabéto-gènes et cytoprotecteurs des flavonoïdes, en particulier la quercétine, se traduisent par un effet positif sur l'insulinosécrétion des cellules  $\beta$  et la glycémie. Cet effet est dû au pouvoir antioxydant et cytoprotecteur des composés phénoliques et à la production réduite du MDA en empêchant la lipoperoxydation et la normalisation du niveau cytosolique des systèmes antioxydants (superoxyde dismutase « SOD », glutathion peroxydase « GSH », catalase « CAT ») (Kebièche et al., 2011).

La consommation de 400 mL de café décaféiné n'affecte pas la glycémie lorsqu'il est ingéré avec du glucose. Cependant, il réduit la sécrétion du polypeptide insulino-tropique glucose-dépendant (GIP) et augmente la sécrétion du glucagon, retardant ainsi l'absorption du glucose (Johnston et *al.*, 2003). Chez les patients diabétiques de type II, la prise de 50 mg/j d'un complément alimentaire contenant des anthocyanes, des flavones et des acides phénoliques d'orange sanguine pendant 2 mois n'a pas d'effet sur la glycémie (Bonina et *al.*, 2002). Il a été observé aussi que la consommation de café (riche en acide chlorogénique) est liée à un risque réduit de diabète de type II (Van Dam et *al.*, 2002).

### 6.2. Chez les végétaux

Dans la nature, les polyphénols sont un moyen de lutte contre d'éventuels prédateurs ou compétiteurs et jouent des rôles physiologiques importants (interactions Légumineuses/Rhizobium, filtres UV). Ils protègent également les plantes des diverses agressions (champignons, insectes, UV) et leur confèrent une couleur appétissante; caractéristique d'une sous-classe des flavonoïdes (El gharras, 2009).

La quantité de tanins présente dans le bois permet une résistance des ligneux contre les champignons de pourritures. L'amertume du cacao et de l'astringence induite par les tanins intervient dans la répulsion des herbivores (Bruneton, 1999).

La lignine, constituante du bois, joue un rôle de soutien structurel par sa rigidité qui permet la croissance verticale des plantes et le transport de l'eau par capillarité à toutes les cellules ainsi que la protection puisqu'elle est très difficile à digérer par les herbivores (Philogene et *al.*, 2008).

Les composés phénoliques peuvent aussi affecter positivement ou négativement les caractéristiques sensorielles des aliments (Oliveira et *al.*, 2014). Les anthocyanes sont des pigments naturels, induisant toutes les couleurs, bleu, rose, rouge des fruits et légumes. Quant aux flavonoïdes (les anthocyanes, les aurones et les chalcones), ils sont responsables de la saveur et de la coloration du pollen, des fleurs et des fruits. Ces pigments sont considérés comme des signaux visuels aux insectes pollinisateurs (Morand, 2014).

---

# **Chapitre III :** **Activité antimicrobienne**

---

### 1. Activité antibactérienne

L'usage excessif des antibiotiques a conduit à la sélection de populations microbiennes résistantes. Il s'agit de la capacité des bactéries à résister aux effets des antibiotiques ou des biocides censés les contrôler ou les tuer (Mégraud, 2017), ce qui a orienté les recherches vers de nouveaux agents antimicrobiens aussi efficaces que les médicaments synthétiques et largement acceptés par l'organisme. Ces agents sont appelés drogues végétales (García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009).

Les flavonoïdes figurent parmi les métabolites produits par les plantes en réponse aux infections microbiennes. Par conséquent, il n'est pas surprenant qu'ils se soient révélés in vitro être des substances antibactériennes efficaces contre une variété de microorganismes grâce à leurs diversité structurale (Cowan, 1999).

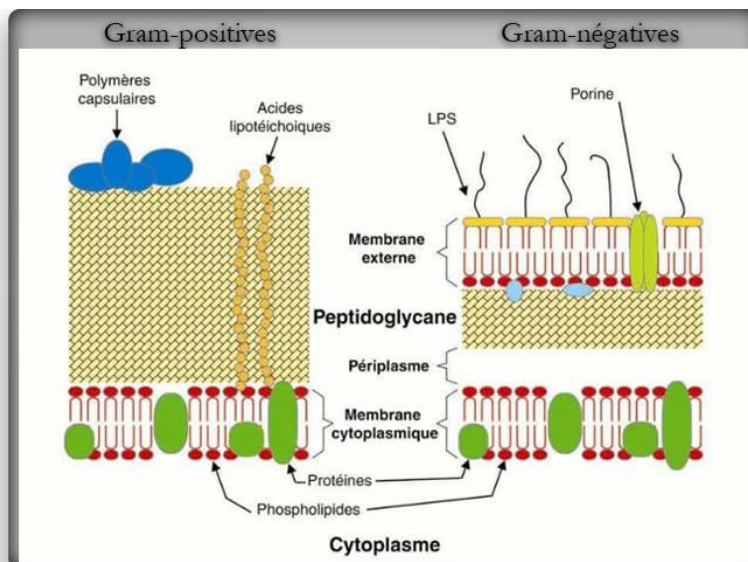
Comparés à d'autres polyphénols, les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention en raison de leurs puissantes activités antimicrobiennes (Daglia, 2011). Ils ont pour effet, l'inhibition de la synthèse d'ADN, d'ARN et des protéines (Ulanowska et al., 2008). Ils ont la faculté de supprimer de nombreux facteurs de virulence microbienne, tels que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte, la neutralisation des toxines bactériennes et leur capacité à établir une synergie avec certains antibiotiques (Daglia, 2011).

Chung et Wei (2001), ont découvert que l'acide tannique inhibe la croissance des bactéries des aliments et des bactéries intestinales humaines ainsi que différentes levures dont *Saccharomyces cerevisiae*. Les coumarines ont également une activité antibactérienne importante contre *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* (Nitiema et al., 2012).

Les composés phénoliques agissent différemment sur la paroi des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, leurs action sur ces dernières est dissemblable. Cependant, les bactéries Gram-négatives sont plus résistantes aux actions des polyphénols. Ceci est dû aux différences de la composition de la paroi cellulaire et entrave les connexions des polyphénols aux couches de peptidoglycane de ces micro-organismes (Cui et al., 2012).

Pour rappel, la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives est constituée d'une fine couche de peptidoglycane et de la membrane externe composée d'une bicouche

phospholipidique et de protéines et, sur son feuillet externe contient des lipopolysaccharides (LPS). Chez les bactéries Gram-positives, la paroi cellulaire est composée d'une épaisse couche de peptidoglycane et d'acides lipotéichoïques (**Figure 18**) (Brown *et al.*, 2015).



**Figure 18:** schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries (Boutaric *et al.*, 2013).

Les flavones, les flavonoïdes et les flavonols sont des substances antimicrobiennes efficaces contre une variété de micro-organismes en raison de leur capacité à complexer les parois cellulaires microbiennes (Cowan, 1999 ; Zhao *et al.*, 2002).

Dernièrement, l'interaction des flavan-3-ols du thé vert avec la paroi cellulaire bactérienne a été largement étudiée pour leur potentiel antibactérien. Le gallate d'épigallocatechine (EGCG), un polyphénol présent dans le thé vert, se lie directement au peptidoglycane de *Staphylococcus aureus*, affectant l'intégrité cellulaire, et réduisant ainsi la tolérance de la cellule à la fois à une force ionique élevée et à une faible pression osmotique en raison des dommages de la paroi cellulaire (Zhao *et al.*, 2002).

Les extraits phénoliques de chicouté et de framboise sont capables de désintégrer la membrane externe de *Salmonella* en chélatant les cations divalents de la membrane externe ou en les insérant dans la membrane externe avec la substitution de cations stabilisants. L'ellagitanin du chicouté et de la framboise et l'acide ellagique de la canneberge sont responsables de l'activité antimicrobienne de ces baies (Nohynek *et al.*, 2006).

Les catéchines du thé, peuvent interagir avec les membranes bactériennes (Matsumoto *et al.*, 2012). Ces composés inactivent la toxine cholérique de *Vibrio cholerae* et inhibent les

glucosyltrans-ferases bactériennes isolées chez *Streptococcus mutans* (Nakahara et al., 1993). La quercétine, l'apigénine et la 3, 6, 7, 3,4-pentahydroxyflavone ont une activité inhibitrice contre l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Ohemeng et al., 1993).

Chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, l'interaction avec les protéines membranaires entraîne une perturbation de la bicouche lipidique, augmentant la perméabilité membranaire, affectant la fluidité membranaire, inhibant la respiration et modifiant les processus de transport des ions (Nazzaro et al., 2013).

La naringénine et le sophora flavanone G possèdent une activité antibactérienne intensive contre le SARM et les streptocoques. Ces flavonoïdes réduisent la fluidité des couches externes et internes des membranes (Tsuchiya et Inuma, 2000).

Les études menées sur l'activité antibactérienne de deux flavonoïdes, les licochalcones A et C, isolés des racines de *Glycyrrhiza inflata* (réglisse chinoise) contre *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* ont montré que la licochalcone A inhibe l'incorporation de précurseurs radioactifs dans les macromolécules (ADN, ARN et protéines). Cette activité est similaire à la façon dont les antibiotiques inhibent la chaîne respiratoire. Plusieurs exemples confirment la prouesse des phyto-constituants dérivés de plantes comestibles et médicinales en tant qu'agents antibactériens puissants (Maurya et al., 2012).

## 2. Activité antifongique

Différents extraits de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs in vitro vis-à-vis de neuf souches des champignons pathogènes et des mollusques *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et al., 2002).

Plusieurs types de champignons sont inhibés par les tanins. Les champignons filamenteux comme *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Chaetomium cupreum*, *Coniphora olivacea*, *Coriolus versicolor*, *Crinepellis perniciososa*, *Fomes annosus*, *Gloeophyllum trabeum*, *Merulius lacrymans*, *Penicillium*, *Poria monticola* et *Trametes hirsuta* sont inhibés par les tanins de différentes préparations végétales (Chung et Wei, 2001).

La plupart des composés terpéniques sont de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons: *Candida* (C.

*albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* et bien d'autres (Kalemba et Kunicka, 2003).

Pattnaik et al. (1997) ont testé cinq constituants aromatiques des huiles essentielles (le cinéole, le citral, le géraniol, le linalol et le menthol) pour leur activité antimicrobienne sur douze champignons (trois de type levure et neuf filamenteuses). Le citral et le géraniol étaient les plus efficaces (inhibition de l'ensemble des douze champignons), suivie par le linalol (inhibition de dix champignons), le cinéole et le menthol arrivent en dernier avec l'inhibition de sept champignons chacun.

### **3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui vise à déterminer l'effet antagoniste et inhibiteur des biomolécules des extraits dites antagonistes sur la croissance des microorganismes cibles.

#### **3.1. Évaluation de l'activité antibactérienne**

##### **3.1.1. Aromatogramme sur milieu solide**

L'aromatogramme, aussi appelé « la technique de diffusion sur gélose » consiste à imprégner des disques de papier Whatman déposés sur la surface d'une gélose appropriée déjà inoculés avec les bactéries à tester par une solution de l'antagoniste à tester, (extraits ou huiles). 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 ». Des disques témoins imprégnés de DMSO (contrôle négatif) et d'antibiotiques (contrôle positif) sont inclus dans les essais afin de vérifier leurs effets sur les souches bactériennes.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, l'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition (mm), et en fonction du diamètre d'inhibition autour des disques ou des puits ; la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (NCCLS, 2001).

##### **3.1.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée correspond à la plus petite des concentrations pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu. Sa détermination est indiquée par la méthode de diffusion sur disque. Une gamme de dilutions de différentes concentrations de l'extrait est réalisée avec de l'eau distillée, serviront à imprégner les

disques. Simultanément les suspensions bactériennes sont réalisées (la densité optique mesurée à 620 nm doit être comprise entre 0.08 et 0.1, ce qui correspond à une concentration de  $10^6$  UFC/mL). S'en suit l'ensemencement par écouvillonnage sur milieu Mueller Hinton par une des souches étudiées. Puis le dépôt de cinq disques imbibés de l'extrait (15µL/disque) avec une concentration décroissante. L'incubation se fait à 37°C pendant 24H (Dzomba et Muchanyereyi, 2012).

#### **3.1.1.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB représente la plus faible concentration du principe actif inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 18 heures d'incubation à 37°C. Les boîtes de Pétri dont les concentrations ayant montré une absence totale de la croissance bactérienne ont été sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales bactéricides et bactériostatiques. Les suspensions bactériennes correspondantes sont inoculées sur gélose pour déterminer l'activité exercée par les extraits sur les souches testées, où leurs croissances correspondant à l'activité bactériostatique, tandis que l'effet bactéricide est révélé par une gélose claire après incubation (Mayachiew et Devahastin, 2008).

#### **3.1.2. Aromatogramme sur milieu liquide**

Cette méthode consiste à saisir un disque de papier Whatman (6 mm) ; l'imprégner de 10 µL de l'extrait à tester et le déposer dans un tube contenant une suspension bactérienne à l'aide d'une pince stérile. Après incubation, à 37°C° durant 18 à 24 heures, mesurer la densité optique (DO) (Bosio et *al.*, 2000).

##### **3.1.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Cette technique consiste à ensemercer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration croissante en extrait de la plante. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en extrait capable d'inhiber la croissance de 90% de la population microbienne. Une microdilution des extraits à tester, est produite dans une microplaque contenant 20 µl DMSO, de manière à générer une gamme de dilution de base 2. La gamme de concentration est alors produite dans les 96 puits. 20 µl de l'extrait sont ajoutés dans le premier puits de chaque ligne à partir duquel est effectuée une dilution géométrique de base 2. Puis 160 µl de bouillon Mueller Hinton inoculé avec 20 µl d'une suspension bactérienne à  $10^6$  UFC.ml<sup>-1</sup> sont ajoutés à chaque puits. Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée.

Des puits contenant de bouillon Mueller Hinton inoculés par la souche déterminée sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le DMSO et BMH non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif. Après 18 heures d'incubation à 37°C, la CMI de l'extrait est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance microbienne. La lecture s'effectue en utilisant un indicateur coloré le 2, 3,5-diphenyltetrazolium chloride dilué dans de l'eau distillée stérile à l'ordre de 0,2 g.ml<sup>-1</sup>, par l'ajout de 40 µl de ce réactif suivit d'une incubation pendant 10 min à 37°C, le 2, 3,5-diphenyltetrazolium chloride révèle la présence de bactéries vivantes par l'apparition d'une coloration rouge (Eloff, 1998).

### **3.2.Évaluation de l'activité antifongique**

#### **3.2.1. Technique des disques**

Cette technique consiste à mettre dans la même boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud, un disque de champignon de 7 mm provenant d'une culture jeune déposé au centre avec deux disques de papier Whatman stérilisés et imprégnés avec 20 µL de chaque extrait déposés autour des disques fongiques à une distance égale à 2 cm (Patel et Brown, 1969).

Le témoin négatif est préparé en déposant un disque fongique au centre d'une boîte de Pétri contenant que le milieu approprié. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant sept jours.

#### **3.2.2. Technique de confrontation par contact direct**

20 ml du milieu PDA sont ajoutés à différentes quantités d'extraits bruts ou d'huiles essentielles. Ce mélange est coulé dans des boîtes de Pétri. Après séchage à la température ambiante, on inocule au centre de ces boîtes des disques de mycélium de chaque moisissure de 5 mm de diamètre provenant d'une culture de 5 à 7 jours. Après incubation à 25°C pendant 7 jours, la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones de croissances de l'hyphe par rapport au contrôle (Hussin et *al.*, 2009).

#### **3.2.3. Méthode des puits**

Cette technique est aussi bien utilisée pour l'activité antibactérienne ainsi qu'antifongique. Elle permet d'étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée: la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Sabouraud sont ensemencées aseptiquement par une suspension sporale qui provient d'une culture jeune de champignons. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boîtes, la gélose est creusée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les puits ainsi formés sont remplis de l'extrait phénolique à tester (environ 40  $\mu$ L par puits). Les boîtes sont mises à incubées à 30°C pendant 48h. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Ela et coll, 1996).

#### **3.2.4. Microatmosphère**

La démarche suivie est celle de Pibiri (2006):

- Ensemencement d'une gélose Sabouraud avec 1 mL de la suspension sporale du champignon à tester par inondation.
  
- Des disques de papier Whatman de 7 mm de diamètre sont imprégnés dans 20  $\mu$ L de l'extrait, et déposer stérilement sur le couvercle de la boîte. Laisser diffuser durant 1 heure.
  
- Incuber à 28 C°, durant 48 heures.

---

## **Matériel et méthodes**

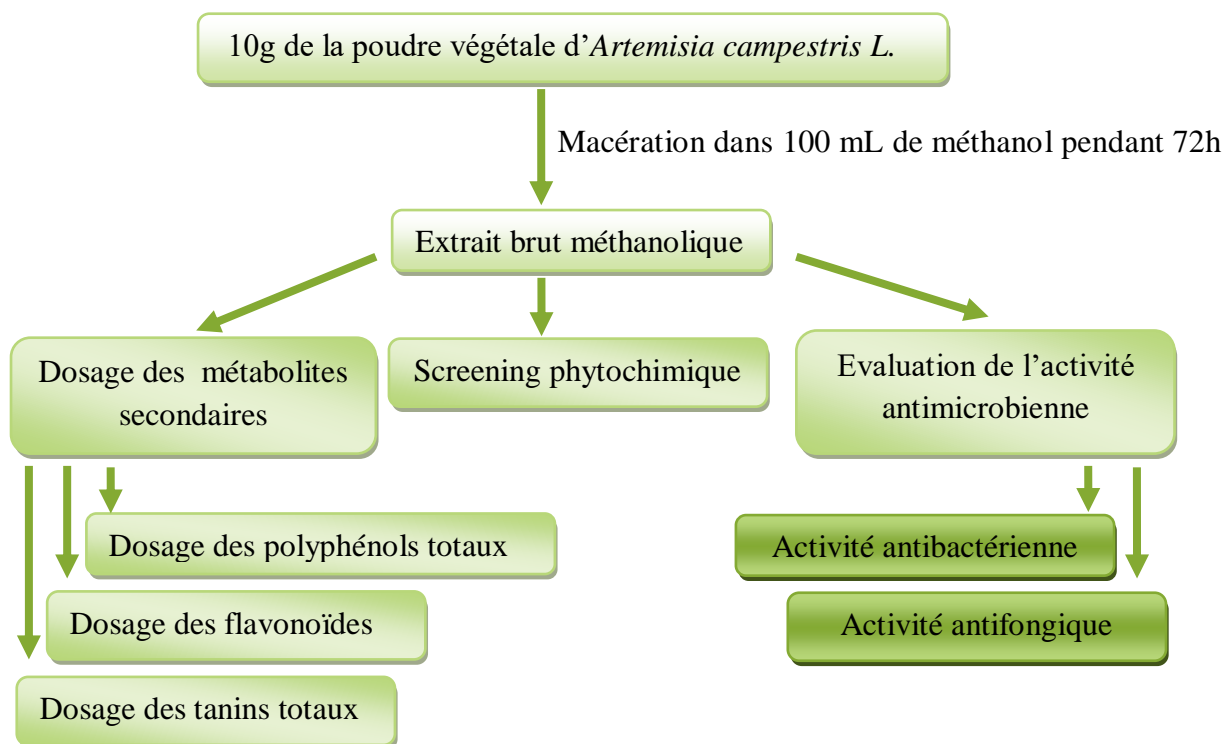
---

## 1. Matériel

Le présent travail a pour objet l'identification et la quantification des métabolites secondaires d'*Artemisia campestris L.*, ainsi que l'évaluation de son activité antimicrobienne.

Nos travaux expérimentaux ont été réalisés au sein du laboratoire de microbiologie appliquée dirigé par le professeur HOUALI K., situé au département sciences biologiques et agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou durant la période allant du mois de mai au mois de juillet 2022.

Un schéma des protocoles adoptés au cours de cette étude est présenté dans la **Figure 19**.



**Figure 19:** Diagramme du travail effectué.

### 1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes fraîches (tiges, feuilles, fleurs et graines) d'*Artemisia campestris L.* ont été collectées de façon aléatoire aux alentours de quatre stations différentes de la wilaya de Tébessa, située à l'extrême nord-est du pays à une altitude de 858 m, durant le mois de janvier 2022.

Après la récolte, nous avons écarté toute plante présentant une anomalie. Ensuite, elles ont été nettoyées puis séchées à l'air libre dans un endroit ombragé. Après une semaine de

séchage, la plante a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique puis conservée dans des bocaux hermétiques à l'abri de l'humidité.

L'origine des parties utilisées de la plante figurent dans le tableau ci-dessous :

**Tableau IV** : Provenance des différents extraits utilisés.

Nom donné à l'extrait	Origine	Climat	Organes végétaux utilisés
V3	Fedj El Botma (Commune El Aouinet)	Climat méditerranéen avec été chaud	Toute la partie aérienne de la plante a été destinée à l'extraction
V4	Remila (Commune El Kouif)	Climat semi-aride sec et froid	
R3	El Gabel (Commune Hammamet)	Climat semi-aride sec et froid	
R4	Henchir Zeroual (Commune d'Ouenza)	Climat méditerranéen avec été chaud	

### 1.2. Appareillage et Outillage

Tous les équipements utilisés, la verrerie du laboratoire ainsi que les outils liés à la microbiologie figurent dans le tableau ci-dessus :

**Tableau V** : Matériels utilisés.

Outillage	Appareillages
Flacons	Broyeur électrique
Tubes à essai	Bain marie
Béchers	Spectrophotomètre UV-visible
Passoire	Agitateur à plaque chauffante
Entonnoir	Agitateur a barreau magnétique non chauffant
Boites de Petri	Balance de précision
Pinces	Autoclave
Micropipettes	Bec bunsen
Seringues	Etuve
Pipettes Pasteur	Rota vapeur
Écouvillons	Hotte chimique
Erlenmeyer	Four pasteur
Papier Whatmann°1	
Papier aluminium	
Portoirs à tube	
Spatule	
para- film	
Embouts bleu et jaune	
Eprouvettes graduées	
Cuve	
Cristallisoirs	

### 1.3. Solvants et réactifs chimiques

Tous les réactifs chimiques et solvants utilisés sont mentionnés ci-dessous :

#### Solvants

Eau distillée ; méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ; acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ; éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).

#### Réactifs

Chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) ; réactif de Stiasny (10 mL de formol à 40% + 5 mL d'acide chlorhydrique concentré) ; acétate de sodium ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ) ; alcool iso-amylique ( $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ ) ; copeaux de magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) ; acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ) ; ammoniacque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) ; chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ) ; réactif d'amidon ; hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) ; réactif de Valser-Mayer (5 g d'iodure de potassium KI et 1,358 g de chlorure de mercure  $\text{HgCl}_2$  solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) ; réactif de Wagner (2 g d'iodure de potassium KI et 1,27 g d'iodure  $\text{I}_2$  solubilisé dans 100 ml d'eau distillée) ; chloroforme ( $\text{CHCl}_3$ ) ; anhydride acétique ; réactif Follin-Ciocalteu ; Carbonate de Sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ; acide gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ) ; nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) ; trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) ; quercétine ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ) ; vanilline ; catéchine ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ).

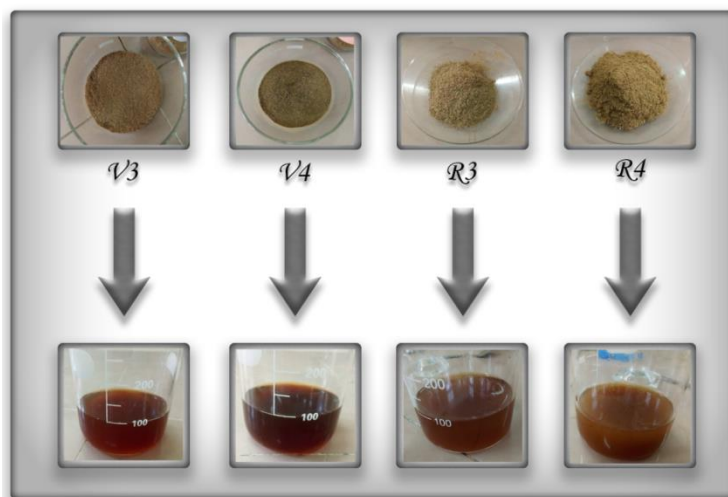
## 2. Méthodes d'analyse

### 2.1 Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un test qualitatif de caractérisation des composés chimiques existant dans les végétaux. Les tests y sont basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation (Badiaga, 2011).

#### 2.1.1 Préparation de l'infusé

L'infusion est une méthode d'extraction de principes actifs par dissolution dans l'eau bouillante. Pour ce, nous avons mis 5 g de poudre végétale sèche dans 100 mL d'eau distillée bouillante. Après 15 minutes d'infusion; nous avons filtré sur papier et ajusté le filtrat à 100 mL d'eau distillée (infusé à 5%) (Harbone, 1998) (**Figure 20**).



**Figure 20:** Photo représentative des infusés issus des différentes poudres végétales d'*Artemisia campestris L.*

### 2.1.2 Criblage des Tanins totaux

5ml d'infusé est ajouté à 1 mL d'une solution aqueuse de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1%. Un test est révélé positif par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indiquant la présence des tanins totaux (Bentabet, 2015).

#### ✓ Différenciation des tanins

Elle est obtenue grâce au réactif de Stiasny (**Annexe 02**). 15ml de ce dernier sont additionnés à 30 mL de l'infusé. L'ensemble est chauffé au bain-marie à  $90^\circ\text{C}/15$  mn. La formation d'un précipité montre la présence de tanins catéchiqes. Filtrer et saturer la solution obtenue par l'acétate de sodium pulvérisé et 1 mL d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. L'apparition d'une teinte bleu noire indique la présence des tanins galliques (Mibindzou, 2004).

### 2.1.3 Criblage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. À 5 mL d'infusé, 3 mL de réactif de Shinoda sont ajoutés avec 2 à 3 copeaux de magnésium. L'ajout de 1 mL d'alcool iso-amylque provoque l'apparition d'une coloration rose-orangé, rouge ou rose-violacée dans la couche surnageant, confirmant la présence de flavonoïdes (Azzi, 2012).

### 2.1.4 Criblage des anthocyanes

Tester 5 mL d'infusé avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) ou ammoniacque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) entraînent respectivement une coloration rouge avec l'HCl et bleue avec l'ammoniacque en présence d'anthocyanes (Bentabet, 2015).

### 2.1.5 Criblage des coumarines

Le test consiste à placer 2 mL de l'infusé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10%. Agiter la solution et observer l'apparition d'une couleur jaune montre la présence de coumarines (Diallo, 2000).

### 2.1.6 Criblage de l'amidon

Chauffer 5 ml de l'infusé avec 10 mL d'une solution de chlorure de sodium (NaCl) saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition. Ajouter quelques gouttes du réactif d'amidon. L'apparition d'une couleur bleue violacée révèle un test positif (Bentabet, 2015).

### 2.1.7 Criblage des quinones

Nous avons ajouté 2 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1% à 1 mL de l'infusé. Agiter énergiquement. L'apparition rapide ou lente d'une coloration rouge-orange indique la présence des quinones (Dohou et *al.*, 2003).

### 2.1.8 Criblage des Alcaloïdes

Nous avons préparé une macération de 24h par 10 g de la poudre végétale et 50 mL de l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 10 %. Filtrer et ajuster le volume à 50 mL avec de l'eau distillée. Prélever ensuite 1 mL du filtrat dans deux tubes. Un tube est traité avec 5 gouttes du réactif de Valsler-Mayer (**Annexe 02**) et l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner (**Annexe 02**). L'apparition respective d'un précipité blanc- jaunâtre et d'un précipité brun confirme la présence des alcaloïdes (Azzi, 2012).

### 2.1.9 Criblage des Saponosides

Nous avons ajouté 2 mL d'eau à 2 mL de l'infusé puis la solution est vivement agitée. La formation d'une mousse constante (hauteur d'au moins un centimètre) dont l'épaisseur est mesurée à l'aide d'une règle graduée affirme un test positif (Bekero et *al.*, 2007).

### 2.1.10 Criblage des Stérols et des polyterpènes

Nous avons lancé une macération de 24h dans l'éthanol à 5%. Après filtration, le solvant est évaporé et le résidu est récupéré par 10 mL de chloroforme anhydride.

- ✓ **Test de Liebermann-Buchard** : 5 mL de la solution chloroformique est mélangée avec 5 mL d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique, le mélange est vigoureusement secoué. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert confirme la présence des hétérosides stéroïdiques.

- ✓ 5 mL d'extrait est mélangé avec 2 mL de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) et 3 mL d'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Une couleur rouge brunâtre de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (Yam et *al.*, 2009).

### 2.2 Préparation des extraits méthanoliques bruts

10 g de chaque poudre végétale d'*Artemisia campestris L.* sont trompés dans 100 ml de méthanol absolu pendant 72 h. Les macérats obtenus sont filtrés à l'aide d'un papier Whatmann<sup>o</sup>1 puis évaporé à l'aide d'un rotavapeur à 60°C. Le résidu sec obtenu sera repris par 5ml de méthanol. Les extraits alcooliques ainsi prêts, sont conservés au frais (4°C) pour toutes utilisations ultérieures (Ghedadba et *al.*, 2015).

#### 2.2.1 Rendement d'extraction

Le rendement(%) désigne le rapport entre la masse de l'extrait sec après évaporation du solvant et la masse initiale de la plante en cours d'extraction (Ghedadba et *al.*, 2015). Il est estimé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{La masse de l'extrait sec (g)}}{\text{La masse de l'échantillon végétal utilisé (g)}} \times$$

### 2.3 Dosage des composés phénoliques

Le dosage phytochimique est un test de détermination quantitative des principaux groupes de métabolites secondaires basé sur un dosage colorimétrique réalisé par un spectrophotomètre (Boizot et *al.*, 2006).

#### 2.3.1 Dosage des polyphénols totaux (PPT)

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée selon la méthode colorimétrique du Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999).

Nous avons prélevé 200 µL de chaque extrait (dilué au 1/100 dans l'eau distillée) dans un tube à essai, auquel nous avons additionné 1 mL du réactif Follin-Ciocalteu (FCR) dilué dix fois dans l'eau distillée. Après cinq minutes, 800 µL de Carbonate de Sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5 % sont ajoutés au mélange qui sera agité puis porté à incubation à température ambiante pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc.

Notons que le même protocole est suivi pour établir la courbe d'étalon d'acide gallique. La concentration des polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg d'EAG/g MVS) (Hatami et *al.*, 2014).

### 2.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

La teneur totale en flavonoïdes est déterminée par la méthode de (Kosalec et *al.*, 2004). Brièvement, 500 µL de l'extrait méthanolique dilué sont mélangés avec 1500 µL d'eau distillée, suivis de 150 µL de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5%. Après 5 min, 150 µL de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% sont additionnés au mélange suivi de l'ajout de 500 µL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% après 6 min. La solution est immédiatement agitée puis son absorbance est mesurée à 510 nm contre un blanc.

La concentration des flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg d'EQ/g MVS) en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement préparée avec la quercétine comme standard (Hoffmann et *al.*, 2011).

### 2.3.3 Dosage des tanins condensés (TCs)

La quantification des tanins condensés a été effectuée par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

Un volume de 50 µL de l'extrait brut a été ajouté à 1500 µL de la solution vanilline/méthanol à 4% puis vortexé. Ensuite, on additionne 750 µL de l'acide chlorhydrique concentré (HCL). Le mélange réactionnel est incubé à température ambiante pendant 20 min et l'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage établit en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard. La concentration est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg d'EC/g MVS).

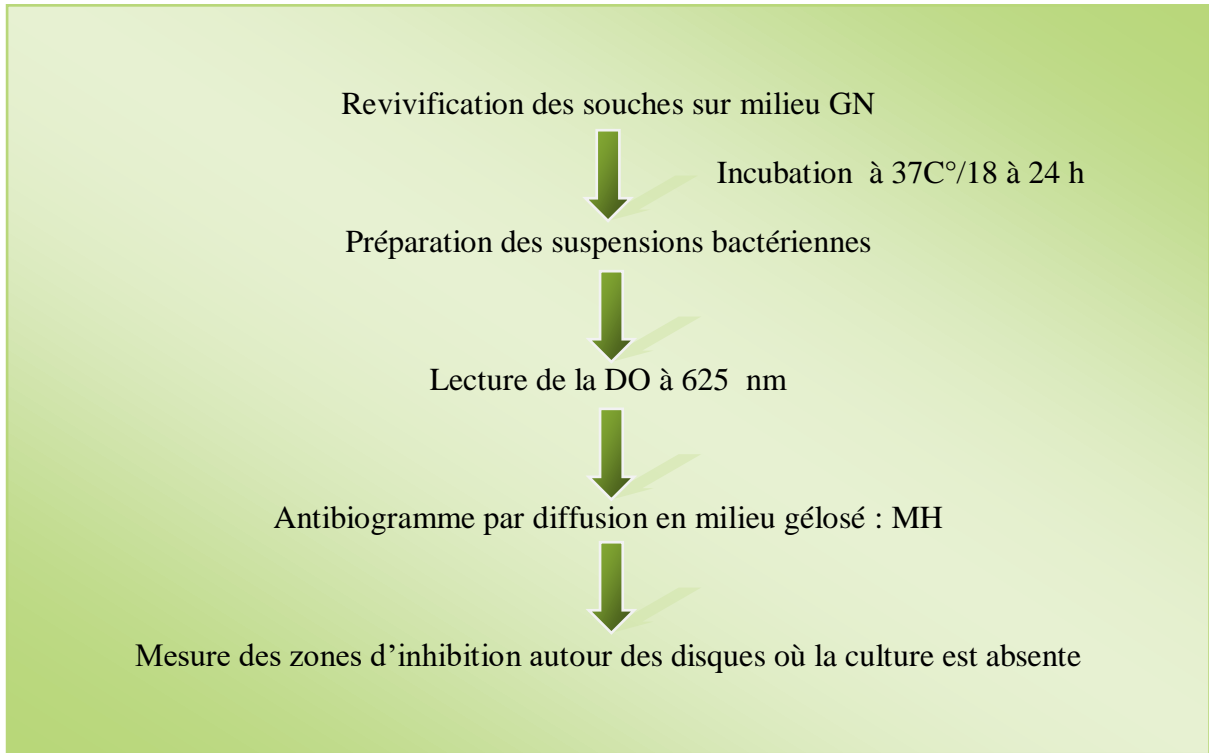
## 2.4 Activité biologiques des extraits polyphénoliques

### 2.4.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris L.* a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (NCCLS, 2001).

Les souches de référence utilisées appartiennent au laboratoire de microbiologie (*Staphylococcus aureus* MU 50, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14575, *Escherichia coli* ATCC 25922°).

Le schéma suivant détaille le protocole utilisé (**Figure 21**).



**Figure 21:** Schéma illustrant le protocole de l'activité antibactérienne.

#### **2.4.1.1 Revivification des souches**

Les différentes souches bactériennes étant conservées à des températures avoisinant les  $-20^{\circ}\text{C}$ , requièrent une revivification par la méthode des stries sur des boîtes de Petri préalablement coulées par le milieu gélose nutritive suivi par une incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 18 à 24 heures en vue d'obtenir une culture jeune.

#### **2.4.1.2 Préparation de l'inoculum bactérien**

L'inoculum a été préparé à partir de la pré-culture préalablement repiquée sur le milieu gélose nutritive. À l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies ont été prélevées puis introduites dans des tubes à essai contenant 10 mL de l'eau physiologique stérile. Après homogénéisation de la suspension bactérienne, sa densité optique lue à 625 nm doit être comprise entre [0.08-0.1], ce qui correspond à  $10^8$  UFC /mL (NCCLS, 2001).

#### **2.4.1.3 Méthode de diffusion sur disque**

Les boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton ont étéensemencées par un écouvillon stérile immergé dans la suspension bactérienne à tester ; l'opération a été répétée trois fois, en tournant la boîte de  $90^{\circ}$  sans oublier de faire passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'activité antibactérienne des extraits a été mise en évidence par l'emploi d'un

disque d'antibiotique (Gentamicine) déposé sur la gélose à l'aide d'une pince stérile en tant que témoin positif et d'un disque de papier Whatman n°1 imbibé de méthanol comme témoin négatif.

Des disques de papier Whatman n°1 stérilisés sont imprégnés de 10 µL d'extrait polyphénoliques ont été appliqués sur la surface d'un milieu préalablement ensemencé.

Chaque essai a été répété trois fois dans les mêmes conditions d'expérimentation. Les boîtes ont été conservées au frais (4C°) pendant 2 heures avant d'être incubées pour une pré-diffusion.

Les zones d'inhibitions des différents extraits autour des disques ont été mesurées après 24 heures d'incubation à 37°C.

### 2.4.1.4 Lecture

La présence de l'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des disques où la culture est absente. Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés et peuvent être symbolisés par des signes. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible vis-à-vis des extraits comme suit (Ponce et *al.*, 2003):

- ✓ Non sensible (-) ou résistante: diamètre < 8 mm
- ✓ Sensible (+): diamètre compris entre 9 à 14 mm
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm
- ✓ Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 mm.

### 2.4.2 Activité antifongique

L'activité antifongique a été testée par la méthode de contact direct sur milieu gélosé (Hussin, 2009).

Deux champignons ont été testés à savoir *Alternaria* sp. et *Aspergillus niger* (**Annexe 04**).

Le milieu à extrait de malt a été utilisé pour déterminer l'activité antifongique de nos quatre extraits méthanoliques testés à divers concentration.

#### 2.4.2.1 Préparation de l'inoculum

Un disque fongique d'une culture pure de notre champignon testé (*Alternaria* sp. et *Aspergillus niger*) a été déposé au centre d'une boîte de Petri contenant la gélose à extrait de malt, puis incubé à 28C° pendant 7 jours.

### 2.4.2.2 Méthode de contact direct sur milieu gélosé

Différents volumes (300, 700)  $\mu$ L d'extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris L.*, sont mélangés avec 19 mL du milieu à extrait de malt en surfusion dans un tube à essai stérile. Après agitation, le contenu a été versé dans une boîte de Petri.

Une boîte contenant le milieu de culture et 1 mL de méthanol a été employée comme témoin négatif.

Un disque de champignon a été implanté au centre de chaque boîte (traitées et témoin), ces dernières sont ensuite incubées à 28C° pendant 7 jours.

### 2.4.2.3 Lecture

Le suivi de la croissance fongique a été effectué tous les jours jusqu'à la fin de la durée appropriée d'incubation où l'on procède à la mesure du diamètre du champignon pour estimer le taux d'inhibition, calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition du mycélium} = (MI_c - MI_t) / MI_c \times 100$$

**MI c** : diamètre de champignon dans la boîte témoin ;

**MI t** : diamètre de champignon dans les boîtes contenant les extraits.

L'extrait est qualifié de :

- Très actif : inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est très sensible ;
- Actif : inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est sensible ;
- Moyennement actif : inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est limite ;
- Peu ou pas actif : inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est peu sensible ou résistante.

---

## **Résultats et discussion**

---

### 1. Résultats du screening phytochimique

Les résultats de l'analyse chimique qualitative des extraits hydriques d'*Artemisia campestris* L. sont consignés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VI:** Résultats du criblage chimique des extraits aqueux d'*Artemisia campestris* L.

Métabolites testés	Extraits aqueux				Indicateur de présence
	V3	V4	R3	R4	
<b>Tanins totaux</b>	+++	+++	+++	+++	Couleur bleu noirâtre pour V3 et V4 et verdâtre pour R3 et R4
<b>Tanins catéchiques</b>	+++	+++	+	+	Formation d'un précipité
<b>Tanins galliques</b>	+++	+++	+++	+++	Teinte bleu noirâtre
<b>Flavonoïdes</b>	+++	++	++	++	Surnageant de couleur rouge
<b>Anthocyanes</b>	++	++	-	-	Couleur rouge pour V3 et V4 Et aucun changement pour R3 et R4 avec l'acide chlorhydrique
	-	-	-	-	Aucune couleur avec l'ammoniaque
<b>Alcaloïdes</b>	++	+++	++	+++	Présence d'une turbidité et d'un précipité avec le réactif de Mayer ainsi que Wagner
<b>Coumarines</b>	+++	+++	+++	+++	Couleur jaune
<b>Quinones</b>	+++	+++	+++	+++	Couleur rouge orange
<b>Amidon</b>	-	-	-	-	Aucun indicateur
<b>Saponosides</b>	++	+	+	+	Hauteur de mousse persistante
<b>Stérols et polyterpènes</b>	+++	+++	++	++	Couleur violacée fugace virant au vert dans le 1 <sup>er</sup> test et une Couleur rouge marron dans le second test

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

**V3:** Fedj El Botma (commune El Aouinat) ; **V4:** Remila (commune El Kouif) ;  
**R3:** El Gabel (commune Hammamet) ; **R4:** Henchir Zeroual (commune d'Ouenza).

Les résultats des tests préliminaires montrent que la plante testée est riche en principes actifs, excepté l'amidon dans les quatre extraits et les anthocyanes dans les extraits R3 et R4. Concernant les autres métabolites secondaires testés (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines, quinones, saponosides, Stéroïdes et polyterpènes), les résultats se sont révélés positifs avec une intensité diversifiée d'un extrait à un autre (**Annexe 03**).

Selon Boudjouref (2020), les essais phytochimiques effectués sur les extraits aqueux et méthanoliques de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* de deux régions, Boussaâda et Oum El Bouaghi, ont révélé l'abondance des flavonoïdes, tanins et des saponosides ; ce qui concorde avec nos résultats. Les anthocyanes sont également présents tandis qu'ils ont été moyennement détectés dans les extraits V3 et V4 et absents dans le R3 et R4. À propos des alcaloïdes, ils étaient absents dans leurs extraits mais abondants dans les nôtres.

L'étude menée par Naili et al. (2010) sur la plante *Artemisia campestris L.* collectée au sud de la Lybie indique qu'elle renferme des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes et des terpènes, alors que les tanins sont complètement absents, ce qui est en accord avec nos résultats à l'exception des tanins qui sont très abondants dans notre plante.

Les résultats des tests colorimétriques présentés par Benchohra et al. (2022) montrent que les alcaloïdes et les coumarines sont modérément détectés, tandis que les flavonoïdes sont présents en grande quantité dans les extraits hydro-éthanoliques des feuilles, tiges et des racines d'*Artemisia campestris L.* de la région d'El Bayadh. Cela est cohérent avec nos résultats.

Les résultats obtenus confirment l'étude phytochimique qualitative effectuée sur l'espèce *Artemisia campestris L.* de la région d'El Hamel-M'sila, qui montre la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, terpenoïdes, en plus des anthraquinones libres trouvés dans leurs extraits (Elbidi, 2016).

Si nous comparons nos résultats à l'étude menée par Aissaoui et al. (2020) sur la même plante de la région de Hamaysa-Oued Souf, on constate que notre plante est plus riche en métabolites secondaires comparée à celle-ci, où ils ont détectés que les tanins et les saponosides parmi tant d'autres composés testés.

La diversité dans la composition chimique de cette plante est peut-être due à la différence climatique, l'origine, l'altitude, l'âge et la période de cueillette, la durée et la température du séchage ainsi que la partie utilisée du végétal (Bruneton, 2009).

## 2. Rendement des extractions

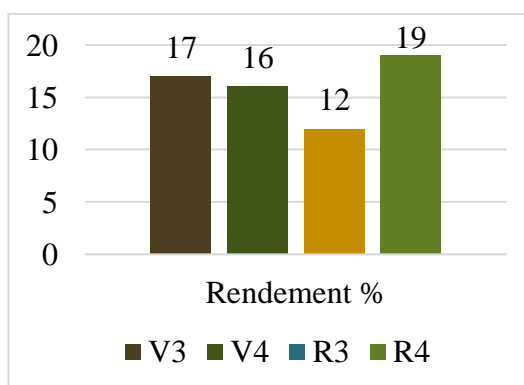
Les quatre extraits bruts ont été obtenus par macération de la poudre de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* dans le méthanol comme solvant d'extraction.

Exprimé en pourcentage de masse du résidu sec obtenu après macération par rapport à la masse de la poudre initiale utilisée, les rendements obtenus, ainsi que les aspects et les couleurs des différents extraits figurent dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VII:** Rendement, aspect et couleur des extraits d'*Artemisia campestris L.*

Extraits	V3	V4	R3	R4
<b>Rendement%</b>	17%	16%	12%	19%
<b>Aspect</b>	Pâte collante	Pâte collante	Pâte collante	Pâte collante
<b>Couleur</b>	brune foncée	vert empire	marron ambré	vert Véronèse

La représentation graphique des résultats est illustrée comme suit :



**Figure 22:** Rendements des extractions méthanoliques des échantillons d'*Artemisia campestris L.*

Conformément aux résultats illustrés dans le tableau et l'histogramme, l'extrait méthanolique R4 de la région de Henchir Zeroual a le rendement le plus élevé estimé à 19%, suivi de l'extrait V3 et V4 des deux régions, Fedj El Botma et Remila, avec des ratios de 17% et 16%, respectivement. En revanche, l'extrait R3 de la région d'El Gabel a fourni le pourcentage le plus bas (12%), bien qu'il soit de la même espèce.

Les extraits présentent majoritairement un aspect pâteux, de couleur qui varie du vert au marron. Cela est dû à la présence des pigments végétaux ou bien à la nature des polyphénols entraînés par le méthanol et à leur solubilité dans celui-ci.

L'extrait méthanolique des parties aériennes d'*Artemisia campestris L.* de la région de Boussaâda a permis d'obtenir un rendement qui égale à 15,68 %, un résultat proche à celui trouvé à notre extrait V4 de la région de Remila (16 %). Le rendement d'extraction de la même plante collectée de la région d'Oum El Bouaghi est de 6.36 %, ce pourcentage est plus faible à ceux trouvés dans nos quatre régions étudiées (Boudjoref, 2020).

Nos résultats sont meilleurs comparativement à ceux avancés par Belhattab (2011), où le rendement de l'extrait chloroformique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* de la région de Boussaâda est de 3.4 %, suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (2.26 %) puis l'extrait éthanolique avec un pourcentage faible égale à 0.48 %. Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents convenables à ceux qu'on a trouvé.

Selon Guerbas et al. (2022) le rendement de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* cueillie dans la région d'Al-Ma'adid, Wilaya de M'sila, a fournit un rendement d'un taux de 20.2 %. Ce dernier est plus élevé que les pourcentages d'extraction trouvés dans les quatres extraits testées.

Les variations des rendements ne sont que relatives et dépendent de la zone géographique, l'altitude, stade de croissance de la plante, des conditions pédoclimatiques et la fraîcheur du végétal. Ces valeurs sont également liées à la partie utilisée dans l'extraction, les conditions de séchage, la nature du solvant (Azmir et al., 2013), sa polarité, la modalité d'extraction (à chaud ou à froid), la durée et la température de macération, le broyat et la méthode de stockage (Koné et al., 2017) ainsi que de la composition chimique et des caractéristiques physiques des échantillons (Dai et Mumper, 2010).

### 3. Résultats des dosages biochimiques

Quatre extraits méthanoliques ont été caractérisés quantitativement par spectrophotométrie, afin de déterminer leurs teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.

#### 3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur totale en polyphénols est déterminée selon la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu mise au point par (Singleton et al., 1999). La coloration bleue obtenue est

proportionnelle à la quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits végétaux. Ce complexe coloré est quantifié par la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 760 nm.

Le contenu phénolique total dans les extraits est exprimé en terme d'équivalent d'acide gallique à partir l'équation de régression ( $y = 0,316x + 0,021$  ;  $R^2 = 0,986$ ) de la courbe d'étalonnage (**Annexe 04**).

Le **Tableau VIII** représente les résultats obtenus qui sont exprimées en (mg EAG/ g MVS).

**Tableau VIII:** Contenu phénolique total dans les extraits d'*Artemisia campestris L.*

Extraits	V3	V4	R3	R4
Concentration des PPT (mg EAG/g MVS)	2.75 ± 0,00	2.88 ± 0.002	1.15 ± 0,00	2.72 ± 0.006

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu voit sa couleur passer du jaune au bleu, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à la longueur d'onde de 760 nm (Huang et al., 2005).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que les extraits méthanoliques (V3, V4, R3, R4) de l'espèce *Artemisia campestris L.* possèdent une teneur de 2.75 ± 0.00, 2.88 ± 0.002, 1.15 ± 0.00, 2.72 ± 0.006 (mg EAG/g MVS), respectivement. La plus conséquente d'entre elles est détenue par l'extrait V4 de la région de Remila, nous pouvons donc déduire que c'est l'extrait qui est doté de la plus grande quantité de polyphénols. Contrairement à l'extrait R3 de la région d'El Gabel qui lui, détient la plus petite quantité de polyphénols.

Les résultats obtenus s'avèrent considérablement supérieurs à ceux de l'étude menée par Bentoumi et al. (2019) sur la même espèce végétale de la région d'Ouiltem de Boussaâda, qui relaye une concentration de 0,132 ± 0,004 (mg EAG/mg) d'extrait.

L'étude élaborée par Zeghdoud et al. (2018) témoigne une teneur de 12.681 ± 0.781 (mg EAG/gMS). Comparativement aux nôtres, on peut déduire qu'ils sont significativement supérieurs. Les plus grands résultats qu'on constate dans notre travail sont V3, V4, R4 et pourtant il existe un écart de ± 10 (mg EAG/gMS). Nos quatre rendements sont largement inférieurs à celui trouvé par Zeghdoud et al. (2018) qui est égale à 12.681 ± 0.781 (mg EAG/gMS).

La distribution des métabolites secondaires tels que les polyphénols peut changer au cours de la croissance de la plante. En effet, le contenu phénolique d'une plante dépend d'une série de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), les pratiques culturelles, la maturité à la récolte, le solvant d'extraction ainsi que les conditions et la durée de stockage. Ces différents paramètres stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires (Podsdek, 2007 ; Falleh et *al.*, 2008).

### 3.2. Teneur en flavonoïdes totaux (FVT)

La quantification des flavonoïdes a été faite selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et la soude (NaOH) qui forment un complexe rosâtre absorbant dans le visible à 510 nm (Kosalec et *al.*, 2004). La teneur en flavonoïdes est estimée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Annexe 05**) et les résultats sont résumés dans le **tableau IX** ci-dessous :

**Tableau IX:** Contenu en flavonoïdes dans les quatre extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris* L.

Extraits	V3	V4	R3	R4
Concentration des flavonoïdes (mg EQ/g MVS)	1.36 ± 0.023	1.92 ± 0.003	0.54 ± 0.003	1.33 ± 0.006

Notre étude rapporte des teneurs diversifiées entre les extraits méthanoliques V3, V4, R3, R4 qui sont 1.36 ± 0.023, 1.92 ± 0.003, 0.54 ± 0.003, 1.33 ± 0.006 (mg EQ/g MS), respectivement.

Les résultats montrent une variation conséquente dans la teneur en flavonoïdes. L'extrait le plus opulent est celui de la région de Remila (V4) avec une teneur de 1.92 ± 0.003 (mg EQ/g MS) et le plus faible est celui de la région d'El Gabel (R3) avec une teneur de 0.54 ± 0.003 (mg EQ/g MS).

Nos résultats sont largement supérieurs à celui de Boudjouref (2020), qui a trouvé une teneur de 13,72 ± 0,00 (µg EQ/mg d'extrait).

En plus, nos résultats se rapprochent plus ou moins de ceux trouvés par Zeghdoud et al. (2018) qui rapportent une teneur de 1,69 ± 0,022 (mg EQ/g MVS) pour l'extrait dichlorométhane et 1,05 ± 0,045 (mg EQ/g MVS) pour l'extrait buthanolique.

Nos résultats sont grandement supérieurs à ceux décrits dans l'étude de (Ghouar et al., 2018) sur l'extrait chloroformique de la même espèce végétale de Boussaâda, qui relaye une teneur en flavonoïdes de  $40.75 \pm 0,02$  ( $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait).

Nous pouvons donc conclure que ces variations peuvent s'expliquer par la différence de la localisation géographique, des différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Park et Cha, 2003), les doses de réactif ainsi que le type de spectrophotomètre utilisé (Medini et al., 2014). La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend aussi de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait (Stanković, 2011).

### 3.3. Teneur en tanins condensés (TCs)

Le dosage des tanins condensés a été fait par la vanilline et l'acide chlorhydrique (HCL) qui donnent une couleur rouge comme titre positif (Julkunen-Titto, 1985). Le calcul des teneurs a été fait à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Annexe 06**).

Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau X** ci-dessous :

**Tableau X:** Contenu en tanins condensés dans les extraits d'*Artemisia campestris L.*

Extraits	V3	V4	R3	R4
Concentration des tanins condensés (mg EC/g MVS)	$1.43 \pm 0.037$	$1.44 \pm 0.004$	$0.37 \pm 0.004$	$1.07 \pm 0.002$

La lecture du tableau nous permet de constater les résultats obtenus pour chaque extrait méthanolique avec des teneurs de  $1.43 \pm 0.037$ ,  $1.44 \pm 0.004$ ,  $0.37 \pm 0.004$ ,  $1.07 \pm 0.002$  (mg EC/g MVS) qui représente respectivement V3, V4, R3, R4. L'extrait le plus concentré est V4 suivie de près par V3 avec une légère différence, le classement continue avec R4 en troisième position, et enfin R3 avec la plus petite teneur en tanins. Nous observons donc une variation majeure sur l'ensemble des concentrations exprimées par chaque extrait.

Les résultats obtenus par nos quatre extraits semblent inférieurs à ceux trouvés par Mohammed Tahar Ben Moussa et al. (2021) sur l'espèce *Brocchia cinerea* VIS qui relèvent une concentration en tanins de  $(1,97 \pm 0,58$  mg d'équivalent de cyanidine /g de matière végétale sèche) obtenue des échantillons provenant de la Wilaya de Biskra. Par contre nos extraits V3, V4, R4 possèdent une meilleure concentration en comparaison avec les

échantillons provenant de la Wilaya de El-Oued qui relaye une teneur de  $(0,92 \pm 0,29$  mg d'équivalent de cyanidine/g de matière végétale sèche).

Nos résultats communiqués avec les extraits R3 et R4 se rapprochent considérablement de ceux exprimés par Zeghdoud et al. (2018) sur *Artemisia campestris L.* L'étude montre des concentrations de  $1,033 \pm 0,072$  (mg EC/g MVS) pour l'extrait acétate d'éthyle et  $0,50 \pm 0,0244$  (mg EC/g MVS) pour l'extrait n-butanol.

L'étude menée par Boudjouref (2020) sur la même espèce végétale d'Oum El Bouaghi, révèle une concentration de  $70,59 \pm 0,00$  ( $\mu\text{g EC/g MVS}$ ) qui semble grandement inférieure à tous nos résultats.

Cette différence en concentration serait probablement due à la complication de l'extraction des tanins, qui sont susceptibles de subir des dégradations (oxydation, sensibilité à la lumière). De plus, d'autres paramètres peuvent influencer la quantification des tannins tel que la variété, le solvant utilisé, le mode de conservation des extraits, le stade de maturité de la plante, les conditions climatiques et pédologiques (Julkunen-Titto, 1985).

#### **4. Résultats de l'activité antibactérienne**

##### **4.1. Méthode de diffusion sur disque**

La capacité des extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris L.* (V3, V4, R3, R4) à inhiber la croissance microbienne, a été évaluée *in vitro* par la méthode de diffusion sur milieu gélosé citée par (NCCLS, 2001). Cette activité est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques imprégnés des différents extraits.

Les souches bactériennes testées sont scindées en deux groupes égaux en nombre, résumées dans le tableau ci-dessous avec les diamètres des zones d'inhibition pour chacune :

Tableau XI: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches testées.

	Souches bactériennes	Méthanol	Disque sec	Extraits de plante				Antibiotique
				V3	V4	R3	R4	Gentamicine (CN10)
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> MU 50	5 mm	5 mm	20 mm ± 0,00	29 mm ± 0,00	18 mm ± 0,00	32 mm ± 0,5	23 mm ± 0
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14575	5 mm	5 mm	Absence d'un halo d'inhibition autour du disque				21 mm ± 0.06
Gram (-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5 mm	5 mm	6 mm ± 0,00	15 mm ± 0.1	6 mm ± 0.05	8 mm ± 0.05	24 mm ± 0.1
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5 mm	5 mm	7 mm ± 0.1	12 mm ± 0.05	8 mm ± 0.1	8 mm ± 0.1	22 mm ± 0

Au vu des résultats obtenus, les extraits de méthanol d'*Artemisia campestris* L. ont manifesté des effets inhibiteurs sur toutes les souches testées excepté *Bacillus cereus* ATCC 14575.

*Staphylococcus aureus* est la souche la plus inhibée par nos quatre extraits méthanoliques dont l'extrait de la région de Henchir Zeroual (R4) a enregistré le diamètre d'inhibition le plus élevé qui égale à 32 mm (Figure 23).

Une faible activité antimicrobienne a été observée avec les deux souches Gram (-) (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Tandis qu'une résistance totale de *Bacillus cereus* a été enregistrée et cela avec les quatre extraits méthanoliques testés.

Le méthanol utilisé comme témoin négatif n'a montré aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne, tandis que la Gentamicine a été choisie en vis-à-vis de la sensibilité des souches bactériennes testées qui ont réagis modérément à cet antibiotique (Annexe 07).

Les diamètres d'inhibition de nos quatre extraits enregistrés vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* semblent être supérieurs à ceux trouvés par Naili et al. (2010) et Bentella (2019) dont les diamètres sont respectivement 27 mm et 10,7 mm.

Selon Bentella (2019), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (SARM<sub>A1</sub>) ainsi que trois souches cliniques de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline ont été testées

(SARM<sub>B1</sub>, SARM<sub>B2</sub>, SARM<sub>B3</sub>) et qui ont donné des valeurs respectives de 10,7 mm, 9,7 mm, 9,7 mm et 10,3 mm. Ces valeurs semblent être moins importantes que celles trouvées dans le cas de notre recherche avec une SARM (18 à 32 mm).

Dans le cas de *Bacillus cereus* ATCC 14575, le diamètre d'inhibition obtenu par El Abed et al. (2014) est de 25 mm. Bentella (2019) a montré un diamètre de 15,7 mm ± 0,6 sur la souche de *Bacillus cereus* ATCC 11778. Selon la même étude effectuée sur *Artemisia herba helba*, un diamètre de 24 mm ± 1 a été révélé. Ces deux études sont en parfaite contradiction avec la nôtre, car nous n'avons obtenu aucune zone d'inhibition (**Figure 24**).

Nos résultats sont conformes avec l'étude publiée par Khennouf et al. (2010) qui a révélé un diamètre de 6 mm pour cette bactérie, considérée comme résistante à l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

Pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, les extraits V3, V4, R3, R4 montrent une activité légèrement moins importante pour cette bactérie avec des valeurs respectives de 6 mm, 15 mm, 6 mm et 8 mm (**Figure 25**).

Pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, le diamètre d'inhibition obtenue par Naili et al. (2010) est de 9 mm en utilisant un extrait méthanolique des feuilles de la même plante, un résultat proche de celui obtenu avec notre extrait R4 (8 mm ± 0.05).

Les travaux de Bentella (2019) sur le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* provenant de la région de Bouilef à Batna contre une large gamme de bactéries, ont montré que la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 utilisée également lors de notre étude, possède une faible activité antibactérienne avec une valeur de 11,3 mm ± 0,6, une valeur inférieure par rapport à celle obtenue avec notre extrait V4 (15 mm ± 0.1).

Khebri (2011), a mentionné une valeur de 6 mm vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. Celle-ci est égale au diamètre produit par notre extrait V3 et R3.

Pour la souche *Escherichia coli*, les extraits V3, V4, R3, R4 inhibent légèrement cette bactérie avec des diamètres de 7 mm, 12 mm, 8 mm et 8 mm respectivement (**Figure 26**).

El Abed et al. (2014) ont montré un effet antibactérien significatif de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris L.* contre une *Escherichia coli* avec une valeur de 17 mm, considérée comme élevée par rapport au test actuel.

Selon les travaux portés par Boudjelal (2013), l'extrait méthanolique d'*Artemisia herbe alba* a donné un diamètre de  $13 \pm 0.6$  pour *Escherichia coli* ATCC 25922 qui se rapproche de la valeur obtenue avec notre extrait V4 ( $12 \text{ mm} \pm 0.05$ ).

L'étude menée par Bentella (2019) a révélée une valeur de  $11,3 \pm 0,6$  sur la même souche de référence utilisée lors de notre recherche (*Escherichia coli* ATCC 25922). Ce résultat se rapproche beaucoup de la valeur trouvée avec notre extrait V4 ( $12 \text{ mm} \pm 0.05$ ).

Selon Ben Sassi et ses collaborateurs (2007), seul l'extrait d'acétone de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* exerce un effet inhibiteur relativement faible vis-à-vis d'*Escherichia coli* (7 mm), une valeur égale de celle de l'extrait V3 et proche de R3 et R4.

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* était de moindre activité sur *Escherichia coli* par rapport à nos extraits avec une valeur de 6 mm (Khebri, 2011).

En rétrospective de notre étude, Il en ressort que *Staphylococcus aureus* (Gram+) est la bactérie la plus sensible en comparaison avec les souches (Gram-). Cette sensibilité est explicable par les différences de composition de la paroi cellulaire et entrave les connexions des polyphénols aux couches de peptidoglycane de ces microorganismes (Cushine et al., 2011). En vue de cette différence, les bactéries Gram (+) sont plus sensible aux changements environnementaux externes, tels que la température et le pH (Balentine et al., 2006).

La variation des diamètres des zones d'inhibitions d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre peut être impactée par les microorganismes, la plante et le potentiel antibactérien des substances bioactives de l'extrait dont plusieurs études affirment que l'activité antimicrobienne est fortement liée aux teneurs et à la composition de l'extrait en composés phénoliques ; et à la capacité de l'extrait à diffuser dans le milieu gélosé (Carneiro et al., 2008).

En outre, plusieurs variables ont un impact direct sur les résultats tels que la technique utilisée, la quantité et la concentration d'extrait appliquée sur les disques. Il faut aussi noter que la quantité des polyphénols diffère entre espèces végétales. Ils jouent ainsi un rôle fondamental dans l'activité antibactérienne.

À la lumière de ces résultats, on déduit que les extraits de méthanol d'*Artemisia campestris L.* possèdent une activité antibactérienne.

## 5. Résultats de l'activité antifongique

### 5.1. Méthode de contact direct sur milieu gélosé

L'activité antifongique des quatre extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris* L. vis-à-vis d'*Alternaria* sp. a été estimée par le taux d'inhibition de la croissance mycélienne, selon la méthode de contact direct sur milieu gélosé (Hussin, 2009).

Le tableau ci-dessous rapporte les résultats obtenus :

**Tableau XII:** Résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis d'*Alternaria* sp.

Extraits végétaux 10 ul	% d'inhibition du mycélium	Sensibilité de la souche fongique	Efficacité des extraits
V3	14,58 % ± 0,5	Peu sensible	Extrait peu actif
V4	6,25 % ± 1,15	Peu sensible	Extrait peu ou pas actif
R3	0 % ± 0,00	Résistante	Extrait pas actif
R4	1 % ± 0,5	Résistante	Extrait pas actif

Les résultats de cette activité, montrent qu'aucun des extraits R3 et R4 n'a une action antifongique sur le champignon testé, tandis que les extraits V3 et V4 ont exercé une légère activité inhibitrice vis-à-vis de la croissance mycélienne.

Nous avons noté au cours des sept jours d'incubation que la croissance mycélienne a légèrement baissé dans les boîtes traitées avec les extraits V3 et V4. En comparaison avec le témoin qui a enregistré une croissance mycélienne de 48 mm ± 0,5 le 7<sup>ème</sup> jour d'incubation (**Annexe 07**), les extraits ont montré un faible potentiel antifongique avec des taux d'inhibitions de 14,58 % ± 0,5 et 6,25 % ± 1,15, respectivement. Par contre, les extraits R3 et R4 n'ont pas stoppé la croissance mycélienne si on les compare au témoin soit un taux d'inhibition de 0 % ± 0,00 et 1 % ± 0,5, respectivement.

Nous concluons que, *Alternaria* sp. montre une forte résistance à l'extrait R3 et R4, alors qu'elle s'est révélée peu sensible contre l'action des extraits V3 et V4.

La comparaison de nos résultats reste délicate en raison du faible nombre d'études consacrées à la détermination du pouvoir antifongique de la plante *Artemisia campestris* L. vis-à-vis d'*Alternaria* sp.

Le pouvoir antifongique des quatre extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris* L. vis-à-vis d'*Aspergillus niger* a été estimé par le taux d'inhibition de la croissance mycélienne, selon la méthode de contact direct sur milieu gélosé (Hussin, 2009).

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XIII:** Résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis d'*Aspergillus niger*.

Extraits végétaux $\mu\text{L}/ 19$ mL de gélose à extrait de malt	% d'inhibition du mycélium	Sensibilité de la souche fongique	Efficacité des extraits	
V3	300 $\mu\text{L}$	47,05 % $\pm$ 1,01	Limite	Extrait moyennement actif
	700 $\mu\text{L}$	90,58 % $\pm$ 0,00	Très sensible	Extrait très actif
V4	300 $\mu\text{L}$	25,88 % $\pm$ 0,5	Limite	Extrait moyennement actif
	700 $\mu\text{L}$	83,52 % $\pm$ 0,5	Très sensible	Extrait très actif
R3	300 $\mu\text{L}$	50,58 % $\pm$ 0,7	Sensible	Extrait actif
	700 $\mu\text{L}$	57,64 % $\pm$ 0,7	Sensible	Extrait actif
R4	300 $\mu\text{L}$	55,29 % $\pm$ 1,4	Sensible	Extrait actif
	700 $\mu\text{L}$	88,23 % $\pm$ 0,1	Très sensible	Extrait très actif

L'analyse des résultats des essais antifongiques, montre une efficacité remarquable et hautement significative des extraits vis-à-vis de la souche étudiée (**Figure 27**).

Nous avons noté un effet inhibiteur considérable de la croissance mycélienne par les différentes concentrations des quatre extraits testés. Les meilleures performances sont enregistrées avec les extraits V3, R4 et V4 à une concentration de 700  $\mu\text{L}$ , montrant un pouvoir antifongique notable avec un taux d'inhibition hautement significatif soit : 90,58 %  $\pm$  0,00, 88,23 %  $\pm$  0,1, 83,52 %  $\pm$  0,5, respectivement. Cependant, l'extrait R3 a montré un taux d'inhibition moyennement appréciable soit 57,64 %  $\pm$  0,7 avec la même concentration.

Une concentration en extrait de l'ordre de 300  $\mu\text{L}$  à inhibée modérément le champignon. Le taux d'inhibition varie de 55,29 %  $\pm$  1,4 à 25,88 %  $\pm$  0,5 le 7<sup>ème</sup> jour d'incubation.

Après sept jours d'incubation, la boîte témoin est totalement envahie par *Aspergillus niger* qui a même sporulé ( $85 \text{ mm} \pm 0,00$ ) (**Annexe 08**), alors que celui-ci occupe une surface variant de 8 à 63 mm dans les boîtes traitées.

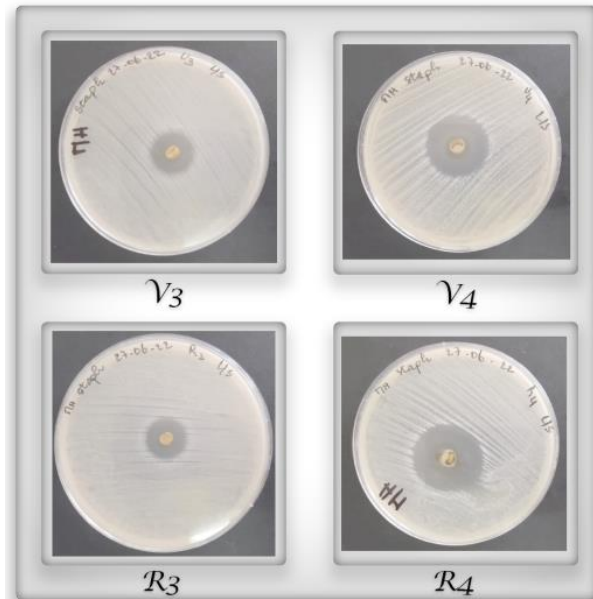
Selon Gherib (2009), l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* de la région de Naama agit de façon active sur *Aspergillus niger* qui a atteint 55,4 % à une concentration de 200  $\mu\text{L}$  /20 mL de PDA. Ce taux d'inhibition est très faible par rapport aux pourcentages obtenus par nos extraits R4 (88,23 %) et V3 (90,58 %) à une concentration de 700  $\mu\text{L}$  / 19 mL de gélose à extrait de malt ; et se rapproche de la valeur donnée par l'extrait R4 (55,29 %) à une concentration de 300  $\mu\text{L}$ .

L'importante activité de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* sur toutes les souches de moisissures et qui atteint parfois 87 % d'inhibition est due probablement à la présence de certains composés majoritaires comme l'alpha-pinène connu pour son activité antifongique (Martin et *al.*, 2000).

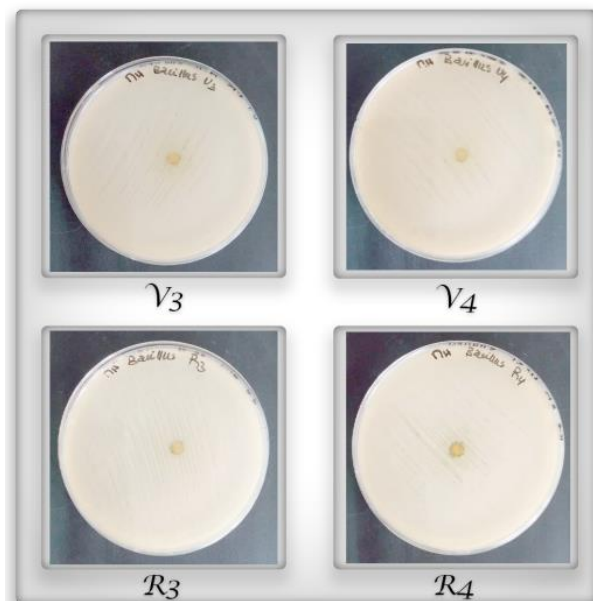
Nos résultats s'avèrent intéressants puisque nous avons traités les souches fongiques avec un extrait et non un produit pur. Les armoises possèdent une grande variété de composés à activités biologiques. Par conséquent, l'efficacité de nos extraits est probablement due à différents métabolites bioactifs.

Le potentiel antifongique est proportionnel à la concentration. En effet, plus la dose de l'extrait est élevée plus la croissance mycélienne est faible. Celui-ci dépend également de la composition des extraits et de leur nature, mais aussi de l'espèce fongique. Contrairement aux bactéries, les concentrations d'huile nécessaire pour tuer les champignons sont souvent plus élevées que celles requises pour inhiber simplement leur croissance (Hammer et *al.*, 2003).

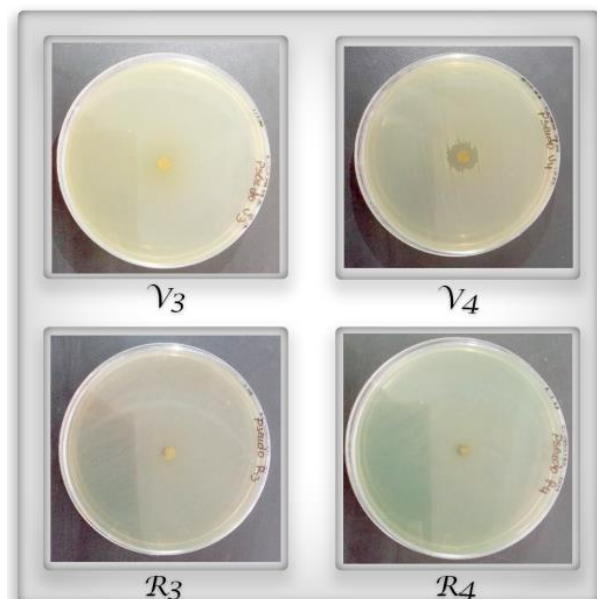
Enfin, nous pouvons dire que les extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris L.* sont doués d'une activité antifongique.



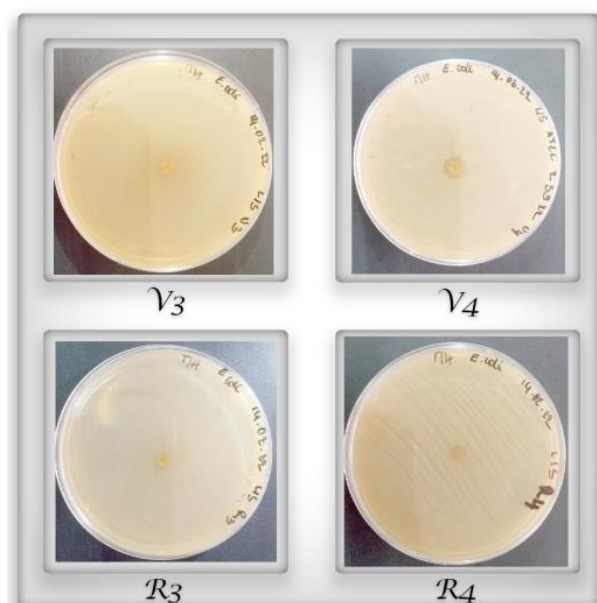
**Figure 23:** Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur *Staphylococcus aureus* MU 50.



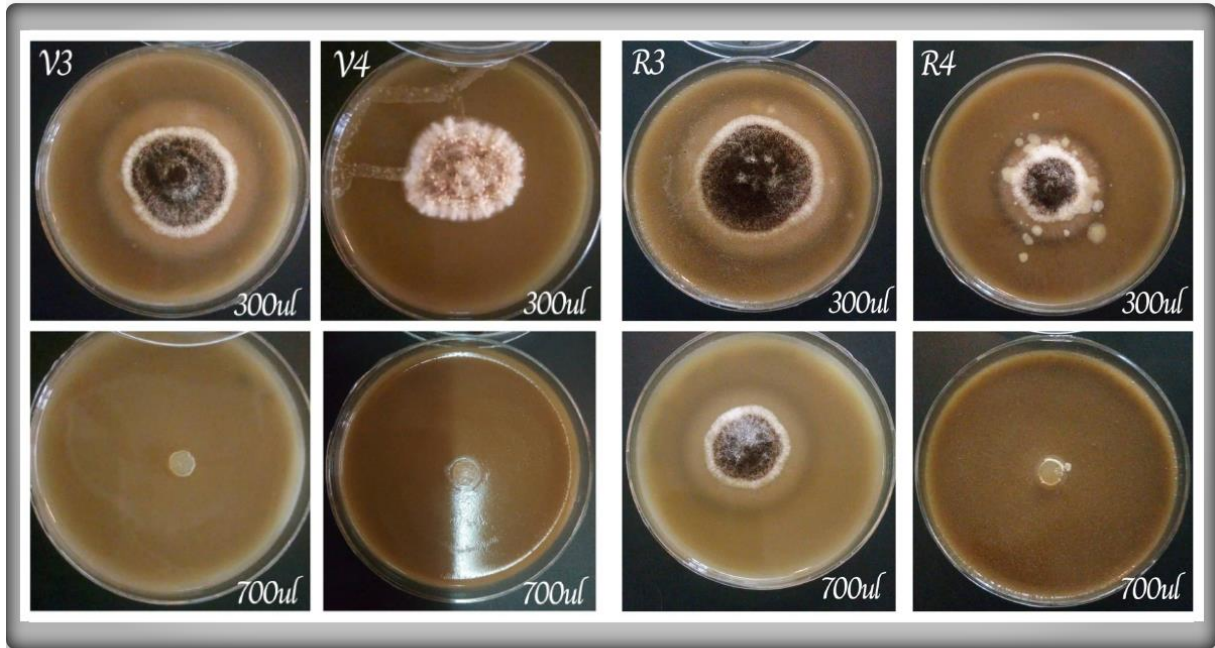
**Figure 24:** Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur *Bacillus cereus* ATCC 14575.



**Figure 25:** Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



**Figure 26:** Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques sur *Escherichia coli* ATCC 25922.



**Figure 27:** Effet antifongique des extraits d'*Artemisia campestris L.* vis-à-vis d'*Aspergillus niger*.

---

## **Conclusion et perspectives**

---

L'usage médicinal des plantes remonte à l'aube de l'humanité et aujourd'hui encore, la phytothérapie demeure le recours principal de plusieurs pays. Considérée comme sans danger car naturelle, elle constitue une forme de médecine complémentaire, saine et sans effets secondaires. Le pouvoir d'un extrait végétal est le résultat de plusieurs principes actifs et d'huiles essentielles auxquelles on attribue des bienfaits incontestables.

Le présent travail s'intéresse à l'étude phytochimique, la détermination des teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins ainsi que l'évaluation *in vitro*, de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de la partie aérienne de l'espèce végétale *Artemisia campestris L.* de quatre stations différentes situés à la wilaya de Tebessa.

L'étude qualitative a révélé la richesse de cette plante en composés phénoliques à savoir : les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes, les alcaloïdes, les coumarines, les quinones, les sponosides, les stérols et polyterpènes.

L'extraction a permis d'obtenir des rendements remarquables dont les valeurs sont 12%, 16%, 17% et 19%, qui représentent respectivement les régions suivantes : El Gabel (commune Hammamet), Remila (commune El Kouf), Fadj El Botma (commune El Aouinet) et Henchir Zeroual (commune d'Ouenza).

La quantification des polyphénols totaux (PPT) des extraits a montrée des teneurs élevées dont la valeur la plus élevée a été enregistrée par l'extrait de la région de Remila (commune El Kouif).

Concernant les flavonoïdes et les tanins totaux les valeurs sont variées, les plus élevées ont été enregistrées par l'extrait de la région de Remila (commune El Kouif).

Les résultats obtenus à partir des expériences *in vitro* vis-à-vis de quatre souches bactériennes, affirment que les extraits méthanoliques d'*Artemisia campestris L.* possèdent un effet inhibiteur important vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* MU 50 (SARM). Tandis que les souches *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont montré des diamètres d'inhibition modérés, alors que *Bacillus cereus* été complètement résistante.

Les extraits, exercent également une activité antifongique considérable sur *Aspergillus niger*. En effet, l'inhibition de la croissance mycélienne a atteint 90,58 %. De plus, ces extraits montrent une activité plus ou moins importante vis-à-vis d'*Alternaria sp.* (14,58%).

Les résultats de ce travail montrent que l'espèce *Artemisia campestris L.* est l'une des sources naturelles de composés antimicrobiens d'importance élevée.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et il serait nécessaire de mener des études approfondies afin de:

- ✚ Purifier et caractériser les composés actifs majoritaires contenus dans les différentes parties de la plante.
- ✚ Evaluer l'effet antibactérien et antifongique de ses métabolites sur une gamme plus large de microorganismes ainsi que déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour mieux connaître leur champ d'action, leur dose thérapeutique ainsi que leur site d'action au niveau de la cellule. Ceci permettra de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique.
- ✚ Etudier l'efficacité de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* dans le domaine alimentaire afin d'établir leur utilité comme agents antioxydants ou antimicrobiens naturels dans la sécurité alimentaire.

---

## **Références bibliographiques**

---

### A

- Adriouch, S., Kesse-Guyot, E., Herberg, S., Touvier, M. et Fezeu, L. K. (2017).** Association entre les apports en polyphénols et le risque de maladies cardiovasculaires: résultats d'une étude prospective sur 84 000 adultes français. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. Ed, Elsevier, France, 31(3): 238.
- Aissaoui, I. et Belaid, K. (2020).** Contribution à l'étude phytochimique de Quatre Plantes médicinales (*A. herba Alba Asso*, *A. compestris L*, *Juniperus phoenicea* et *Rosmarinus officinalis*) de la région d'oued Souf. Mémoire de master en Sciences biologiques, Biodiversité et Environnement, Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED, Algérie, 45-60.
- Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H. et Madrid, P. C. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 49(2): 342-347.
- Al-Snafi, A. E. (2015).** The pharmacological importance of *Artemisia campestris*-A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 5(2): 88-92.
- Amel, B. H., Mahmoud, D. M., Zohra, A. F., Zohra, B. F., Mohamed, T. et Souhila, M. H. E. (2022).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Artemisia campestris L*. *Physiology and Molecular Biology*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, (1): 489-497.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D. et Trinajstić, N. (2003).** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*. Ed, Portal hrvatskih znanstvenih i stručnih časopisa – Hrčak, Croatia, 76(1): 55-61.
- Amroune, S. E. (2018).** Phytothérapie et plantes médicinales. Mémoire de master en Protection des Ecosystèmes, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 36-48.
- Aniszewski, T. (2007).** Alkaloids-Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Definition, Typology and Occurrence of alkaloids. Ed, Elsevier, France, 288-301.
- Aniya, Y., Shimabukuro, M., Shimoji, M., Kohatsu, M., Gyamfi, M. A., Miyagi, C. et Egashira, T. (2000).** Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. Ed, Pharmaceutical society of Japan, Japan, 23(3): 309-312.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P. et Stuppner, H. (2015).** Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Journal of Biotechnology advances*, 33(8): 1582-1614.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F. et Omar, A. K. M. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4): 426-436.

**B**

**Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia Smith*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, France, 91-100.

**Bagniewska-Zadworna, A., Barakat, A., Łakomy, P., Smoliński, D. J. et Zadworny, M. (2014).** Lignin and lignans in plant defence: insight from expression profiling of cinnamyl alcohol dehydrogenase genes during development and following fungal infection in *Populus*. *Journal of Plant Science*, 229: 111-121.

**Bahadoran, Z., Mirmiran, P. et Azizi, F. (2013).** Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of diabetes & metabolic disorders*, 12(1): 1-9.

**Balentine, C. W., Crandall, P. G., O'bryan, C. A., Duong, D. Q. et Pohlman, F. W. (2006).** The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science Journal*, 73(3): 413-421.

**Baur, J. A. et Sinclair, D. A. (2006).** Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Journal of Nature Reviews Drug discovery*, 5(6): 493-506.

**Bekro, Y. A., Mamyrbekova, J. A., Boua, B. B., Bi, F. T. et Ehile, E. E. (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). *African journals online*, 4(2): 217-225.

**Belhattab, R., Boudjouref, M., Barroso, J. G., Pedro, L. P. et Figueirido, A. C. (2011).** Essential oil composition from *Artemisia campestris L.* grown in Algeria. *Journal of Advances in Environmental Biology*, 5(2): 429-432.

**Benattia, S. et Bettayeb, H. (2015).** Evaluation de l'effet allélochimique des extraits aqueux et de l'huile essentielle d'*Artemisia Campestris L.* sur quelques souches de *fusarium*. Mémoire de Master Académique en Ecologie et Environnement, Université d'Ouargla Algérie, 16-20.

**Ben Moussa, M. T., Cherif, R. A., Lekhal, S., Bounab, A. et Hadeif, Y. (2022).** Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Brocchia cinerea* VIS de l'Algérie (Sud-Est). 04 (01): 49-59.

**Bennani, H., Fiet, J. et Adlouni, A. (2009).** Impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate: étude de l'effet antiprolifératif des polyphénols. *Journal de Revue Francophone des Laboratoires*, 416 : 23-26.

**Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F. et Aouni, M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Journal of Pharmaceutical biology*, 45(5) : 421-428.

**Bernal, J., Mendiola, J. A., Ibáñez, E. et Cifuentes, A. (2011).** Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(4): 758-774.

- Berset, C. et Cervelier, M. E. (1996).** Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Journal de Science des Aliments*, 16: 219-245
- Bertella, A. (2019).** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris L.* et *Rosmarinus tournefortii*. Doctorat 3 ième cycle Sciences Biologiques, Université Oran 1 - Ahmed Ben Bella (Université Es-Sénia), 15-23.
- Boizot, N. et Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, Ed, hal.inrae, France, 79-82.
- Bonina, F. P., Leotta, C., Scalia, G., Puglia, C., Trombetta, D., Tringali, G. et Saija, A. (2002).** Evaluation of oxidative stress in diabetic patients after supplementation with a standardised red orange extract. *Journal of Diabetes, nutrition & metabolism*, 15(1) : 14-19.
- Bonnie, G. (2018).** Focus sur: l'Armoise *Artemisia/ Mugwort*. *Journal of Bty Aly & Significant Media*, 1-4.
- Bosio, C. M., Gardner, D. et Elkins, K. L. (2000).** Infection of B cell-deficient mice with CDC 1551, a clinical isolate of *Mycobacterium tuberculosis*: delay in dissemination and development of lung pathology. *The Journal of Immunology*, 164(12): 6417-6425.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A. et Ruberto, G. (2013).** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2): 395-402.
- Boudjouref, M. (2020).** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*. Thèse de doctorat en science biologique, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie, 37-40.
- Boutaric, E., Gilardi, M., Cécile, W. et Fléchelles, O. (2013).** Impact d'un Protocole de Soins sur l'Incidence des Infections Liées aux Cathéters Veineux Epicutanéocaves Chez le Prématuro. *Archives de Pédiatrie*, 20(2): 130-136.
- Brown, L., Wolf, J. M., Prados-Rosales, R. et Casadevall, A. (2015).** Through the Wall: Extracellular Vesicles in Gram-positive Bacteria, Mycobacteria and Fungi. *Journal of Nature Reviews Microbiology*, 13(10): 620-630.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Médicinales. Ed, Technique & Documentation, Paris, 269-270, 315-317, 914-915.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed, Technique & Documentation, Paris, 412-429.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes Médicinales. Ed, Technique & Documentation, France, 1203-1210.
- Bule, M., Khan, F., Nisar, M. F., Niaz, K., Nabavi, S., Saeedi, M. et Sanches Silva, A. (2020).** Tannins (Hydrolysable Tannins, Condensed tannins, Phlorotannins, Flavono-

Ellagitannins). *Recent Advances in Natural Products Analysis*. Ed, Elsevier, France, 132-146.

### C

**Carneiro, A. L. B., Teixeira, M. F. S., Oliveira, V. M. A. D., Fernandes, O. C. C., Cauper, G. S. D. B. et Pohlit, A. M. (2008).** Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Brasil*, 103: 31-38.

**Carocho, M. et Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Journal of Food and chemical toxicology*, 51: 15-25.

**Chae, S. C., Lee, J. H. et Park, S. U. (2013).** Recent studies on flavonoids and their antioxidant activities. *Excli Journal*, 12 : 226-230.

**Chang, C. L., Wang, G. J., Zhang, L. J., Tsai, W. J., Chen, R. Y., Wua, Y. C. et Kuo, Y. H. (2009).** Cardiovascular protective flavonolignans and flavonoids from *Calamusquiquesetinervius*. *Journal of Phytochemistry*, 71(2-3):271-279.

**Chebil, L. (2006).** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle. Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine, France, 71-85.

**Chen, X., Xi, X., Pizzi, A., Fredon, E., Zhou, X., Li, J. et Du, G. (2020).** Preparation and characterization of condensed tannin non-isocyanate polyurethane (NIPU) rigid foams by ambient temperature blowing. *Journal of Polymers*, 12(4): 750.

**Cheyrier, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought, *The American journal of clinical nutrition*, 81(1): 223-229.

**Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C. et Teissède, P. L. (2008).** Les Polyphénols du Raisin. *Journal of Phytothérapie*, 6(2) : 75-82.

**Chowdhury, P., Sahuc, M. E., Rouillé, Y., Rivière, C., Bonneau, N., Vandeputte, A. et Séron, K. (2018).** Theaflavins, polyphenols of black tea, inhibit entry of hepatitis C virus in cell culture. *Plos One Journal*, 13-11.

**Chung, K. T. et Wei, C. I. (1998).** Are tannins a double edged sword in biology and health? *Journal of Trends in Food Science et Technology*, 9:168-175.

**Colette, N. (2010).** L'œnologie. *Artemisia campestris* et *Ruta chalepensis*. Ed, Lavoisier, France, 147-152.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.

**Crozier, A., Clifford, M. N. et Ashihara, H. (2008).** Plant secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Ed, Blackwell Publishing Ltd, United States of America, 15-19.

**Cui, Q., Du, R., Liu, M. et Rong, L. (2020).** Lignans and their derivatives from plants as antivirals. *Jornal of Molecules*, 25(1): 183.

**Cui, Y., Oh, Y. J., Lim, J., Youn, M., Lee, I., Pak, H. K. et Park, S. (2012).** AFM study of the differential inhibitory effects of the green tea polyphenol-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food Microbiology*, 29(1): 80-87.

**Cushnie, T. T. et Lamb, A. J. (2011).** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2): 99-107.

### D

**Dacosta, Y. (2003).** Les Phytonutriments Bioactifs, Ed, Yves Dacosta, France, 251-271.

**Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Journal of Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 174-181.

**Dai, J. et Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Journal of Molecules*, 15(10): 7313-7352.

**Dangles, O. et Dufour, C. (2008).** Flavonoid-protein binding processes and their potential impact on human health. *Recent Advances in Polyphenol Research*, Ed, Willey-Blackwell, United Kingdom, 1: 67-87.

**Dangles, O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Journal of Current Organic Chemistry*, 16(6): 692-714.

**Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B. et Latruffe, N. (2006).** Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer. *Journal of Current Drug Targets*, 7(4): 423-442.

**Diallo, D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences, Suisse, 148-176.

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

**Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A. et Capasso, F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Journal of Life Sciences*, 65(4): 337-353.

**Di Domenico, F., Foppoli, C., Coccia, R. et Perluigi, M. (2012).** Antioxidants in cervical

cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5): 737-747.

**Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M. et Stocker, P. (2010).** RETRACTED: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 48: 2599–2606.

**Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T. et Chelghoum, C. (2005).** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia campestris L.* from Algeria. *Journal of Pharmaceutical biology*, 43(6): 512-514.

**Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L. M., Badoc, A., Gmira, N. et Douhou, N. (2003).** Phytochemical screening of an ibero-moroccan endemic, *Thymelaea lythroides*. *Journal de Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142: 61-78.

**Donrop, A.M. et Day, N. P. (2007).** The treatment of severe malaria. *Journal of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101: 633-634.

**Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A. et Santini, A. (2019).** Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Journal of Phytotherapy Research*, 33(9): 2221-2243.

**Dzomba, P. et Muchanyereyi, N. (2012).** Potential antimicrobial plant extract based therapeutics from *Temnocalyx obovatus* roots. *European Journal of Medicinal Plants*, 2(3): 209-215.

## E

**El Abed, N., Guesmi, F., Mejri, M., Marzouki, M. et Ben Hadj Ahmed, S. (2014).** Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. *International Journal Pharmaceutical Research Bioscience*, 3:770-789.

**Ela, M. A., El-Shaer, N. S. et Ghanem, N. B. (1996).** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Journal of Pharmazie*, 51(12): 993-994.

**Elbidi, A. (2016).** Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Master professionnel en Chimie Organique, Université Zaine Achour de Djelfa. Algérie, 3-6.

**El Gharras, H. (2009).** Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12): 2512-2518.

**Eloff, J. N. (1998).** A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica Journal*, 64: 711-3.

F

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities, *Journal de Comptes Rendus Biologies.* 331: 372-379.

**Filleul, E. (2019).** Les Astéracées: description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques. Doctoral dissertation en Pharmacie, Université de Limoges, France, 19-28.

**Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. et Macheix, J. J. (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique, Ed, Presses polytechniques et universitaires romandes, Suisse, 121-216.

**Forêt, R. (2018).** Dictionnaire des Sciences de la Vie, Ed, Boeck Supérieur, Belgique, 153-168.

**Fraga, C. G. (2007).** Plant polyphenols: how to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *Journal of IUBMB life,* 59(4-5): 308-315.

**Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. et Becker, K. (2002).** The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition,* 88(6): 587-605.

G

**García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, A. J., Pueyo, E., Martín-Álvarez, P. J. et Moreno-Arribas, M. V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Journal of Food Control,* 19(9): 835-841.

**Garg, S. S., Gupta, J., Sharma, S. et Sahu, D. (2020).** An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds and their mechanisms of action. *European Journal of Pharmaceutical Sciences,* 152: 105-424.

**Gazengel, J. M. et Orecchioni, A. M. (2012).** Le Préparateur en Pharmacie - Guide Théorique et Pratique. Ed, Lavoisier, France, 2: 1621-1632.

**George, R. A. et Heringa, J. (2002).** An analysis of protein domain linkers: their classification and role in protein folding. *Journal of Protein Engineering Design and Selection,* 15(11): 871-879.

**Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselfela, H. et Oued-Mokhtar, S. M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti de Noé*. *Phytothérapie,* 13(2) : 118-129.

**Gherib, M. (2009).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides *d'Artemisia herba alba Asso ; Artemisia judaica L. ssp.sahariensis; Artemisia campestris L.; Herniaria mauritanica Murb et Warionia saharae Benth et Coll.* Mémoire de Magister en biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

Algérie, 71-72.

**Ghouar, M. et Sabeg, K. (2018).** Étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*. Mémoire de Master en Biochimie des Molécules Bioactives et leurs Applications, Université L'arbi ben Mhidi Oum El bouaghi, Algérie, 30-31.

**Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M. et Dahmane, R. (2014).** The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 11-14.

**Goven, K. C. (1963).** Avec des enquêtes de l'espèce *Artemisia turc*: II *Artemisia campestris* L. *Journal de Folia Pharmaceutica*, 5 : 36-39.

**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). *Journal of Experimental Parasitology*, 134: 7-11.

**Guebas, M., Dogha. C. et Haffaf, A. (2022).** Etude de l'activité antiparasitaire d'*Artemisia campestris* L. sur *Echinococcus granulosus*. Mémoire de master académique en Biochimie Appliquée, Université Mohamed Boudiaf Msila, Algérie, 2-7.

**Guignard, J. L. (1996).** Biochimie végétale. Ed, Masson, France, 26: 147-154.

**Guignard, J-L. (2000).** Biochimie végétale. Ed, Dunod, France, 2:74-84.

## H

**Halliwell, B. et Gutteridge, J. M. (2015).** Free Radicals in Biology and Medicine. Ed, Oxford University Press, United States of America, 5: 109-119.

**Hammer, K. A., Carson C. F. et Riley, T.V. (2003).** Antifungal activity of the components of *Melaluca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 95: 853-860.

**Handique, J. G. et Baruah, J. B. (2002).** Polyphenolic compounds: an overview. *Journal of Reactive & Functional Polymers*, 52: 163 – 188.

**Harbone, J.B. (1998).** Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis, Ed, Chapman and Hill, England, 3: 5-9.

**Hartman, R. E., Shah, A., Fagan, A. M., Schwetye, K. E., Parsadaniyan, M., Schulman, R. N. et Holtzman, D. M. (2006).** Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neurobiology of disease*, 24 (3): 506-515.

**Hatami, T., Emami, S. A., Miraghaee, S. S. et Mojarreb, M. (2014).** Total phenolic contents and antioxidant activities of different extracts and fractions from the aerial parts of *Artemisia biennis* Willd. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 13(2): 551.

**Hodgson, J. M. et Croft, K.D. (2010).** Tea flavonoids and cardiovascular health. *Journal of Molecular Aspects of Medicine*, 31: 495–502.

**Hoffmann, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinatehydroxycinnamoyl transférase (HCT). Thèse de Doctorat : Université de Louis Pasteur – Strasbourg I, France, 5-10.

**Hoffmann, L., Bouayed, J. et Bohn, T. (2011).** Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Journal of Food Chemistry*, 128(1):14-21.

**Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. et Jutila, M. A. (2008).** Response of  $\gamma\delta$  T cells to plant-derived tannins. *Journal of Critical Reviews in Immunology*, 28(5): 377-402.

**Hollman, P. C. et Katan, M. B. (1999).** Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Journal of Food and Chemical Toxicology*. 37: 937-942.

**Hopkins, W. G. (2003).** *Physiologie Végétale*. Ed, Boeck Supérieur, Belgique, 2 : 130-140.

**Hotamisligil, G. S. (2006).** Inflammation and metabolic disorders. *Journal of Nature*, 444: 860-867.

**Huang, D., Ou, B. et Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 53:1841-1856.

**Hussin, N. M., Muse, R., Ahmad, S., Ramli, J., Mahmood, M., Sulaiman, M. R., Shukor, M. A. Y., Rahman, M. F. A. et Aziz, K. N. K. (2009).** Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa*. (*Lecythidaceae*). *African Journal of Biotechnology*, 8 (12): 2835-2842.

### I

**Izzo, S., Naponelli, V. et Bettuzzi, S. (2020).** Flavonoids as Epigenetic Modulators for Prostate Cancer Prevention. *Journal of Nutrients*, 9-14.

### J

**Jacques, E. P. (2011).** Alcaloïdes. *Encyclopædia Universalis*, Ed, Universalis France, France, 1-9.

**Jean, B. (2009).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*, Ed, Technique & Documentation, France, 1:259-299.

**Jerkovic, I., Mastelic, J., Milos, M., Juteau, F., Masotti, V. et Viano, J. (2003).** Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia. *Flavour and Fragrance Journal*, Ed, 18(5) : 436-440.

**Johnston, K. L., Clifford, M. N. et Morgan, L. M. (2003).** Coffee acutely modifies chlorogenic acid and caffeine. *American Journal and Clinical Nutrition*. 78: 728-733.

**Julkunen-Tiitto, R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33(2): 213-217.

**Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J. M. et Viano, J. (2002).** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris var. glutinosa*. *Journal of Biochemical systematics and ecology*, 30(11): 1065-1070.

### K

**Kadiata, M. M., Nkoseay, F. M., M'Rabet, N. et Laurent, P. (2022).** Étude phytochimique de quelques plantes alimentaires et médicinales utilisées dans la prévention et traitement du diabète de type-2 en République Démocratique du Congo. *Journal de Revue Africaine de Médecine et de Santé Publique*, 5(1): 51-61.

**Kaurinovic, B. et Vastag, D. (2019).** In Antioxidants. Flavonoids and Phenolic acids as Potential Natural Antioxidants. Ed, The Author(s), Republic of Serbia, 2: 1-14.

**Kebièche, M., Lakroun, Z., Mraïhi, Z. et Soulimani, R. (2011).** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens L.* et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Journal of Phytothérapie*, 9: 274-282.

**Kempf, S. et Zeitouni, F. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences. *Journal of Pathologie Biologie*, 60 (2): 9-14.

**Khan, H., Ullah, H., Martorell, M., Valdes, S. E., Belwal, T., Tejada, S., Sureda, A. et Kamal, M. A. (2019).** Flavonoids Nanoparticles in Cancer: Treatment, Prevention and Clinical Prospects. Elsevier, France, 69: 200-211

**Khanbabae, K. et Ree, T. R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Jornal of Natural products reports*, 18: 641-649.

**Khebri, S. (2011).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia*. Mémoire de Magister en chimie organique. Université Hadj Lakhdar Batna, Algérie, 18-27.

**Khenouf, S., Iratni, N., Baghiani, A., Harzallah, D. et Arrar, L. (2010).** Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba Asso.* leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(13): 1273-280.

**Khireddine, H. (2014).** Comprimés des poudres de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire de magister. Université M'hamed Bougera de Boumerdes. Algérie, 14-19.

**Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M. et Reunanen, A. (2002).** Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76: 560-568.

**Koné, K. P. F. O., Soro, Y. et Siaka, S. (2017).** Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (*Euphorbiaceae*) et *Tridaxprocum benslinn* (*Asteraceae*). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, France, 44 : 15-22.

**Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S. et Vladimir-Knez, E. (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Journal Acta Pharmaceutica*, 54: 65-72.

**Kreitschitz, A. et Vallès, J. (2007).** Achene morphology and slime structure in some taxa of *Artemisia L.* and *Neopallasia L.* (*Asteraceae*). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 202(7): 570-580.

**Kundu, J. K. et Surh, Y. (2008).** Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives. *Journal of Cancer Letters*, 269 (2): 243 – 261.

**Kumar, K. A., Renuka, N., Pavithra, G. et Kumar, G. V. (2015).** Comprehensive review on coumarins: Molecules of potential chemical and pharmacological interest. *Jornal of Chemical and Pharmaceutical, CODEN, United States of America*, 7(9): 67-81.

**Kumar, N. et Goel, N. (2019).** Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Journal of Biotechnology Reports*, 24: 45-58.

**Kyeong, W.Y., Anwar, M. et Jong, H. K. (2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* sp. caudata on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand Grasses. *Jornal of Plant Biology*, 50 (3): 358-361.

### L

**Lahlou, M., El Mahi, M. et Hamamouchi, J. (2002).** Evaluation des activités antifongiques et molluscide de *Zizyphus lotus L.* Desf. du Maroc. *Journal des annales pharmaceutiques française*, 60 :410-414.

**Lambert, J. D. et Elias, R. J. (2010).** The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 501: 65-72.

**Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M. A. et Lainé, É. (2008).** Intérêt des Lignanes dans la Prévention et le Traitement de Cancers. Ed, Médecine/Sciences, France, 24(5): 511- 520.

**Lenoir, L. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat en Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale, Université D'Auvergne, France, 210-212.

**Levy, E., Delvin, E., Marcil, V. et Spahis, S. (2020).** Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 319 (4) 689– 708.

**Li, T. S. et Beveridge, T. H. (2004).** Production et Utilisation de l'Argousier (*Hippophae rhamnoides L.*). Ed, Les presses scientifiques du CNRC, Canada, 55: 63.

**Li, X., Dai, T., Hu, P., Zhang, C., Chen, J., Liu, C. et Li, T. (2020).** Characterization of The Noncovalent Interactions Between Beta Lactoglobulin and Selected Phenolic Acids. *Food Hydrocolloids*, Ed, Elsevier, France, 105: 105-761.

**Link, A., Balaguer, F. et Goel, A. (2010).** Cancer Chemoprevention by Dietary Polyphenols: Promising Role for Epigenetics. *Biochemical Pharmacology*, Ed, Elsevier, France, 80: 1771-1792.

**Lung, J., Lin, Y. S., Yang, Y. H., Chou, Y. L., Shu, L. H., Cheng, Y. C. et Wu, C. Y. (2020).** The potential chemical structure of anti-SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of Medical Virology*, 92(6): 693– 697.

### M

**Ma, X. M., Liu, Y. et Shi, Y. P. (2007).** Phenolic derivatives with free-radical-scavenging activities from *Ixeridium gracile* (DC.) SHIH. *Chem. Journal of Chemistry & Biodiversity*, 4: 2172-2181.

**Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005).** Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires d'Importance Economique. Ed, PPUR Presses polytechnique, Suisse, 6-18.

**Martin, A. R., Salgueiro, L. R., Goncalves, M. J., Vila, R., Tomi, F., Adzet, T. et Casanova, J. (2000).** Activity and chemical composition off the bark oil of *Croton strllulifer*. *Journal of Planta Medica*, 66(7): 647-650.

**Martin, S. et Andriantsitohaina, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Journal of In Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6) : 304-315.

**Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L. et Beyreuther, K. (1985).** Amyloid Plaque Core Protein in Alzheimer Disease and Down Syndrome. Ed, Proceedings of the National Academy of Sciences, United States of America, 82(12): 4245-4249.

**Matsumoto, Y., Kaihatsu, K., Nishino, K., Ogawa, M., Kato, N. et Yamaguchi, A. (2012).** Antibacterial and Antifungal Activities of New Acylated Derivatives of Epigallocatechin Gallate. *Frontiers in Microbiology*, 3 (53): 1– 10.

**Maurya, A., Chauhan, P., Mishra, A. et Pandey, A. K. (2012).** Fonctionnalisation de surface de TiO<sub>2</sub> avec des extraits de plantes et leurs activités antimicrobiennes combinées contre *E. faecalis* et *E. coli*. *Journal of Research Updates in Polymer Science*, 1(1): 43-51.

**Mayachiew, P. et Devahastin, S. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Journal of LWT-Food Science and Technology*, 41(7) : 1153-1159.

**Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R. et Abdelly, C. (2014).** Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, 8: 216-224.

**Memmi, A., Sansa, G., Rjeibi, I., El Ayeb, M., Srairi-Abid, N., Bellasfer, Z., et Fekhih, A. (2007).** Use of Medicinal Plants Against Scorpionic and Ophidian Venoms. *Archives de L'institut Pasteur de Tunis*, Ed, Europe PMC, Tunisia, 84(1-4): 49-55.

**Mégraud, F. (2017).** La résistance aux antibiotiques de *Helicobacter pylori*. *Journal of Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 24(2), 179-181.

**Mibindzou Mouellet, A. (2004).** Screening phytochimique de deux espèces de plantes: *crotalia retusa L. (Papilionaceae)* et *hallea ciliata Aubrev et Pellegr. (Rubiaceae)* récoltées au Gabon. Ed, bibliothèque virtuelle de santé, Gabon, 277-438.

**Middleton, E., Kandaswami, C. et Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Journal of Pharmacological Reviews*, 52 (4): 673 – 751.

**Miller, D. D., Li, T. et Liu, R. H. (2014).** Antioxidants and Phytochemicals. Reference Module in Biomedical Research, Ed, New York: Academic Press, United States of America, 47: 777-780.

**Morand, C. (2014).** Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardiométabolique. *Journal of Médecine des maladies Métaboliques*, 8(5): 477-482.

**Morlot, C. (2003).** Etude structurale de PBP3 et localisation des six «Penicillin-Binding Proteins» de *Streptococcus pneumoniae*: implication dans la croissance et la division bactérienne. Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, France, 109-113.

**Morot-Gaudry, J. F. (1997).** Assimilation de l'azote chez les plantes: aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Ed, Quae, France, 1-424.

**Mouldi, G. et Louhaichi, M. (2021).** Managing Agrosilvopastoral Systems: understanding ecological and medicinal importance of indicator species: *Artemisia campestris L.*: ecologically important with allelopathic and antifungal constituents. *Journal of Ecology and Forages unit*, 163-227.

**Mucciarelli, M., Caramiello, R., Maffei, M. et Chialva, F. (1995).** Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North-West Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(1): 25-32.

**Mulvihill, E. E. et Huff, M. W. (2010).** Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health. *Canadian Journal of Cardiology*, 26: 17-21.

## N

**Naili, M. B., Alghazeer, R. O., Saleh, N. A. et Al-Najjar, A. Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris (Astraceae)* and *Ziziphus lotus (Rhamnaceae)*. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(2): 79-84.

**Nakahara, K. O. I. C. H. I., Kawabata, S. H. I. G. E. T. A. D. A., Ono, H. I. R. O. Y. U. K. I., Ogura, K. Y. O. I. C. H. I., Tanaka, T. A. K. A. H. A. R. U., Ooshima, T. A. K. A. S. H. I. et Hamada, S. H. I. G. E. Y. U. K. I. (1993).** Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glycosyltransferases of *mutans Streptococci*. *Applied and environmental Microbiology Journal*, 59 (4): 968-973.

**National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (2001).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement, Ed, CLSI supplement M100, Unites States of America, 88-114.

**Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. et De Feo, V. (2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Jornal of Pharmaceuticals*, 6(12): 1451-1474.

**Nicolini, G. (1960).** Botanique Encyclopédie Motta. Milan, Federico Motta Editore, Ed, Flore de l'Italie, Italia, 3: 693-708.

**Nitiema, L.W., Savadogo, A., Simpure, J., Dianou, D. et Traore, A.S. (2012).** In vitro Antimicrobial Activity of Some Phenolic Compounds (Coumarin and Quercetin) against Gastroenteritis Bacterial Strains. *International Journal of Microbiological Research*, 3(3): 183-187.

**Nobis, M., Ebel, A. L., Nowak, A., Turginov, O. T., Kupriyanov, A. N., Nobis, A. et Pujadas-Salva, A. J. (2014).** Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records, 2. *Journal of Acta Botanica Gallica*, 161(2): 209-221.

**Nohynek, L. J., Alakomi, H. L., Kähkönen, M. P., Heinonen, M., Helander, I. M., Oksman-Caldentey, K. M. et Puupponen-Pimiä, R. H. (2006).** Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and cancer, Sample Our Health and Social Care Journals*, 54(1): 18-32.

**Nouioua, W., Deffaf, B. et Charik., A. (2022).** Utilisation des plantes médicinales contre la lutte de la COVID-19. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique en Biochimie Appliquée, Université Mohamed Boudiaf-Msila, Algérie, 3-8.

### O

**Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P. et Barrett, J. F. (1993).** DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones (1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Ed, Elsevier, France, 3(2): 225-230.

**Oliveira, L. D. L. D., Carvalho, M. V. D. et Melo, L. (2014).** Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Journal of Revista Ceres*, 61: 764-779.

### P

**Paris, M., Hurabielle, M. et Paris, R. R. (1981).** Abrégé de Matière Médicale: Monographies (2. Partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale. Ed, Masson, France, 2: 61-80.

**Park, H. J. et Cha, H. C. (2003).** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean Journal of Biological Sciences*, 7(4): 327-330.

**Patel, J. J. et Brown, M. E. (1969).** Interactions of *Azotobacter* with rhizosphere and root-surface microflora. *Journal of Plant soil*, 31: 273-281.

**Pascale, S. et Veronique, C. (2006).** Les Polyphénols en Agroalimentaire. Ed.TEC & DOC, France. 2 : 301-319.

**Pavela, R. (2009).** Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of Parasitology research*, 105(3): 887-892.

**Perron, N. R. et Brumaghim, J. L. (2009).** A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Journal of Cell Biochemistry and Biophysics*, 53: 75-100.

**Philip, P. G. (2006).** The Science and Practice of Pharmacy. American. *Journal of Pharmaceutical Education*, 70-71.

**Philogène, B. J., Regnault-Roger, C. et Vincent, C. (2008).** Biopesticides d'origine végétale : bilan et perspectives. *Biopesticides d'origine végétale*, Ed, Technique & Documentation, France, 1-24.

**Pibiri, M. C. (2006).** Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles. Ed. EPFL, Suisse. 3311: 15-19.

**Pietta, P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035 – 1042.

**Pihlava, J. M., Hellström, J., Kurtelius, T. et Mattila, P. (2018).** Flavonoids, anthocyanins, phenolamides, benzoxazinoids, lignans and alkylresorcinols in rye (*Secale cereale*) and some rye products. *Journal of Cereal Science*, 79: 183-192.

**Pincemail, J., Haleng, J., Defraigne, J. O., Charlier, C. et Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Journal de Revue Médicale de Liège*, 62(10) : 628-38.

**Podsdek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. *Journal of LWT-Food Science and Technologie*. 40:1-11.

**Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. et Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Journal of LWT-Food Science and Technology*, 36(7): 679-684.

### Q

**Quispe-Candori, S., Foglio, M.A., Rosa, P.T.V. et Meireles, M.A.A. (2008).** Obtaining  $\beta$ - from *Cordia verbenacea* de Candolle by super critical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 46(1): 27-32.

### R

**Richard, T., Pawlus, A. D., Iglésias, M. L., Pedrot, E., Waffo-Teguo, P., Mérillon, J. M. et Monti, J. P. (2011).** Neuroprotective properties of resveratrol and derivatives. *Journal of Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215(1): 103-108.

**Richter, G. (1993).** *Métabolisme des Végétaux: Physiologie et Biochimie*, Ed, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, France, 318-338.

**Romero, M. R., Efferth, T., Serrano, M. A., Castaño, B., Macias, R. I., Briz, O. et Marin, J. J. (2005).** Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an “in vitro” replicative system. *Journal of Antiviral Research*, 68(2): 75-83.

**Roux, A.E., Leroux, A., Alaamery, M.A., Hoffman, C.S., Chartrand, P., Ferbeyre, G. et Rokeach, L.A. (2007).** Pro-Aging Effects of Glucose Signaling through a G Protein Coupled Glucose Receptor in Fission Yeast. *Journal of PLOS Genet* 5(3): 23-25.

## S

**Saleh, N. K. et Saleh, H. A. (2011).** Olive Oil Effectively Mitigates Ovariectomy Induced Osteoporosis In Rats. *Journal of BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11-10.

**Sayadi, S. et Odier, E. (1995).** Degradation of synthetic lignin by protoplasts of *Phanerochaete chrysosporium* with purified lignin peroxydase or manganese peroxydase. *Journal of Acta Biotechnologica*, (15):57-66.

**Scalbert, A., Manach, C., Morand, C. et Rémésy, C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Singleton, Ross (1965). Antifungal activity in vitro of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plan pathogenic fungi. *Journal of Ind Crops Prod*, 21: 81–87.

**Sefi, M., Fetoui, H., Makni, M. et 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. *Journal of Food and chemical toxicology*, 48(7): 1986-1993.

**Séréme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S. et Nacro, M. (2008).** Concentration en tanins des organes de plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*, 25(1) : 55-61.

**Shen, T., Wang, X. N. et Lou, H. X. (2009).** Natural stilbenes: an overview. *Journal of Natural product reports*, 26(7): 916-935.

**Shikanga, E. A., Combrinck, S. et Regnier, T. (2010).** South African Lippia herbal infusions: Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities. *South African Journal of Botany*. 76: 567–571.

**Sijelmassi, R. (1993).** Les Plantes Médicinales du Maroc, Ed, Fennec, Maroc, 25(7): 841-851.

**Silvestre D. J. A., AMS S., Almeida, L., CCL, P. et JAS, C. (1999).** L'huile essentielle d'*Artemisia campestris L. ssp. maritime*. Acta Hort, Journal de Word Deuxième Congrès sur les plantes médicinales et aromatiques pour le bien-être de l'homme, 500 : 93-96.

**Singleton, V.L., Orthofer, R. et Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Method.Enzymol, Ed, Elsevier, France, 299: 152-178.

**Sirerol, J. A., Rodríguez, M. L., Mena, S., Asensi, M. A., Estrela, J. M. et Ortega, A. L. (2016).** Role of natural stilbenes in the prevention of cancer. Journal of Oxidative medicine and cellular longevity. 1-11.

**Sökmen, B. B., Aydın, S. et Kınaloğlu, K. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb) Norman. IUFS Journal of Biology, 71(1): 43-51.

**Stalikas, C. D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of separation science, 30(18): 3268-3295.

**Stanković, M. S. (2011).** Total phenolic content, flavonoïd concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum L.* extracts. Kragujevac Journal Science, 33: 63-72

**Subally, D. et Quézel, P. (2002).** Glacial or interglacial: *Artemisia*, a plant indicator with dual responses. Review of Palaeobotany and Palynology, 120(1-2): 123-130.

### T

**Tadeusz, S. et Krzysztof, M. (2007).** Naukowe podstawy geoturystyki—zarys problematyki. Geoturystyka Journal, 4(11): 3-12.

**Tiwari, A. K. (2001).** Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. Journal of Current science, 81(9): 1179 - 1181.

**Tripathi, R., Banerji, R., Sharma, M., Balasubrahmanyam, V. et Nigam, S. (1985).** Essential oil from a new strain of *Ocimum gratissimum* against betelvine pathogenic fungi. Journal of Agricultor Biological Chemistry, 4: 2277-2282.

**Tsuchiya, H. et Iinuma, M. (2000).** Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. Journal of Phytomedicine, 7(2): 161-165.

**Turesson, G. (1925).** The Plant Species in Relation to Habitat and Climate: contributions to the knowledge of genecological units, Ed, Hereditas, Sweden, 6(2): 147-236.

### U

**Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G. et Wegrzyn, G. (2008).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Journal of Archives of Microbiology*, 184 (5): 271 –278.

### V

**Van Dam, R. M. et Feskens, E. J. (2002).** Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Journal of The Lancet*, 360(9344): 1477-1478.

**Vandi, D., Nga, E. N., Betti, J. L., Loe, G. M. E., Ottou, P. B. M., Priso, R. J. et Mpondo, E. M. (2016).** Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 30(3): 4797-4814.

**Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J. et Boerjan, W. (2010).** Lignin biosynthesis and structure. *Journal of Plant physiology*, 153(3): 895-905.

**Varsha, S., Tahira, B., Rana, T. et Shahdab, H. (2021).** Phytochemical studies on some selected species of *Asteraceae* family of Rajasthan, India. *Journal of Plant Archives*, 21(2): 62-65.

**Vasconcelos, J. M., Silva, A. M. et Cavaleiro, J. A. (1998).** Chromones and flavanones from *Artemisia campestris* sub sp. *maritima*. *Journal of Phytochemistry*, 49(5): 1421-1424.

**Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J. et Spencer, J. P. E. (2010).** Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. *Journal of Nutrients*, 2: 1106-1131.

### X

**Xiuzhen, H., Tao, S. et Hongxiang, L. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950-988.

### Y

**Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D. et Ouar Korich, M. N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Journal de Médecine du Maghreb*, 91(1): 5-12.

**Yam, M.F., Ang, L.F., Ameer, O. Z., Salman, I.M., Aziz, H.A. et Asmawi, M.Z. (2009).** Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 280-287.

**Yang, C. S., Li, G., Yang, Z., Guan, F., Chen, A. et Ju, J. (2013).** Cancer prevention by tocopherols and tea polyphenols. *Journal of Cancer Letters* 334: 79–85.

**Yoshino, M. et Murakami, K. (1998).** Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Analytical Biochemistry*, Ed, Elsevier, France, 257 : 40-44.

**Youssef, M. A. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, Ed, Ibis Press, Algérie, 154-164.

### Z

**Zeghdoud, H. et Chennai, H. Y. (2018).** Valorisation de deux plantes médicinales abondantes en Algérie et évaluation de leurs effets biologiques. Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique, Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie, 114-115-116.

**Zhao, W.H., Hu, Z. Q., Hara, Y. et Shimamura, T. (2002).** Inhibition of penicillinase by epigallocatechin gallate resulting in restoration of antibacterial activity of penicillin against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 46(7): 2266-2268.

**Zhou, H. Y., Hong, J. L., Shu, P., Juan Ni, Y. et Qin, M. J. (2009).** A new dicoumarin and anticoagulant activity from *Viola yedoensis Makino*. *Journal of Fitoterapia*, 80 : 283–285.

---

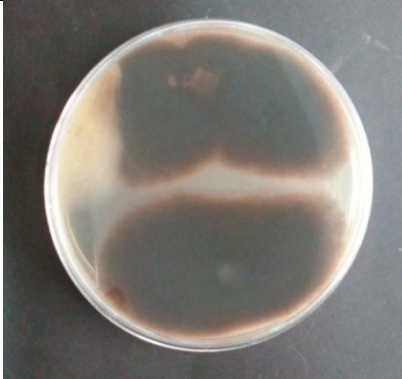

# **Annexes**

---


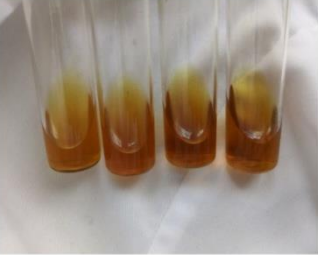

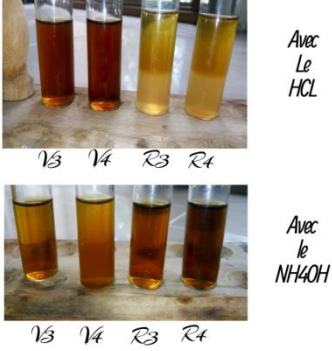


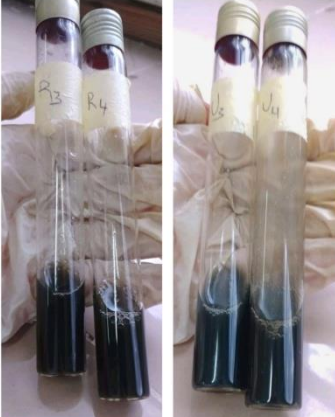



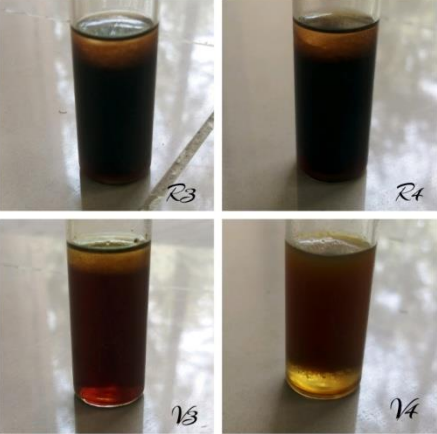
## Annexe 01: Composition des milieux de culture.

Milieu MH (Gélose Mueller Hinton)	Gélose nutritive	Gélose à l'extrait de malt
Hydrolysat acide de caséine (peptone) : 17,5g Extrait de viande : 2g Amidon : 1,5g Calcium : 20 à 25mg Magnésium : 10 à 12,5 mg Agar : 15g Eau distillée : 1000 mL	extrait de viande : 1,0g extrait de levure : 2,5g peptone : 5,0g chlorure de sodium : 5,0g Agar : 15,0g	Extrait de malt : 17,5g Peptone : 2g Agar : 15g Eau distillé : 1000 mL
pH : 7,4 ± 0,2	pH : 7,0	pH : 5,4 ± 0,2

## Annexe 02: Généralités sur les souches fongiques utilisées.

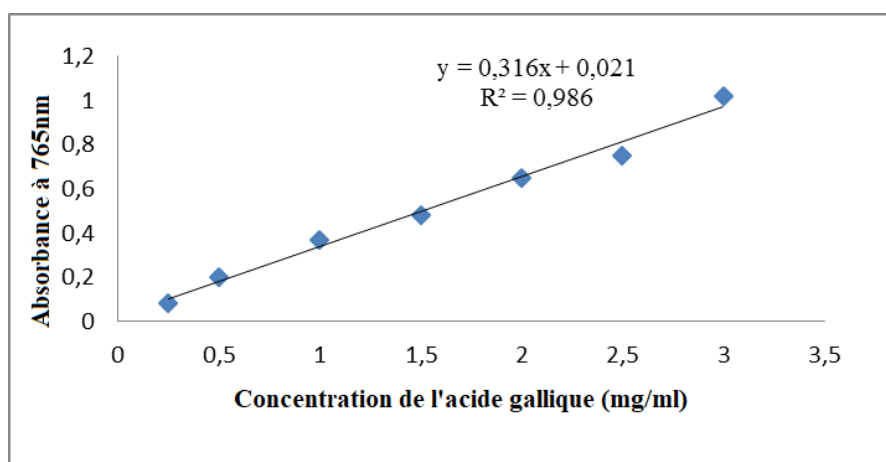
	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Généralités	<p>C'est un champignon deutéromycètes de la famille des Pleosporaceae, à croissance rapide et des colonies de couleur sombre (brun, vert foncé). Cette pigmentation est due à la dihydroxynaphtalène-mélanine. Morphologiquement, ce sont des conidies avec des septes transversaux et longitudinaux formant parfois une chaîne. Il est responsables de maladies des plantes (alternariose), de la phaeohyphomycose et il est impliqué dans des allergies respiratoires.</p>	<p>L'aspergille noire, est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des Eurotiales. Il apparait sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Il est l'une des causes les plus courantes d'otomycose, une infection fongique de l'oreille qui peut provoquer une perte auditive temporaire. Le champignon peut aussi engendrer une aspergillose.</p>
Photo représentative		

Annexe 03: Résultats du screening phytochimique.

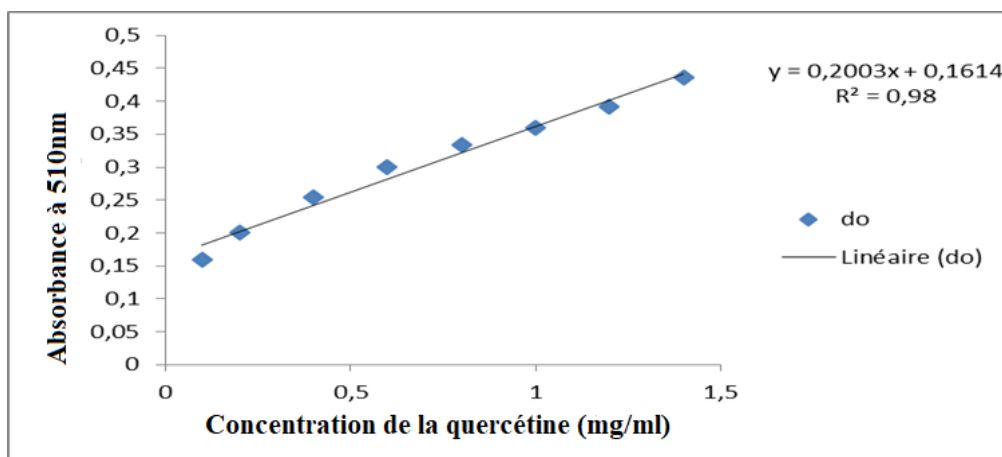
<p><b>Flavonoïdes</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	<p><b>Quinones</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	<p><b>Coumarines</b></p> 
<p><b>Anthocyanes</b></p>	 <p>Avec le HCL V3 V4 R3 R4</p> <p>Avec le NH4OH V3 V4 R3 R4</p>	<p><b>Saponosides</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	<p><b>Amidon</b></p>  <p>R3 R4 V3 V4</p>
<p><b>Tanins totaux</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	<p><b>Tanins catéchiques</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	<p><b>Tanins galliques</b></p>  <p>R4 R3 V3 V4</p>
<p><b>Stérols</b></p>	 <p>V3 V4 R3 R4</p>	<p><b>Triterpènes</b></p>	 <p>R3 R4 V3 V4</p>	



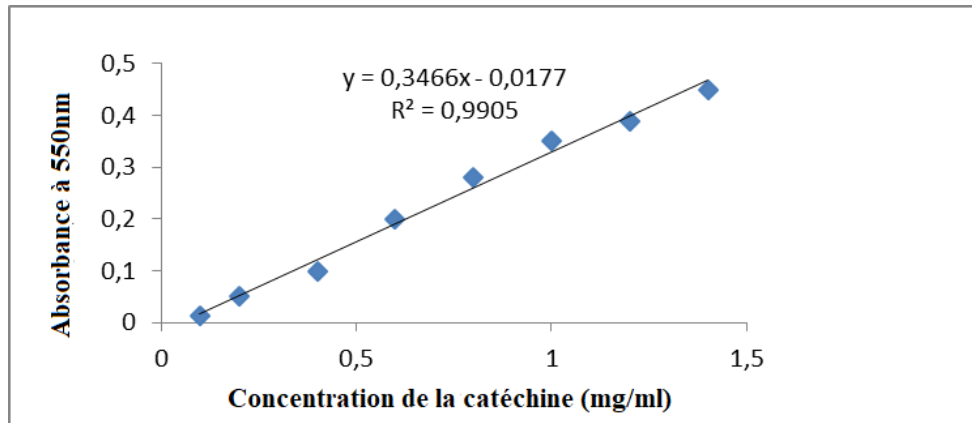
**Annexe 04:** Droite d'étalonnage de l'acide gallique.





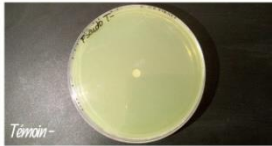

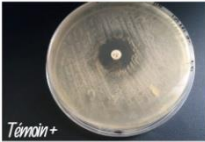
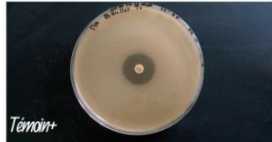
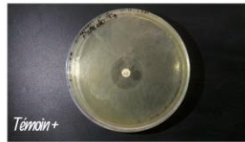

**Annexe 05:** Droite d'étalonnage de la quercétine.

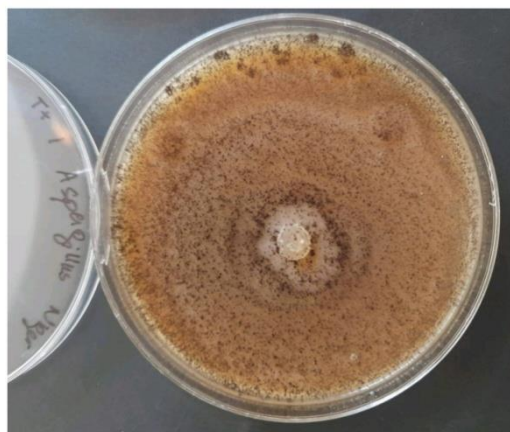


Annexe 06: Droite d'étalonnage de la catéchine.



Annexe 07: Photos représentatives des boîtes témoin, des souches bactériennes testées.

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
 Témoin-	 Témoin-	 Témoin-	 Témoin-
 Témoin+	 Témoin+	 Témoin+	 Témoin+

Annexe 08: Photo représentative de la boîte témoin, d'*Aspergillus niger*.

## Résumé

Ces dernières années, l'intérêt thérapeutique porté aux composés phénoliques contenus dans les plantes s'est vu grandir significativement. *Artemisia campestris L.* est l'une de ces plantes médicinales de la famille des *Asteraceae*, à être très utilisée en Algérie à des fins curatives. Ce travail a pour objectif, l'analyse qualitative et quantitative des substances actives de quatre extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L.* provenant de Tébessa, ainsi que l'estimation de leur activité antimicrobienne. L'extraction par macération dans le méthanol a abouti à des rendements importants. Le screening phytochimique a révélé la richesse de la plante en substances actives. Les différents dosages de polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins témoignent d'une bonne teneur en ces derniers. L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton réalisée sur quatre souches bactériennes référenciées (*Staphylococcus aureus* MU 50 (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Bacillus cereus* ATCC 14575). Les résultats indiquent que les extraits manifestent un effet inhibiteur contre les souches testées excepté *Bacillus cereus*. Les extraits ont montré une activité antifongique considérable vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et moyenne vis-à-vis d'*Alternaria sp.*

**Mots clés :** Armoise, *Asteraceae*, *Artemisia campestris L.*, extrait méthanolique, activité antifongique, activité antibactérienne.

## Abstract

In recent years, the therapeutic interest in phenolic compounds contained in plants has grown significantly. *Artemisia campestris L.* is one of the medicinal plants of the *Asteraceae* family, which is widely used in Algeria for curative purposes. This work aims at the qualitative and quantitative analysis of the active substances of four extracts of the aerial part of *Artemisia campestris L.* coming from Tébessa, as well as the estimation of their antimicrobial activity. Extraction by maceration in methanol resulted in significant yields. The phytochemical screening revealed the richness of the plant in active substances. The different assays of total polyphenols, flavonoids and tannins show a good content of the latter. The antibacterial activity was determined by the diffusion method on Mueller Hinton agar on four referenced bacterial strains (*Staphylococcus aureus* MU 50 (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Bacillus cereus* ATCC 14575) The results indicate that the extracts show an inhibitory effect against the tested strains except *Bacillus cereus*. The extracts showed considerable antifungal activity against *Aspergillus niger* and moderate activity against *Alternaria sp.*

**Key words:** Mugwort, *Asteraceae*, *Artemisia campestris L.*, methanolic extract, antifungal activity, antibacterial activity.