

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 20 AOUT 1955 - SIKKDA



Faculté des sciences

Département de chimie

Mémoire de Master

Filière : chimie-Spécialité : chimie pharmaceutique

**Etude phytochimique et pharmacologique d'une plante
médicinale algérienne de la famille Acteraceae**

Présenté par :

BOUZAOUT ABIR & CHETIOUI RIHAB

Soutenu le 25/06/2024

Devant le jury:

Président	Dr. A.MAHMOUDI	(MCA)	Université 20 Août 1955-Skikda
Rapporteuse	Dr.W.BENABDERRAHMANE	(MCB)	Université 20 Août 1955-Skikda
Examinatrice	Dr. H.AISSAOUI	(MCB)	Université 20 Août 1955-Skikda

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

الحمد لله الذي أعاننا على إنهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه فكل توفيق منه وحده وكل سهو أو خطأ فمننا أو من الشيطان

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas.

Très chanceuses d'avoir eu comme encadreur l'honorable Dr.Wassila BENABDERRAHMANE. On la remercie tout particulièrement pour son acceptation de nous encadrer, pour le temps qu'elle nous a consacrée, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour sa compréhension, sa patience, ses relectures et ses conseils précieux, pour sa disponibilité à tout instant et pour ses orientations judicieuses, le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Merci chère madame, puissiez-vous trouver notre profonde reconnaissance.

Notre profonde gratitude va également à Dr. Abdelghani MAHMOUDI, pour le remercier de l'honneur qu'il nous a accordé en acceptant de présider le jury de ce mémoire, et d'apporter ses regards d'expert sur ce travail.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions. Dr. Hanane AISSAOUI. Pour avoir accepté de participer au jugement de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire, ainsi que tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.

Dédicace

Grâce à Dieux qui m'a donné le pouvoir et le courage à accomplir notre travail.

A mes très chers parents

Pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes nos études

Pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leurs encouragements qu'ils m'ont apportés au cours de ce travaille.

A mes sœurs et frères :

Malak, Yahia, Zakaria, Mahdi. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir plein de bonheur et de succès.

A mes chères amies :

Romaissa, Khadidja, Nihal, Safaa, Rokaya, Yasmine, En souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble. J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

Une grande dédicace à ma chère et binôme Rihab CHETIOUI, En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments.

Abir

Dédicace

A l'aide d'Allah le tout puissant, qui m'a tracé le chemin et m'a guidé dans ma vie je dédie ce travail : A mes très chers parents.

Tout d'abord et spécialement à ma chère mère ♥ Laila SAYOUD ♥ qui aurait été fière de ma réussite.

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte maman, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

À mon père ♥ Riyad ♥ : Ta sagesse et ton courage ont toujours été sécurisants. Travailleur exemplaire et infatigable, avec tes modestes moyens, tu as toujours subvenu à nos besoins, tu as rempli pleinement ton rôle de père. Merci pour tes sacrifices, et tous que tu as fait pour que je deviens cette fille que je suis.

A mon marie ♥ Hicham ♥ : Pour ses encouragements constants et son soutien moral et matériel et ses prières continues tout au long de mon parcours universitaire, merci pour votre confiance et votre compréhension.

Je tiens à remercier chaleureusement Dr ♥ Wassila BENABDERRAHMANE♥, notre médecin et superviseure, pour son traitement élégant et son beau sourire, qui a été une source de soutien, de confiance, d'efforts et d'encouragement pour moi.

A mes chers frères : Abd El moncif et Moayed Modjib Abderrahmane et Rassim.

A mes chères sœurs : Houyame et Riham.

A mes grandes mères : Fatima et Louiza.

A mes grands pères : Tahar et Saad. (Paix a ses âmes)

Mon Oncle Soufian : merci pour votre tendresse, votre amour et votre soutien constant pour moi.

Ma tante Zahia : Merci beaucoup pour votre tendresse en tante, vos encouragements continus, vos précieux conseils et vos souhaits d'exceller et de briller.

Ma voisine et chère Samia, merci beaucoup pour vos encouragements et votre aide à ramasser cette plante pour faire cette humble œuvre, que Dieu vous sauve.

A toute ma grande famille.

A la famille de mon mari pour leur grand soutien.

A mes belles copines Chaima, Yasmine, Abir et chams.

À ma chère binôme Abir BOUZAOUIT pour son soutien moral, sa patience, compréhension, ainsi que sa famille.

À tous personnes de près ou de loin qui connaissent et aime Rihab.

♥ Rihab ♥

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....1

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.Introduction..... 3

I.2.Présentation de la famille Asteraceae 3

I.2.1. Description botanique de la famille des Asteraceae..... 4

I.2.2. Position systématique de la famille des Asteraceae..... 4

I.2.3. Distribution géographique 5

I.3. Genre *Achillea* 5

I.4. Espèce *Achillea millefolium* L 5

I.4.1. Etymologie 6

I.4.2. Classification et dénominations 7

I.4.3. Classification botanique de l'espèce *Achillea millefolium* L..... 7

I.4.4. Description botanique 7

I.4.5. Distribution géographique 7

I.4.6. Utilisation en médecine traditionnelle..... 8

I.4.7. Travaux antérieurs..... 8

I.4.7.1. Constituants chimiques 8

I.4.7.2. Propriétés physiques et pharmacologiques 9

I.4.8. Toxicité 13

I.5.Conclusion 13

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Introduction 14

II.2. Matériel et produits utilisés..... 14

II.3. Matériel végétal 15

II.4. Etude phytochimique de l'espèce *Achillea millefolium* L 15

II.4.1. Récolte du matériel végétal 15

II.4.2. Screening phytochimique.....	16
II.4.2.1. Recherche des alcaloïdes.....	17
II.4.2.2. Recherche des coumarines.....	17
II.4.2.3. Recherche des triterpènes, stérols et terpènes.....	18
II.4.2.4. Recherche des substances poly phénoliques (tanins).....	19
II.4.2.5. Recherche des flavonoïdes et des leuco anthocyanes.....	19
II.4.2.6. Recherche des saponines.....	20
II.4.2.7. Recherche des anthocyanes.....	20
II.4.2.8. Recherche des quinones.....	21
II.5. Préparation des extraits.....	21
II.6. Evaluation des activités biologiques.....	24
II.6.1. Activité antibactérienne.....	24
II.6.2. Activité antifongique.....	29
II.6.3. Activité antioxydante.....	30
II.7. Conclusion.....	31

Chapitre III : Résultats et discussion

III .1. Introduction.....	32
III .2. Screening phytochimique.....	32
III.3. Rendements des extraits.....	36
III.4. Evaluation des activités biologiques.....	37
III.4.1. Activité antibactérienne.....	37
III.4.2. Activité antifongique.....	46
III.4.3. Activité antioxydante.....	48
III.5. Conclusion.....	51
Conclusion générale.....	52

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle

BDZ : benzodiazépine

BHT : hydroxytoluène butylé

C : Concentration

°C : Degré Celsius

CHCl₃: Chloroforme

cm: centimètre

CMI : la concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EtOH : Ethanol

FeCl₃: trichloride de fer

g : gramme

h: heure

HCl : Acide chlorhydrique

I% : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

IV : intraveineuse

m : masse

m : mètre

MeOH : Méthanol

mg: Milligramme

mg/mL : Milligramme par millilitre

mg /kg: Milligramme par kilogramme

MH : Muller-Hinton

min : minute

ml : Millilitre

mm : millimètre

MV : Matière végétale

N : normalité

NaOH : Hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

R : Rendement

S: seconde

SB : Souche bactérienne

UAE : Extraction assistée par ultrasons

µg : Microgramme

µg /ml : Microgramme par millilitre

µL : Microlitre

UV : Ultra-violet

vv: volume\ volume

ZI : Zone d'inhibition

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. 1 : Classification classique de la famille des Asteraceae.....	4
Tableau I. 2 : Classification génétique de la famille des Asteraceae.....	5
Tableau I. 3 : Classification taxonomique de l'espèce <i>Achillea millefolium</i> L.....	7
Tableau II.1 : Matériel et produits utilisés.....	14
Tableau II.2 : Noms des souches bactériennes utilisées.....	24
Tableau III.1. Résultats du screening phytochimiques d'extraits d' <i>A. millefolium</i>	32
Tableau III.2 : Rendements des extraits obtenus par l'extraction par ultrasons.....	36
Tableau III.3: Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait MeOH.....	37
Tableau III.4 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait AcOEt.....	38
Tableau III.5: Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait CHCl ₃	40
Tableau III.6 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait MeOH.....	41
Tableau III. 7 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait CHCl ₃	43
Tableau III.8. : Résultats d'activité antifongique.....	47
Tableau III.9. : IC ₅₀ des extraits AcOEt et MeOH d' <i>A. millefolium</i>	49

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Types de fleurs des Asteraceae.....	4
Figure I.2 : Illustration de l'espèce <i>Achillea millefolium</i> L.....	6
Figure II.1: <i>Achillea millefolium</i> L.....	16
Figure II.2: Matériel végétal sèche.....	16
Figure II.3: Etapes d'extraction par ultrasons.....	22
Figure II.4: Schéma des étapes d'extraction par ultrasons.....	23
Figure II.5: Souches bactériennes utilisée.....	25
Figure II.6: Différentes étapes de préparation de l'inoculum bactérien.....	27
Figure II.7: Extraits dilués.....	27
Figure II.8: Différentes étapes de l'activité antibactérienne.....	28
Figure II.9: Moisissure du beurre animal.....	29
Figure II.10: Différentes étapes de l'activité antifongique.....	30
Figure III.1: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait MeOH contre les bactéries testées.....	38
Figure III.2: Zone d'inhibition de l'extrait MeOH.....	38
Figure. III.3: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait AcOEt contre les bactéries testées.....	39
Figure III.4: Zone d'inhibition de l'extrait acétate d'éthyle.....	39
Figure. III.5: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait CHCl ₃ contre les bactéries testées.....	40
Figure III.6: Zone d'inhibition de l'extrait CHCl ₃	41
Figure III.7: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait MeOH contre les bactéries testées.....	42
Figure III.8: Zone d'inhibition de l'extrait MeOH.....	43
Figure III.9: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait CHCl ₃ contre les bactéries testées.....	44
Figure III.10: Zone d'inhibition de l'extrait CHCl ₃	45
Figure III.11: Activité antifongique des extraits de l'espèce <i>A. millefolium</i>	48
Figure III.12: Pourcentage de l'activité antiradicalaire des extraits AcOEt et MeOH vis-à-vis du radical libre DPPH.....	49

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

Le savoir traditionnel des plantes médicinales est une pierre angulaire sur laquelle la médecine s'est construite depuis le début de l'humanité. En combinant ces connaissances traditionnelles avec de nouvelles méthodes issues de la science moderne, les possibilités de développement de médicaments semblent infinies. Ainsi, le domaine de l'ethnopharmacologie s'est considérablement élargi, avec une pléthore d'articles publiés chaque année. [1]

Les plantes ont servi de matière première aux médicaments grâce à leurs substances actives. Aujourd'hui, environ 60% des médicaments présents sur le marché sont issus ou dérivent de substances naturelles d'origine végétale. Cependant, les plantes ont également des propriétés toxiques qu'il est important de connaître afin d'éviter des cas d'intoxications qui peuvent être parfois mortels. Depuis quelques années, les professionnels de santé observent un certain engouement de la part des français pour la phytothérapie. De plus en plus de patients sont à la recherche de médicaments à base de plantes ; ces médicaments symbolisent un « retour à la nature » s'inscrivant davantage dans une démarche écologique par rapport aux médicaments synthétiques. L'une des familles de plantes souvent conseillées en officine est la famille des Astéracées. [2]

La famille des Astéracées contient des plantes aromatiques et médicinales qui possède une grande importance en médecine traditionnelle grâce à leur confinement de métabolites bioactifs secondaires (terpènes et huiles essentielles, polyphénols) ce qui en fait un sujet important de la recherche scientifique. Les composés de cette famille possèdent également des propriétés physico-chimiques très différentes, ce qui lui confère leur diverses activités biologiques (antitumorales, antivirales, antioxydantes, ...etc.) [3]

L'abondance de rapports bibliographiques présentant des plantes de haute importance ethnopharmacologique, combinée à notre intérêt pour la famille des Astéracées et la médecine traditionnelle, nous a amenés à reconnaître la valeur du genre *Achillea*.

Le genre *Achillea* comprend 130 espèces végétales, fait partie de la famille des Astéracées et est réparti à travers l'Europe et l'Asie dans l'hémisphère nord. Ces plantes prospèrent généralement dans les climats tempérés et se trouvent généralement dans des environnements secs ou demi-secs. [4]

Introduction générale

Plusieurs espèces de ce genre sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle de différents pays. En particulier, *Achillea millefolium* L. (Espèces étroitement apparentées qui sont traitées comme une seule espèce), connue sous le nom *A. millefolium*, est utilisée sous des formes brutes à diverses fins thérapeutiques telles que les thés pour les problèmes digestifs et les infections respiratoires ou les poudres de cataplasmes pour les troubles cutanés, etc. [1]

Dans ce contexte, notre but principal dans ce présent travail est l'extraction et l'identification de la composition chimique, ainsi que l'évaluation des propriétés biologiques (antioxydante, antibactérienne, et antifongique), des extraits bruts des parties aériennes de cette espèce qui a été récoltées dans la région de Tamalous (Skikda).

Cette étude sera présentée sous forme de trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre : on va rappeler bibliographiquement la famille des Astéracées, le genre *Achillea*, et l'espèce *A. millefolium*. que nous allons étudier pratiquement.
- ✓ Le deuxième chapitre : portera sur le matériel et le protocole d'extraction de l'extrait brut d'*A. millefolium* et les différents tests biologiques (test de l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne, et l'activité antifongique), et screening phytochimique.
- ✓ Le troisième chapitre : dans ce chapitre nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions.

Et finalement nous finirons le tout par une conclusion générale qui clôturera la présentation de ce travail.

Chapitre I

I.1.Introduction

Achillea millefolium, également connue sous le nom d'herbe à la coupure ou de millefeuille, est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Asteraceae. Cette plante de la méditerranée, aux fleurs blanches caractéristiques, a une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle en raison de ses propriétés biologiques et pharmacologiques remarquables, et c'est ce qui nous a fait mettre en avant cette espèce.

Dans ce chapitre approfondi, nous explorerons les aspects botaniques, géographiques, médicaux et pharmacologiques de cette plante fascinante.

I.2.Présentation de la famille Asteraceae

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur ; son nom scientifique : Asteraceae a été introduit par Martynov en 1820. Le nom Compositae revient à Giseke dès 1792. C'est la famille la plus importante des Angiospermes, avec 25 000 espèces réparties en 1600 genres. Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces de cette famille. [5]

La famille Asteraceae est la plus vaste du groupe des dicotylédones. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille..., etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes..., etc.). [5]

En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires. De ce fait, de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les principes amers (sesquiterpènes lactones), les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, les terpènes, principaux constituants chimiques des Astéracées expliquent la diversité de leurs activités pharmacologiques. [5]



Figure I.1 : Types de fleurs des Asteraceae

I.2.1. Description botanique de la famille des Asteraceae

La famille Asteraceae est la plus vaste du groupe des dicotylédones. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.). En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires. [6]

I.2.2. Position systématique de la famille des Asteraceae

En note deux types de classification de la famille des Asteraceae classique et génétique.

- ✓ La classification classique est représentée comme suit [7]

Tableau I.1 : Classification classique de la famille des Asteraceae

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Embranchement	Phanerogamae (Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Composées)

✓ Classification génétique

Tableau I. 2: Classification génétique de la famille des Asteraceae [8]

Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Astéridées
Clade	Campanulidées
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae

I.2.3. Distribution géographique

C'est l'une des familles botaniques des plus cosmopolites ; particulièrement adaptée aux régions semi-arides de la région méditerranéenne, de l'Afrique australe, du Mexique, du sud-ouest des Etats-Unis et des régions arides d'Amérique du Sud.

En Algérie, la position géographique et la diversité climatique lui confère une des flores les plus diversifiées et les plus originales du bassin méditerranéen. [9]

I.3. Genre *Achillea*

Plante herbacée vivace qui pousse dans les prairies, lisières, clairières et bords de chemin des régions tempérées, l'*Achillea* doit son nom au naturaliste Pline l'Ancien qui l'a nommé ainsi en hommage au guerrier légendaire grec Achille, lequel en aurait fait usage pour ses propriétés vulnérables. La plante est probablement utilisée par les hominiens depuis la préhistoire, ce dont témoigne la découverte d'une quantité importante de pollens d'*Achillea* dans des sédiments de la "tombe aux fleurs" du Néandertalien, daté d'il y a environ 50'000 ans. [10]

I.4. Espèce *Achillea millefolium* L

Achillea millefolium L. est une espèce du genre *Achillea* et appartient à la famille des Asteraceae c'est une plante aromatique aux feuilles finement ciselées et aux petites fleurs blanches en ombelles, c'est une plante originaire d'Europe et ses propriétés médicinales sont connues depuis l'antiquité. [11]

Autrefois, *A. millefolium* était utilisée pour arrêter les hémorragies causées par les blessures (la guerre de Troie). Cette espèce était autrefois appelée " saigne-nez, herbe aux

charpentiers, herbe aux couronnes, herbe aux militaires, sourcil de Vénus ... ". [11] C'est une jolie plante vivace, très appréciée pour son feuillage mais aussi pour ses propriétés médicinales ; tonique, stimulante, hémostatique, antispasmodique, et également efficace contre le rhume des foins et la grippe, elle a une palette de couleurs qui part du jaune en allant vers le rose ou le blanc [12]



Figure I.2: Illustration de l'espèce *Achillea millefolium* L.

I.4.1. Etymologie

A. millefolium connue depuis des temps très anciens comme une herbe sacrée, et c'est au héros grec Achille que revient pour la première fois l'usage de ses propriétés cicatrisantes pour soigner les blessures d'armes de ses compagnons, pendant la guerre de Troie. [13]

D'après Pline, le nom *Achillea* vient d'Achille qui se servait de la plante pour soigner les blessures connues depuis l'Antiquité en médecine grecque. Discoride (I^{er} siècle) la recommande contre les plaies saignantes et les ulcères récents ou anciens. [14]

Au moyen âge, Saine Hildegarde (XII^e siècle) vante ses effets contre les troubles de la menstruation et les saignements de nez, d'où son nom de « saigne-nez ».

Cazin (XIX^e siècle) rapporte qu'on attribuait à *A. millefolium* des indications très diversifiées : dans les hémorragies, les hémorroïdes, les aménorrhées, les troubles nerveux et les fièvres intermittentes. C'est un remède tonique, astringent et sédatif. La médecine populaire lui reconnaît des effets cicatrisants et l'appelle l'herbe à la coupure ou l'herbe aux charpentiers. [14]

I.4.2. Classification et dénominations

Selon la classification de Linné, *A. millefolium* fait partie de la famille des Astéracées.

Noms français : *Achillée millefeuille*, herbe militaire, herbe à coupures, herbe aux

Noms anglais: yarrow, milfoil, millefolium. Charpentiers.

Nom pharmaceutique : *Achillea millefolii* herba cum flore [15]

I.4.3. Classification botanique

Tableau I.3 : Classification taxonomique de l'espèce *A. millefolium* [16]

Règne	Plantae
Superdivision	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Achillea</i>
Espèce	<i>Achillea millefolium</i> L

I.4.4. Description botanique

A. millefolium est une plante à tige peu ramifiée qui mesure en moyenne entre 60 et 80 cm. Certaines plantes peuvent toutefois atteindre jusqu'à 2 m. Les tiges sont caractérisées par la présence de poils blanchâtres. Ses feuilles sont allongées, étroites et pétiolées à la base. Son feuillage est plumeux et aromatique. Leur teinte tire sur le vert vif. Les fleurs sont regroupées en une inflorescence sous forme de corymbes composées de capitules à fleurs tubulées au centre (caractéristique des Astéracées). Les capitules de fleurs d'*A. millefolium* peuvent être blancs, roses, pourpres. Le cœur des fleurons peut être jaune ou rose. La floraison se situe entre juin et septembre. Les graines des fleurs sont plutôt petites et grises. [17]

I.4.5. Distribution géographique

A. millefolium est indigène en Europe et dans le nord de l'Eurasie mais également en Amérique du Nord. D'introduction plus récente dans l'hémisphère sud, elle est a priori absente dans la péninsule arabe et la majeure partie du continent Africain. [10]

I.4.6. Utilisation en médecine traditionnelle

En utilisant les fleurs et les feuilles pour faire des infusions, des bains ou des compresses.

A. millefolium est traditionnellement utilisée pour nettoyer les blessures et par fois comme hémostatique. *A. millefolium* était employée pour soigner la fièvre, le rhume, la dysenterie et l'hypertension. Elle a également été utilisée en médecine populaire pour soulager les maux de dents et de l'oreille ou pour les maladies des poumons, de la vessie et des reins. Aujourd'hui, elle est prise par voie orale pour traiter divers troubles gastro-intestinaux. [18]

I.4.7. Travaux antérieurs**I.4.7.1. Constituants chimiques [19]****➤ Acides organiques**

- ✓ **Acides gras** : acide linoléique, acide myristique, acide oléique, acide palmitique, acide stéarique
- ✓ **Acides aminés** : alanine, acide aspartique, acide glutamique, histidine, leucine, lysine, proline, valine
- ✓ **Vitamines hydrosolubles** : acide ascorbique, acide folique
- ✓ **Monoacides aromatiques** : Acide salicylique
- ✓ **Acides phénoliques** : acide caféique, *coumarines*
- ✓ **Acides dicarboxyliques** : Acide succinique

➤ Huile essentielle (terpènes, terpénoïdes, dérivés terpéniques)

L'huile essentielle d'achillée est bleue, ce qui est dû à la présence d'azulène et chamazulène. Elle est inflammable à 59°C (point éclair).

- ✓ **Monoterpènes** : azulène, sabinène, eucalyptol (ou cinéol), camphre, limonène, acétate de bornyle, bornéol, terpinéol, ascaridole, pinène, camphène, thuyone
- ✓ **Lactones sesquiterpéniques** : germacranolides, guaianolides, eudesmanolides, matricine, achilline, achillifoline, millefine, dihydroparthenolide, balchanolide
- ✓ **Sesquiterpènes** : caryophyllène
- ✓ **Terpénoïdes** : chamazulène

➤ Alcaloïdes

➤ Achilléine, achicéine, bétonicine, moschatine, trigonelline

➤ Tanins

✓ Bétaïnes : bétaïne, stachydrine, choline

➤ **Polyphénols**

✓ Flavonoïdes : apigénine, lutéoline, artémétine, casticine, isorhamnétine, lutéoline, rutine, vitexine, schaftoside, isorientine, orientine

➤ **Polymères**

✓ Polyacétylène

I.4.7.2. Propriétés physiques et pharmacologiques

a) Activité antioxydant et anti-tumoral

Des tests menés *in vivo* en 2013 par une équipe universitaire brésilienne ont permis d'évoquer le pouvoir antimutagène d'*Achillea* chez le rat. Pour cette expérience, ils ont administré par voie orale de l'infusion (35g de feuille pour un litre d'eau) à une dose de 100 mL/100 g de poids corporel. Ils ont également réalisé des injections intrapéritonéales de cyclophosphamide (un agent alkylant). [15]

Après observation microscopique de cellules de moelle osseuse, les chercheurs ont montré que, non seulement l'extrait aqueux ne possède pas de cytotoxicité mais, qu'en plus, il réduit significativement les altérations chromosomales induites par le cyclophosphamide (de l'ordre de 68%). Ce fort pouvoir antioxydant serait dû, selon les auteurs, aux flavonoïdes et aux composés phénoliques d'*A. millefolium*. [15]

En 2002, autres chercheurs avaient aussi essayé de mettre en évidence le pouvoir antioxydant d'*Achillea* pour cela, ils ont testé l'huile essentielle et l'extrait hydroalcoolique de la plante comparativement à trois antioxydants connus : la curcumine (issue du curcuma), l'acide ascorbique et l'hydroxytoluène butylé (BHT). Au cours de leurs investigations *in vitro*, ils se sont rendu compte que l'extrait hydro-alcoolique d'*Achillea* était plus efficace que l'acide ascorbique pour lutter contre le radical superoxyde.

Concernant l'huile essentielle, ils ont mis en lumière qu'elle était plus efficace que la curcumine et le BHT pour lutter contre le radical hydroxyle et contre la peroxydation lipidique. En outre, l'huile essentielle présenterait un fort pouvoir de donneur d'électrons et d'hydrogènes, nécessaire à la stabilisation des radicaux libres. [15]

b) Activité antibactérienne

Dans une étude précédente, *A. millefolium* a montré une activité antibactérienne contre *S. typhimurium* et *S. aureus* avec des CMI prédites de l'ordre de 10 s de $\mu\text{g/mL}$ ou de 10 s de

mg/mL, respectivement. Un certain nombre d'études ont examiné les propriétés antibactériennes de cette espèce et ont trouvé des résultats montrant que cette espèce est caractérisé par une bonne activité antibactérienne. [20]

c) Activité anti-inflammatoire

Des études antérieures qu'ont révélé l'huile essentielle d'*A. millefolium* possède une bonne activité anti-inflammatoire et est utilisée pour traiter les rhumatismes, les douleurs musculaires et guérir les coupures ou les plaies enflammées. Son constituant phytochimique notamment les flavonoïdes, en plus d'avoir un effet sur la production de prostaglandines, possèdent un effet anti-inflammatoire. [20]

d) Activité anticancéreuse

A. millefolium possède une bonne activité anticancéreuse. Le constituant phytochimique de cette espèce, à savoir les flavonoïdes et les sesquiterpénoïdes, a des effets antiprolifératifs contre les cellules leucémiques P-388 de souris et l'adénocarcinome épithélial du col de l'utérus (HeLa), l'adénocarcinome épithélial du sein (MCF-7) et le carcinome épidermoïde cutané (A431).[20]

e) Hépatoprotectrice

Dans un article publié en 2006, l'activité hépatoprotectrice d'*Achillea* a été mise en avant par le biais d'un travail sur la souris. Les chercheurs se sont aperçus qu'en traitant en amont les souris par un extrait d'*A. millefolium*, on pouvait réduire significativement le taux de mortalité en cas d'hépatite induite. De plus, il semblerait que l'achillée aide à lutter contre l'augmentation de l'Alanine-Amino-Transferase (ALAT) et de l'Aspartate- Amino-Transferase (ASAT). Au niveau histologique, on observerait une diminution de la congestion du parenchyme, une meilleure architecture globale des cellules hépatiques ainsi qu'une diminution de leur gonflement, ce qui traduirait une amélioration globale de l'état du foie. [15]

f) Anti-hypertenseur

En 2010, Khan et Gilani ont cherché à mettre en évidence le pouvoir anti-hypertenseur d'*A. millefolium*. Dans un premier temps, ils ont testé l'extrait hydro-alcoolique sur un morceau d'artère de rat et ont observé une diminution dose-dépendante de la pression artérielle. [21]

Dans un deuxième temps, ils ont cherché à savoir si cette diminution de pression était due à une vasodilatation ou à une diminution de la contractilité cardiaque. Ils ont donc testé l'extrait d'*A. millefolium* sur un morceau d'atrium de cochon d'Inde et sur un morceau d'artère de lapin. Ils ont constaté que, non seulement cet extrait diminue la force et le nombre de contractions spontanées du tissu cardiaque, avec une action semblable à celle du vérapamil, mais, qu'en plus, cet extrait diminue la vasoconstriction par blocage des canaux calciques. C'est donc cette double composante qui entrainerait la diminution de la pression artérielle. [15]

Cette constatation vient donc répondre à la question précédemment évoquée au sujet de la capacité spasmolytique d'*A. millefolium* : outre son activité sur les spasmes intestinaux et utérins, elle aurait aussi la capacité d'agir sur les vaisseaux sanguins. Il est à noter que cette propriété a été évoquée par d'autres auteurs qui précisent que *A. millefolium* serait emménagogue, c'est-à-dire qu'elle aurait la capacité de stimuler le flux sanguin au niveau de l'utérus et, d'une manière plus générale, dans la région pelvienne. [15]

Pour mieux comprendre son mode d'action, des scientifiques ont cherché à savoir si un constituant en particulier avait une action ciblée. Après expérimentation chez le rat, ils ont montré qu'une injection IV d'artemetine à la dose de 0,75 mg/kg a la capacité de réduire l'hypertension induite par l'angiotensine I, mais pas celle induite 60 par l'angiotensine II. A travers cette étude très intéressante, ils ont mis en évidence que l'activité d'*A. millefolium*, en grande partie, due à l'artemetine. Celle-ci ne se comporterait pas comme un antagoniste de l'angiotensine I mais agirait plutôt comme un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, mode d'action bien connu de notre pharmacologie actuelle. [15]

g) Activité anxiolytique

L'extrait hydroalcoolique de parties aériennes d'*A. millefolium* a été évalué pour son effet anxiolytique potentiel chez des souris soumises à des tests élevés de labyrinthe plus, de marbre et de champ ouvert. Le flumazénil (1,0 mg/kg) et la picrotoxine (1,0 mg/kg) ont été administrés par voie intrapéritonéale 30 min avant l'administration de l'extrait hydroalcoolique d'*A. millefolium* (300 mg/kg). *A. millefolium* a exercé des effets de type anxiolytique dans le test de labyrinthe plus élevé et d'enfouissement de marbre après une administration aiguë et chronique (25 jours) à des doses qui n'ont pas modifié l'activité locomotrice. Les effets d'*A. millefolium* dans le labyrinthe plus élevé n'ont pas été altérés

par le prétraitement des picotoxines mais ont été partiellement bloqués par le flumazénil. *A. millefolium* n'a induit aucun changement dans la liaison du [(3) H] -flunitrazépam au site de la benzodiazépine (BDZ) sur le récepteur GABA(A), ce qui indique que les effets de type anxiolytique n'étaient probablement pas médiés par la neurotransmission GABA(A)/BDZ et pourraient être un candidat prometteur pour le développement futur en tant que nouveau médicament anxiolytique. [20]

h) Activité hormonale

A. millefolium, est une plante connue pour posséder une activité progestative. Néanmoins, les données concernant son mode d'action sont peu précises et surtout assez contradictoires.

Certaines publications affirment en effet que des composants, et notamment la lutéoline et la quercétine, seraient des antagonistes des récepteurs à la progestérone. L'apigénine se lierait aussi à ces récepteurs, mais on ne sait pour le moment pas si elle se comporte comme un agoniste ou plutôt comme un antagoniste. [15]

De nombreux auteurs affirment, quant à eux, que *A. millefolium*, se comporterait comme un « progestérone-like », c'est-à-dire comme une molécule capable de stimuler la sécrétion progestéronique de l'organisme et de rendre les récepteurs plus sensibles à la progestérone.

Quoiqu'il en soit, que *Achillea*, se comporte comme un agoniste ou un antagoniste, on peut imaginer qu'elle prenne la place de la progestérone au niveau des récepteurs, ce qui permettrait d'augmenter les taux circulants de progestérone et donc, d'augmenter la sécrétion d'œstrogènes via la voie de la 17-OHP. Avec *Achillea*, on pourrait donc envisager un véritable traitement de terrain pour pallier aux carences hormonales observées durant la péri-ménopause et la ménopause. [15]

De plus, en 2005, une expérience chez le rat a permis de mettre en évidence que la lutéoline, l'apigénine et la quercétine auraient un potentiel inhibiteur sur la réduction de la progestérone en 20- α -hydroxyprogestérone, ce qui permettrait donc d'augmenter les taux circulants de progestérone chez l'individu. [22]

I.4.8. Toxicité

Food and Drug Administration (équivalent européen de notre Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) classe *A. millefolium* dans la catégorie des plantes « non toxiques ». Elle a aussi approuvé son utilisation dans des boissons alcoolisées. Cependant, les risques pour la santé associés à une exposition à long terme à des extraits d'*A. millefolium* ne sont pas encore tout à fait bien établis. [23]

En 2003, une étude avait montré que l'ingestion de dose bien supérieure à ce que l'on recommande habituellement chez l'Homme n'avait fait encourir aux rats aucun risque ni contraceptif, ni abortif ou tératogène. [24]. En 2004, une autre étude avait démontré qu'aucun risque toxicologique n'était à craindre sur la reproduction à long terme avec les doses d'*A. millefolium* couramment consommée par l'Homme [25]

Si les études menées en 2006, là encore sur des rats, n'avaient montrées aucun signe de toxicité pertinent pour des doses d'extrait aqueux allant de 10g par kilo par voie orale à 3g par kilo par voie intrapéritonéale, les études à plus long terme (1,2g par kilo et par jour, par gavage, sur une période de 90 jours) ont, elles, fait apparaître une légère modification du poids du foie des animaux, de leur cholestérol sanguin ainsi que de leur glycémie, sans que cela ne soit probant. [26]

I.5. Conclusion

A. millefolium est une plante fascinante, riche en histoire et en propriétés médicinales. Ses vertus anti-inflammatoires, anti oxydantes, antimicrobiennes et cicatrisantes en font une ressource précieuse en phytothérapie. Bien que ses usages traditionnels soient bien documentés, des études scientifiques approfondies sont encore nécessaires pour mieux comprendre ses mécanismes d'action et optimiser ses applications médicinales. À l'avenir, les recherches devraient se concentrer sur l'isolement et la caractérisation de ses principaux principes actifs, ainsi que sur l'évaluation de ses effets thérapeutiques sur différentes pathologies. Cette plante aux multiples facettes mérite une attention particulière, car elle pourrait offrir de nouvelles perspectives dans le domaine de la médecine naturelle.

Chapitre II

II.1. Introduction

Nos travaux de recherche ont été réalisés au sein de l'Université 20 aout 1955Skikda, Screening phytochimique (Hall, Faculté des sciences, département de chimie), Activités biologiques (laboratoire de chimie et microbiologie Appliquée, Faculté des sciences, département SNV).

Dans ce chapitre, nous présenterons les différentes méthodes et matériaux utilisés pour préparer le matériel végétal, ainsi que la méthodologie des plans expérimentaux approuvés pour son étude. Notre travail sera partagé en trois étapes : le Screening phytochimique, l'extraction et les activités biologiques.

II.2. Matériel et produits utilisés

Le matériel ainsi que les différents produits chimiques et biologique utilisés pour réaliser le présent travail sont décrits dans le (Tableau II.1).

Tableau II.1 : Matériel et produits utilisés

Matériel	Produits
<ul style="list-style-type: none"> • Ultrason • Evaporateur rotatif • Sonicateur • Erlen Mayer • UV • Spectrophotomètre • Tubes à essai • Portoirs • Papier filtre • Ballon • Bécher • Balance de précision • Entonnoir • Pipette graduée • Verre de monte • Spatule • Eprouvette 	<ul style="list-style-type: none"> • Acétate d'éthyle • Méthanol • Chloroforme • Éther diéthylique • Ammoniaque • Anhydre d'acétique • Acide sulfurique • Chlorure ferrique • Acétate de sodium • NaOH • HCl • Éther de pétrole • Coupeaux de magnésium • Réactif de Wagner • Gélose nutritive • MH • DMSO

<ul style="list-style-type: none"> • Bec bunsen • Bain marie • Autoclave • Etuve • Anse de platine • Pipette pasteur • Boites de pétri • Ecouillons stériles • Pince • Disques stériles • Perforateur de papier • Seringue • Étiquettes • Marquer indélébile 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Eau physiologie • Sabouraud • DPPH
--	---

Suite Tableau II.1 : Matériel et produits utilisés

II.3. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne (feuilles, tiges et fleurs) de l'espèce *A. millefolium*.

II.4. Etude phytochimique de l'espèce *Achillea millefolium* L

II.4.1. Récolte du matériel végétal

A. millefolium a été récolté de la région de tamalous (Skikda) en mars et la fin d'avril 2024 et authentifiée par le professeur Mohamed Kaabache (département de botanique, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie).

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) ont été séchées dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires et d'humidité ensuite broyées et pesées, et on obtient finalement (m = 400 g).



Figure II.1: *Achillea millefolium* L.



Figure II.2: Matériel végétal sèche.

II.4.2. Screening phytochimique

Le screening d'une plante sert à caractériser les groupes chimiques contenus dans cette plante afin d'expliquer ces effets thérapeutiques [27]. Nous avons entrepris un screening phytochimique de l'espèce *A. millefolium* afin de connaître ses principaux constituants et ainsi mieux comprendre les propriétés biologiques de ses extraits.

Le screening s'est fait sur les feuilles et les tiges de la plante et avec divers réactifs. Les résultats sont classés selon :

- Réaction positive : +
- Réaction négative : -

Les parties aériennes d'*A. millefolium* séchées sont réduites en poudre au mortier traditionnel. Le protocole réalisé lors de ce screening est le suivant :

II.4.2.1. Recherche des alcaloïdes**❖ Produits utilisés :**

- ✓ Poudre végétale.....5 g ;
- ✓ Acide sulfurique dilué à 10%...25 mL ;
- ✓ Eau distillée ;
- ✓ Réactif de Wagner ;

❖ Solution à analyser : Nous avons :

- Dissout 5g de poudre végétale dans 25ml d'acide sulfurique dilué à 10% dans un Erlen Meyer de 250 mL ;
- Agiter et laissé macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire ;
- Filtré et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 25mL du filtrat ;
- Introduit 1ml du filtrat dans un tube à essai ;
- Ajouté 3 gouttes du réactif de Wagner ;

❖ Caractérisation :

La coloration rouge indique la présence d'alcaloïdes.

II.4.2.2. Recherche des coumarines [28]**❖ Produits utilisés :**

- ✓ Poudre végétale.....1g ;
- ✓ Éther diéthylique...20 mL
- ✓ Ammoniaque à 25% ;
- ✓ Eau distillée.... 2 mL.

❖ Solution à analyser ; Nous avons :

- ✓ Mis 1g de poudre végétale dans un Erlen Mayer ;
- ✓ Ajouté 20 mL de l'éther di éthylique à la poudre avec agitation ;
- ✓ Laissez macérer pendant 24 heures ;
- ✓ Filtré et complété le filtrat jusqu'à 20 mL ;
- ✓ Évaporé l'extrait éthéré à l'air libre jusqu'à 5 mL ;
- ✓ Repris avec 2 mL de l'eau chaude ;
- ✓ Partagé la solution entre deux tubes à essai ;
- ✓ Ajouté au contenu de l'un des tubes de l'ammoniaque à 25% ; mélange et observé la fluorescence sous UV à 366 nm.

❖ Caractérisation :

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

II.4.2.3. Recherche des triterpènes, stérols et terpènes**❖ Produits utilisés :**

- ✓ Poudre végétale.....5 g ;
- ✓ Solution de méthanol/eau (v/v 80 :20) ;
- ✓ Méthanol.....50 mL ;
- ✓ Éther di éthylique.....20 mL ;
- ✓ Chloroforme ;
- ✓ Anhydre d'acétique ;
- ✓ Acide sulfurique concentré.

❖ Solution à analyser : nous avons :

- ✓ Laisser macérer 5 g de matière végétale dans 50mL de Solution de méthanol/eau (v/v 80 :20) pendant 24 heures et filtré ;
- ✓ Évaporé l'extrait hydro alcoolique à sec ;
- ✓ Ajouté 20 mL de l'éther di éthylique après refroidissement afin de dissoudre les composés apolaires.

✚ Identification des terpènes et stérols [29]

La phase étherée obtenue est évaporée à sec, puis reprise par 15 mL de chloroforme. la solution ainsi obtenue est divisée en 3 parties :

- ✓ La première partie : laissée comme témoin
- ✓ La deuxième partie : à cette solution on a rajouté 3mL d'anhydre acétique et 3gouttes d'acide sulfurique concentré.

❖ Caractérisation :

Un changement de couleur rapide est en faveur de la présence de composés stéroïdiens saturés, cette couleur devenue vert foncé montre la présence des terpènes

- ✓ La troisième partie : à cette partie on a ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique.

❖ Caractérisation :

L'apparition d'une couleur rouge cerise montre la présence des stérols insaturés.

❖ Identification des triterpènes [30]

Un volume de 10 mL d'extrait hydro alcoolique est évaporé à sec, le résidu obtenu est dissous dans 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL de chloroforme. La solution ainsi obtenue est transférée dans un tube sec avec une pipette pasteur on rajoute (1-2 mL) d'acide sulfurique concentré au fond du tube.

❖ Caractérisation :

Au contact des deux phases organiques la formation d'un anneau marron montre la présence des triterpènes.

II.4.2.4. Recherche des substances poly phénoliques (tanins)**❖ Produits utilisés :**

Matière végétale..... 5 g ;

- ✓ FeCl₃ (1%)quelques gouttes ;
- ✓ Acétate de sodium.....suffisamment pour saturation ;
- ✓ Eau distillée.

❖ Solution à analyser : 5g de matière végétale sont infusés dans 50mL d'eau distillée bouillante pendant 30 minutes.

❖ Tanins catéchiques [31]

2 mL de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à (1%).

❖ Caractérisation :

L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiques.

❖ Tanins galliques [30]

2 mL de l'infusé précédent sont prélevés est mis dans un tube à essai, saturé en acétate de sodium, puis on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à (1%).

❖ Caractérisation :

La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques.

II.4.2.5. Recherche des flavonoïdes et des leuco anthocyanes [32]**❖ Produits utilisés :**

- ✓ Matière végétale..... 5 g ;
- ✓ Eau distillée ;
- ✓ NaOH (1N) ;

- ✓ HCl concentré ;
- ✓ Coupeaux de magnésium.

❖ **Solution à analyser :**

- ✓ 5 g de matière végétale sont infusés dans 50 mL d'eau distillée pendant quelques minutes
- ✓ Après filtration on introduit 6mL du filtrat dans 3 tubes chacun contient 2mL on ajoute dans :
- ✓ 1^{er} tube : 1mL de NaOH ;
- ✓ 2^{ème} tube : 1 mL d'eau distillée ;
- ✓ 3^{ème} tube : 1mL de HCl concentré et des coupeaux de magnésium.

❖ **Caractérisation :**

En présence des flavonoïdes les colorations suivantes : rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge violacé, rouge foncé ou violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observées.

La coloration rouge au 3eme tube confirme la présence des leuco anthocyanes.

II.4.2.6. Recherche des saponines [33]

❖ **Produits utilisés :**

- ✓ Matière végétale..... 5 g ;
- ✓ Eau distillée.

❖ **Solution à analyser ;**

- ✓ Une quantité de l'infusé utilisé dans la recherche des flavonoïdes a été mis dans un Erlenmayer;
- ✓ Nous avons agité pendant quelques minutes.

❖ **Caractérisation :**

L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

II.4.2.7. Recherche des anthocyanes [34]

❖ **Produits utilisés :**

- ✓ Matière végétale..... 5 g ;
- ✓ Ammoniaque à 10%...5 mL ;
- ✓ Acide sulfurique dilué à 10%...5 mL ;
- ✓ Eau distillée.

❖ **Solution à analyser :**

- ✓ 5g de matière végétale a été laissé dans 50 mL d'eau distillée bouillante pendant 15 min ;
- ✓ On a Filtré et complété avec l'eau jusqu'à 50mL ;
- ✓ 5 mL d'acide sulfurique dilué à 10% et 5mL d'ammoniaque à 10% ont été pris et y ajouté.

❖ **Caractérisation :**

La coloration bleu-violacée indique la présence d'anthocyanes.

II.4.2.8. Recherche des quinones [35]

❖ **Produits utilisés :**

- ✓ Matière végétale..... 5 g ;
- ✓ HCl quelques gouttes ;
- ✓ Éther de pétrole...10 mL ;
- ✓ NaOH10% ...2 mL.

❖ **Solution à analyser :**

- ✓ 5g de matière végétale ont été humecté par quelques gouttes de HCl ;
- ✓ cette matière a été mis en macération dans un Erlen contenant 10mL d'éther de pétrole pendant 24 heures ;
- ✓ Après filtration ; 2 mL du filtrat ont été mis dans un tube à essai ;
- ✓ 2 mL de NaOH 10% ont été ajouté au filtrat.

❖ **Caractérisation :** la coloration rouge –violet indique la présence des quinones.

II.5. Préparation des extraits

La préparation des extraits a été réalisée la technique d'extraction par ultrasons en utilisant trois solvants différents (acétate d'éthyle et méthanol et chloroforme).

 **Extraction par ultrasons (EAU)**

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons est une technique simple, efficace et peu couteuse qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps soumise à l'action des ultrasons. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des huiles essentielles (carvone, gingerols, huile d'amande...), des protéines (soja), des polyphénols, des anthocyanines,

des saponines, des polysaccharides ainsi que dans la pasteurisation et la production de produits laitiers. [36]

❖ Protocol d'extraction

400 g des parties aériennes d'*A. millefolium* ont été soumises à une extraction par ultrasons. Des extractions successives avec des solvants organiques (100 mL) de polarité croissante (chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol) sont réalisées sur les broyats d'écorces d'*A. millefolium*. L'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été réalisée dans un sonicateur. Les paramètres d'extraction ont été définis comme suit : temps 45 min, amplitude 60 %, température 36°C, temps de marche 15 s et temps d'arrêt 5 s. 80 g de la plante coupée en très petits morceaux ont été mélangés avec 400 mL de solvant organique puis une sonde à ultrasons a été immergée dans le récipient.

Après 45 min de macération sous les effets mécaniques de la cavitation induite par l'ultrason, tels que la chaleur, la pression, les ondes de choc, la solution obtenue a été filtrée sur papier Wattman. La matière végétale restant a été récupérée et l'opération a été renouvelée deux fois afin de réaliser deux épuisements pour chaque solvant que nous avons gardé séparément.

Les solvants ont été éliminés au moyen d'un évaporateur rotatif (Figure II.3). Après évaporation, les extraits obtenus sont stockés à 4 °C et à l'abri de la lumière. Avec les masses suivantes extrait de CHCl_3 (5,12 g) ; extrait AcOEt (3 g) ; extrait MeOH (5,62 g)



Figure II.3: Etapes d'extraction par ultrasons.

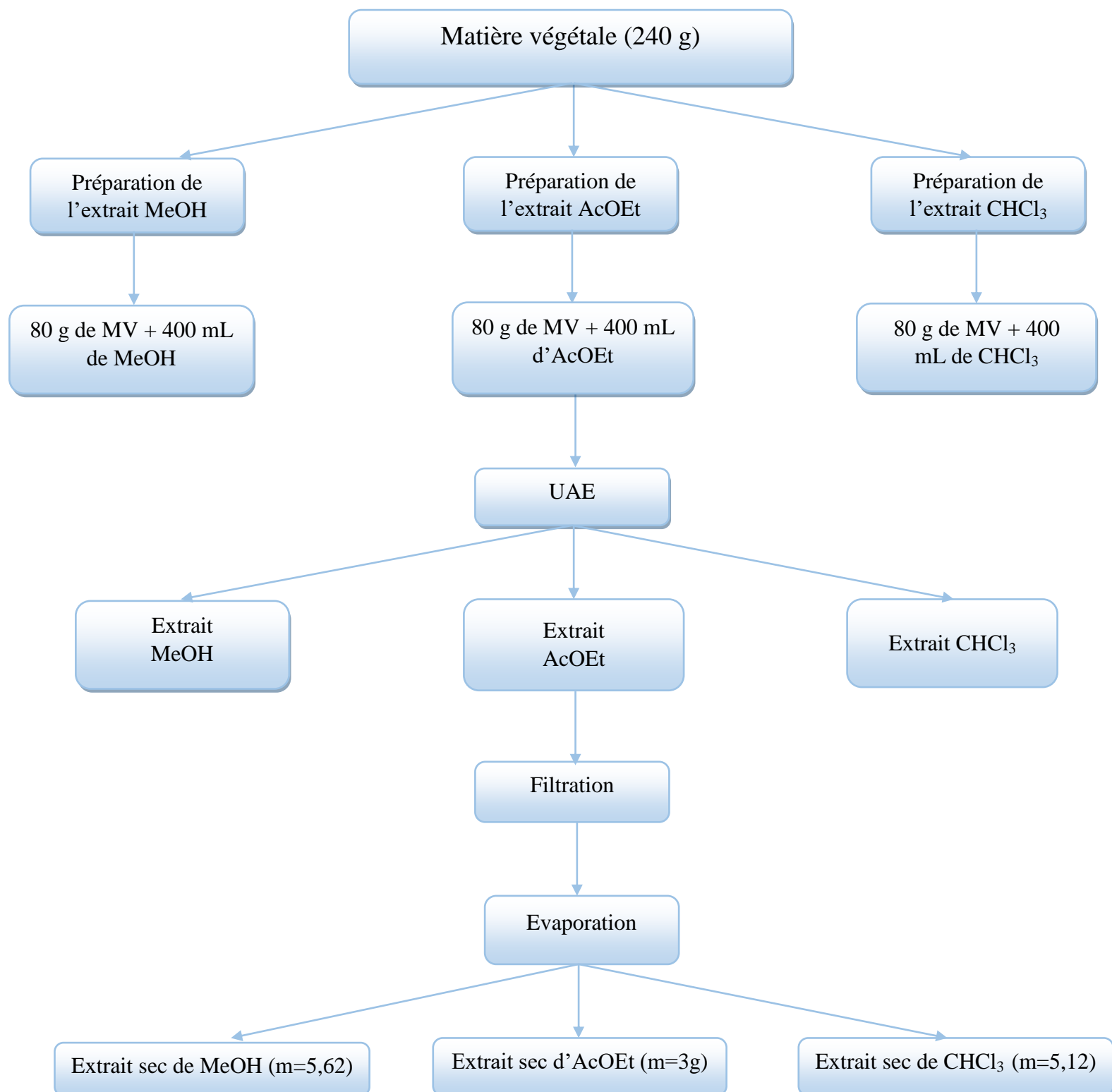


Figure II.4: Schéma des étapes d'extraction par ultrasons

❖ Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de différents extraits est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal utilisé.

Ce rendement est calculé via l'équation : $R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}$.

- ✓ R % : Rendement des extraits exprimés en pourcentage (%).
- ✓ M_{ext} : la masse de l'extrait sec en g.
- ✓ $M_{\text{éch}}$: la masse du matériel végétal en g.

II.6. Évaluation des activités biologiques**II.6.1. Activité antibactérienne****❖ Objectif**

Déterminer parmi les extraits préparés ceux qui ont la plus grande activité inhibitrice des bactéries à Gram-négatif, et Gram-positif.

❖ Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide (MH) dans des boîtes de pétrie, après un certain temps de contact entre le produit et les microorganismes cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition.

L'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puit ou disque, elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition supérieur à 8mm. [16]

❖ Protocole expérimental**✚ Souches bactériennes**

Les tests antibactériens ont été effectués sur quatre souches cliniques, deux souches au niveau clinique NISOMED privé et deux souches au niveau EPH Skikda, qui sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II.2 : Noms des souches bactériennes utilisées

Nom de souche	Origine	Gram
<i>Escherichia coli</i>	Infexieux urinaire	Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infexieux, pus	Gram positif
<i>Streptococcus</i>	Reanimation, hemoculture	Gram positif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Infexieux urinaire	Gram négatif

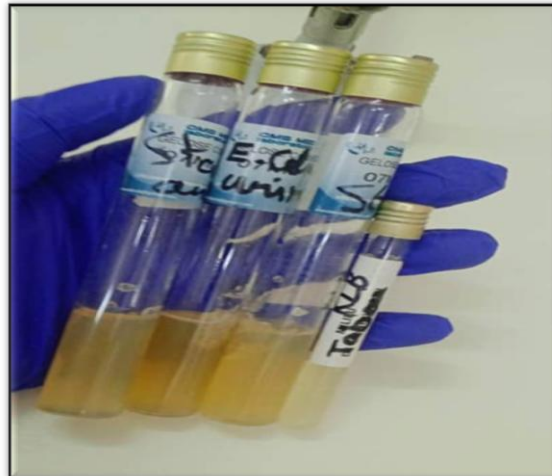


Figure II.5 : Souches bactériennes utilisées.

✚ Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir de papier wattman, avec un diamètre de 6 mm puis ils ont été mis dans un tube à essai, et ont été stérilisés à l'autoclave après ils ont été conservé jusqu'à l'utilisation.

✚ Préparation du milieu de culture

Les milieux de culture qui ont été utilisés sont : Gélose nutritive et Muller-Hinton

✓ Gélose nutritive

La gélose nutritive stérile a été bouillie dans un bain-marie pendant environ 1h du temps pour devenir liquide, puis elle a été coulée dans des boîtes de pétrie avec une épaisseur de 4 à 5 mm dans une zone stérile par le Bec benzène. Les boîtes de pétrie ont été laissées sécher à température ambiante près du bec benzène pour éviter leurs contaminations avec les bactéries de l'air. [16]

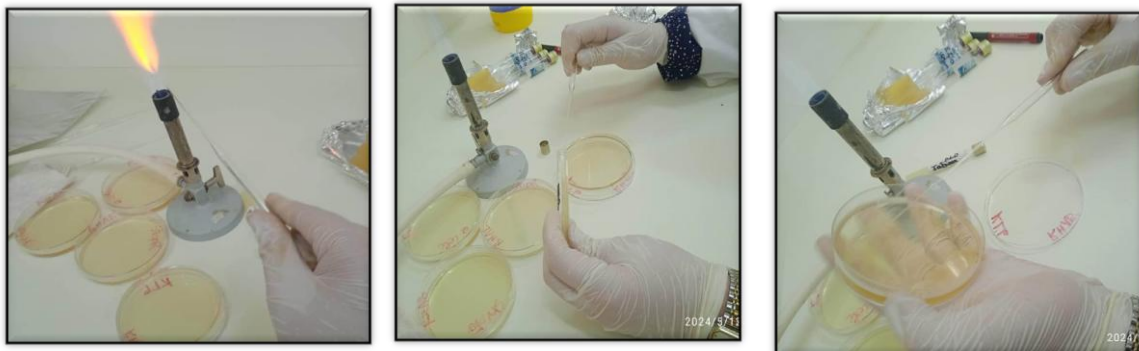
✓ Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : Muller-Hinton. Dans un bain marie, il faut faire bouillir la gélose jusqu'à dissolution totale. Puis une stérilisation à l'autoclave est nécessaire avant utilisation. Enfin couler le milieu dans les boîtes de pétri et laisser refroidir. [37]

✚ Préparation de l'inoculum bactérien

Chaque souche a été ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 3 ml d'eau physiologique stérile, ensuite les tubes ont été agités au vortex pendant quelques secondes.



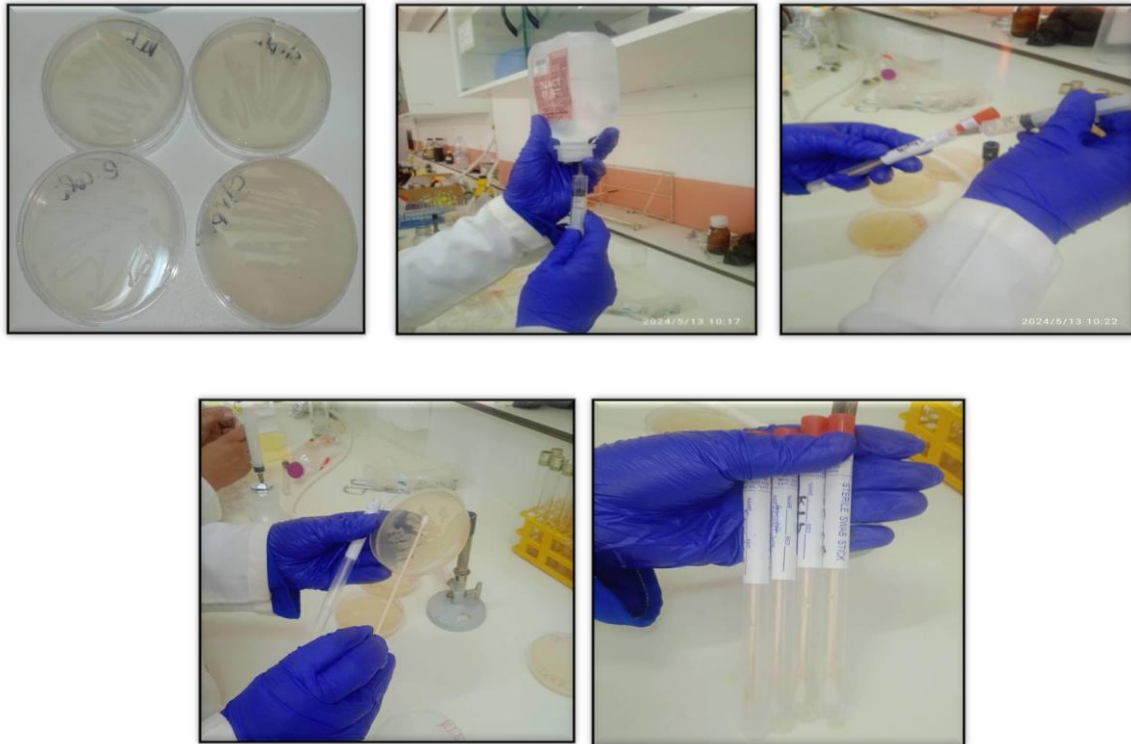


Figure II. 6: Différentes étapes de préparation de l'inoculum bactérien.

✚ Dilutions des extraits

Les extraits de la plante obtenus ont été dissouts dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO), pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg/mL.



Figure II.7 : Extraits dilués.

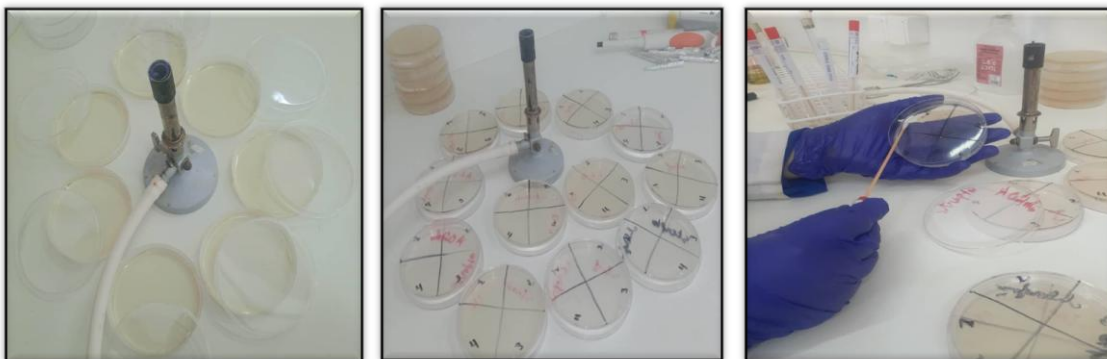
✚ Ensemencement et dépôt des disques

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène pour éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse.
- L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage de suspension bactérienne sur toute la surface M.H à trois reprises, la boîte a été tournée à environ 60° après chaque application afin d'avoir une distribution égale de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon.
- Les boîtes de pétri ont été divisés en quatre parties, chaque partie est dédiée à chaque extrait.
- Les disques imprégnés d'extraits ont été déposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile au bec benzène.
- 10 μ L de chaque dilution ont été mit dans les disques.
- Dans une chaque boîte de pétri un disque de (DMSO) a été mit comme un contrôle négatif (témoin).
- Les boîtes de pétri ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. [38]

✚ Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats ont été exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches.

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm. [38]



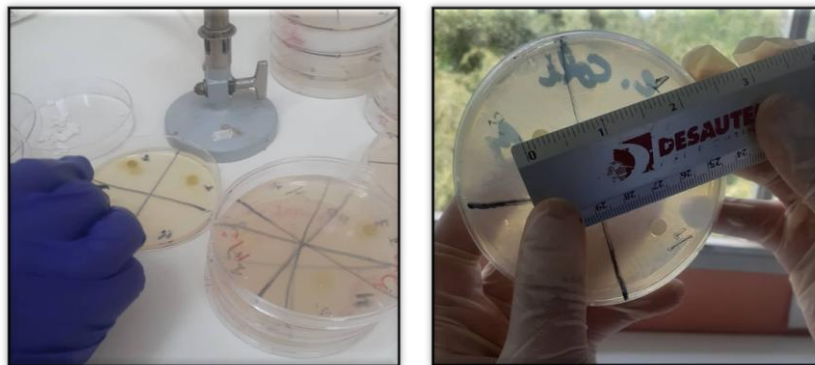


Figure II.8: Différentes étapes de l'activité antibactérienne.

- La même expérience a été répétée pour l'activité antibactérienne, mais les extraits ont été dissous dans les mêmes solvants au lieu du DMSO.

II.6.2. Activité antifongique

L'objectif principal de ce protocole est de déterminer l'efficacité d'un composé ou d'un extrait naturel à inhiber la croissance de champignon alimentaire. Cela permettra d'identifier de nouvelles pistes thérapeutiques potentielles dans le domaine des antifongiques.

✚ Choix de champignon

Le champignon utilisé dans ce teste est la moisissure du beurre animal.



Figure II.9: Moisissure du beurre animal.

✚ Préparation des milieux de cultures

La gélose Sabouraud stérile bouillie dans un bain-marie pendant pour devenir liquide.

1mL de chaque extrait a été mis dans sa propre boîte de Pétri puis on a versé la gélose Sabouraud liquide.

✚ Préparation et incubation des cultures

A l'aide d'une l'anse de platine stérile, des fragments fongiques sont prélevés à partir de beurre est moisi.

Ces fragments ont été ensuite déposés aseptiquement aux centres des boîtes de Pétri préparées précédemment avec les extraits. Les boîtes de Petriensemencées sont ensuite fermées hermétiquement, avant d'être incubées dans une étuve à 30°C et à l'obscurité.

La durée d'incubation de l'antifongigramme est de 48 heures.

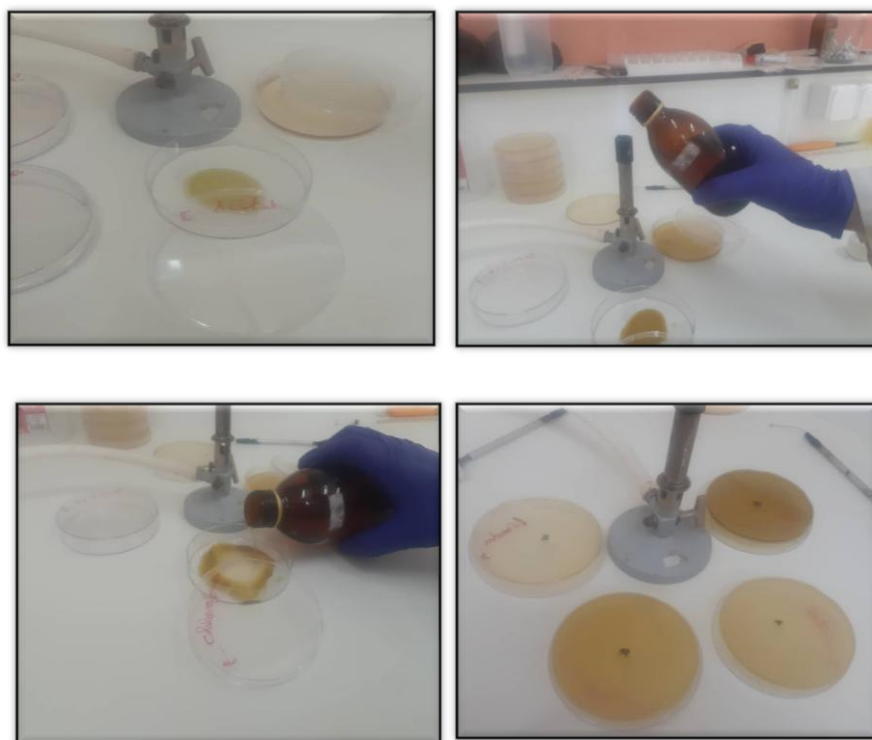


Figure II.10: Différentes étapes de l'activité antifongique.

II.6.3. Activité antioxydante

❖ Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qu'absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, il est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est basée sur la mesure de la

capacité des antioxydants à piéger ce radical. Le pourcentage de piégeage du radical (I%) est calculé selon l'équation suivante : $I\% = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$.

Où :

A₁: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A₂: absorbance en présence d'extrait.

L'effet des extraits sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Braca. Un volume de différentes concentrations de chaque échantillon est ajouté à 3 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,004%) fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (méthanol). [39]

❖ **Calcul des concentrations inhibitrice à 50 % « IC₅₀ »**

L'IC₅₀ permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait et le standard (Vitamine C).

II.7. Conclusion

Après avoir appliqué des méthodes et du matériel chimiques et biologiques, nous sommes arrivés à un ensemble de résultats que nous présenterons et discuterons dans le dernier chapitre.

Chapitre

III

III .1. Introduction

Dans ce chapitre relatif aux résultats et discussion, nous découvrirons les différents composants chimiques présents dans l'espèce *A.millefolium*, ainsi que l'effet biologique (l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante) des extraits CHCl_3 , AcOEt et MeOH obtenu des paries aériennes de cette plante.

III .2. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique (Tableau III. 1) de plante d'*A. millefolium*. On permet de donner des informations préliminaires sur la composition chimique du matériel végétal, en utilisant principalement des réactions de coloration et/ou de précipitation.

Les résultats obtenus sont évalués comme suit :


+++ : Fortement positif.



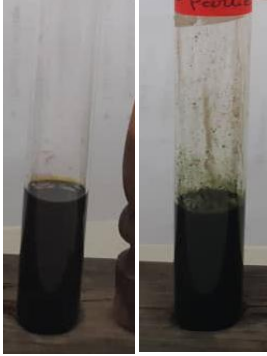


++ : Moyennement positif.




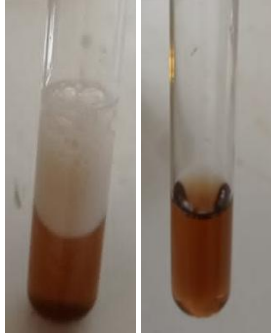
+ : Faiblement positif.



- : Négatif.

Tableau III.1. Résultats du screening phytochimiques d'extraits d'*A. millefolium*

Test	Présence /Absence	Indicateur de présence/Absence	Image
Alcaloïdes	++	Rouge	

<p>Coumarines</p>	<p>+++</p>	<p>Fluorescence intense</p>	
<p>Triterpènes</p>	<p>+++</p>	<p>Anneau marron</p>	
<p>Terpènes</p>	<p>+++</p>	<p>Vert foncé</p>	
<p>Stérols</p>	<p>–</p>	<p>Absence d'une couleur rouge</p>	
<p>Tanins catéchiques</p>	<p>+++</p>	<p>Coloration</p>	

<p>Tanins galliques</p>	<p>+++</p>	<p>Précipitation</p>	
<p>Flavonoïdes</p>	<p>+</p>	<p>Jaune</p>	
<p>Leuco anthocyanes</p>	<p>-</p>	<p>Absence d'une couleur rouge</p>	
<p>Saponines</p>	<p>+++</p>	<p>Apparition d'une mousse</p>	

Anthocyanes	–	Absence d'une couleur bleu-violacée	
Quinones	–	Absence d'une couleur Rouge-violette	

Suite Tableau III.1. Résultats du screening phytochimiques d'extraits d'*A. millefolium*

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus :

Le screening phytochimique de la plante révèle la présence des alcaloïdes, coumarines, triterpènes, et terpènes, tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, saponines. Une absence totale des leuco anthocyanes, anthocyanes et quinones.

Ces résultats montrent que la plante possède une variété de groupes chimiques. Or, il est connu que la majorité de ces groupes possèdent des activités biologiques diverses. Il s'agit notamment du groupe de composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes qui sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires, antioxydants et antiallergiques. Les tanins qui sont utilisés pour leurs effets antidiarrhéiques, antiseptiques et antioxydants. [5]

Ces résultats montrent que cette plante est une source riche en substances naturelles, cette richesse peut être dû à plusieurs paramètres qu'ils soient géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : le site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sols, la période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisée et la partie de la plante étudiée.

La richesse de cette espèce en substances naturelles nous a encouragés à poursuivre les recherches et étudier les activités biologiques de cette plante.

III.3. Rendements des extraits

Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à trois masses de la poudre végétale. Des différents rendements obtenus, sont présentés dans le tableau III.2 :

Tableau III.2 : Rendements des extraits obtenus par l'extraction par ultrasons

Extraits	MeOH	AcOEt	CHCl ₃
Poids de la MV (g)	80	80	80
Poids de l'extrait sec(g)	5,62	3	5,12
Rendement d'extraction (%)	7 %	3 ,75%	6,4%

La détermination du rendement d'extractions de la partie aérienne de plante *A. millefolium* a montré que les bons résultats sont enregistrés chez les extraits méthanolique et chloroformique avec un pourcentage de 7% et 6,4% %, respectivement. Et le rendement le plus faible est celui de l'acétate d'éthyle, avec le pourcentage 3 ,75%.

❖ Discussion

Lorsqu'un composé bioactif spécifique ou une fraction bioactive d'une plante est extrait, divers facteurs influencent le processus d'extraction. Outre la technologie d'extraction. (Par exemple, l'extraction par ultrasons), la polarité du solvant, la matière première et son prétraitement, le rapport solide/liquide (c'est-à-dire le rapport matière végétale/solvant), le temps d'extraction et la température sont des facteurs importants du processus qui doivent être soigneusement pris en compte. Où il a été observé que le meilleur rendement a été obtenu utilisant le méthanol, qui a la polarité plus élevée par rapport au chloroforme et l'acétate d'éthyle.

L'extraction assistée par ultrasons (UAE) permet d'obtenir des conditions de traitement idéales, qui se caractérisent par leur douceur et leur grande efficacité simultanées. Le libre choix de solvants doux ou d'une extraction à l'eau froide, les basses températures et les temps de traitement courts font de l'extraction par ultrasons une technique d'extraction

supérieure, qui empêche la dégradation thermique ou chimique des molécules bioactives. [40]

III.4. Évaluation des activités biologiques

III.4.1. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de l'espèce *A. millefolium* a été évaluée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosés solide MH. La lecture des résultats sur boîte se fait grâce à l'observation des halos d'inhibition autour des disques. L'estimation de la zone d'inhibition (ZI) permet la caractérisation de la sensibilité ou de la résistance des souches aux extraits.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

Pour mieux élucider le pouvoir antibactérien des extraits, les diamètres de la zone d'inhibition sont représentés graphiquement sur des histogrammes (Figures 1 et 3, 5, 7,9)

Avec le DMSO

Tableau III .3 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait MeOH.

SB	ZI (mm) Extrait MeOH				ZI (mm) Test négatif
	SM	(C1) 1/2	(C2) 1/4	(C3) 1/8	DMSO
<i>E. coli</i>	8	11	10	7	–
<i>S. aureus</i>	10	–	8	11	–
<i>Streptococcus</i>	7	10	–	–	–
<i>K. pneumoniae</i>	9	10	–	8	–

SB : Souche bactérienne

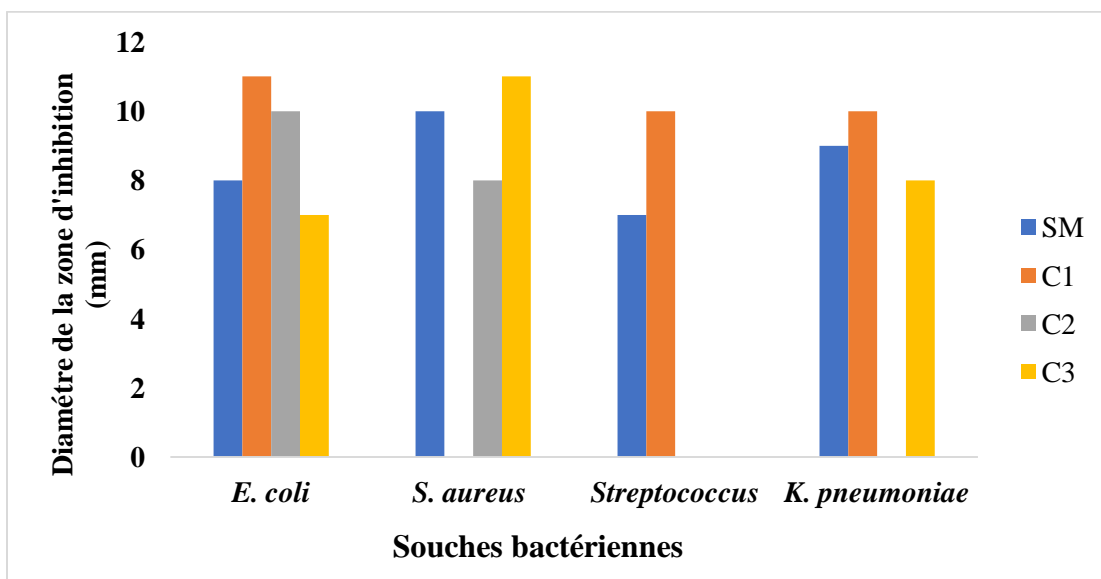


Figure III.1 : Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait MeOH contre les bactéries testées.

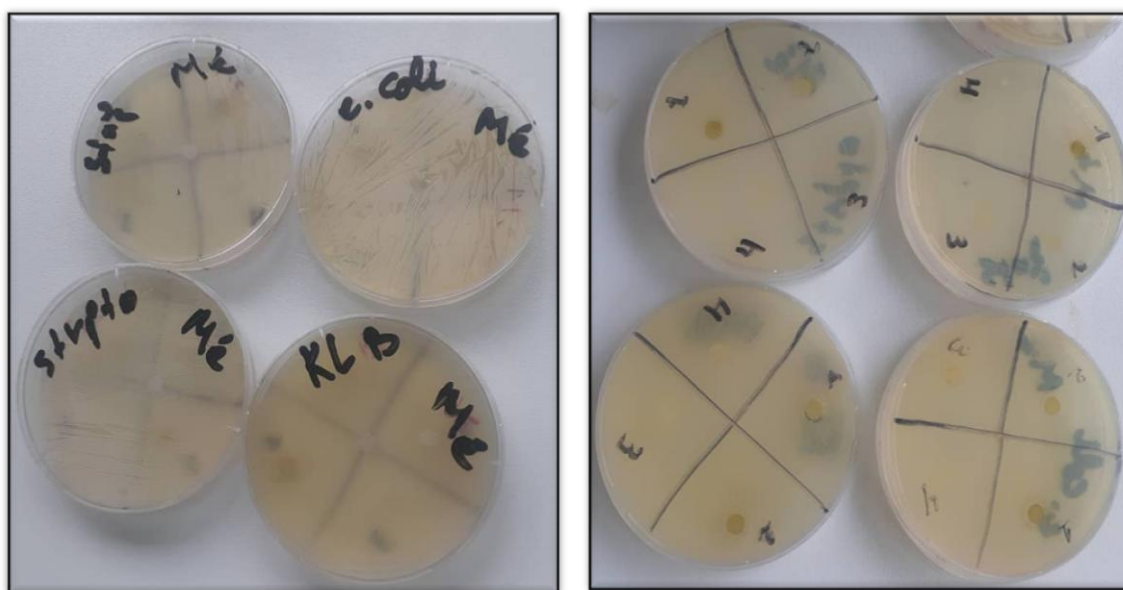


Figure III.2: Zone d'inhibition de l'extrait MeOH

Tableau III.4 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait AcOEt

SB	ZI (mm) ExtraitAcOEt				ZI (mm) Test négatif
	SM	(C1) 1/2	(C2) 1/4	(C3) 1/8	DMSO
<i>E. coli</i>	8	7	7	11	–
<i>S. aureus</i>	–	8	10	–	–
<i>Streptococcus</i>	8	–	7	7	–
<i>K. pneumoniae</i>	–	10	12	–	–

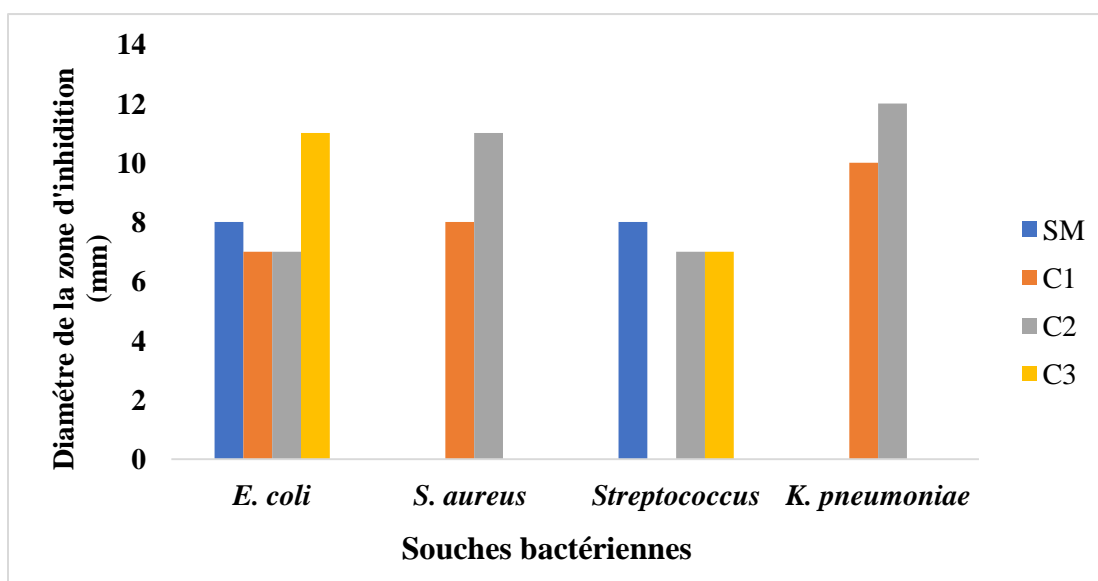


Figure. III.3 : Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait AcOEt contre les bactéries testées.

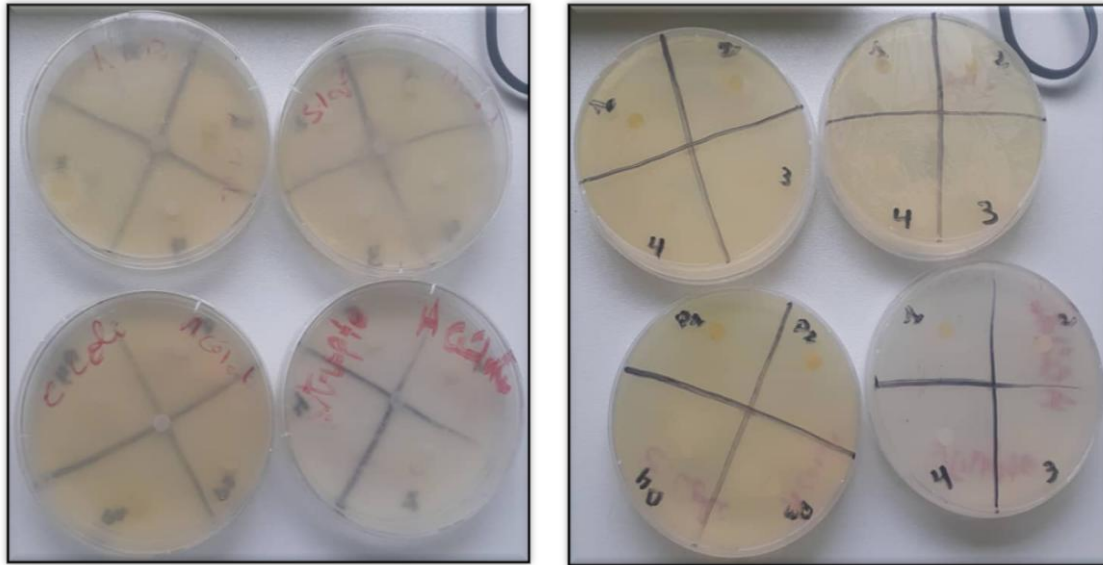


Figure III.4 : Zone d'inhibition de l'extrait acétate d'éthyle

Tableau III.5: Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait CHCl_3 .

SB	ZI (mm) Extrait CHCl_3				ZI (mm) Test négatif
	SM	(C1) 1/2	(C2) 1/4	(C3) 1/8	DMSO
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–
<i>S. aureus</i>	–	9	9	–	–
<i>Streptococcus</i>	11	10	9	8	–
<i>K. pneumoniae</i>	7	10	7	8	–

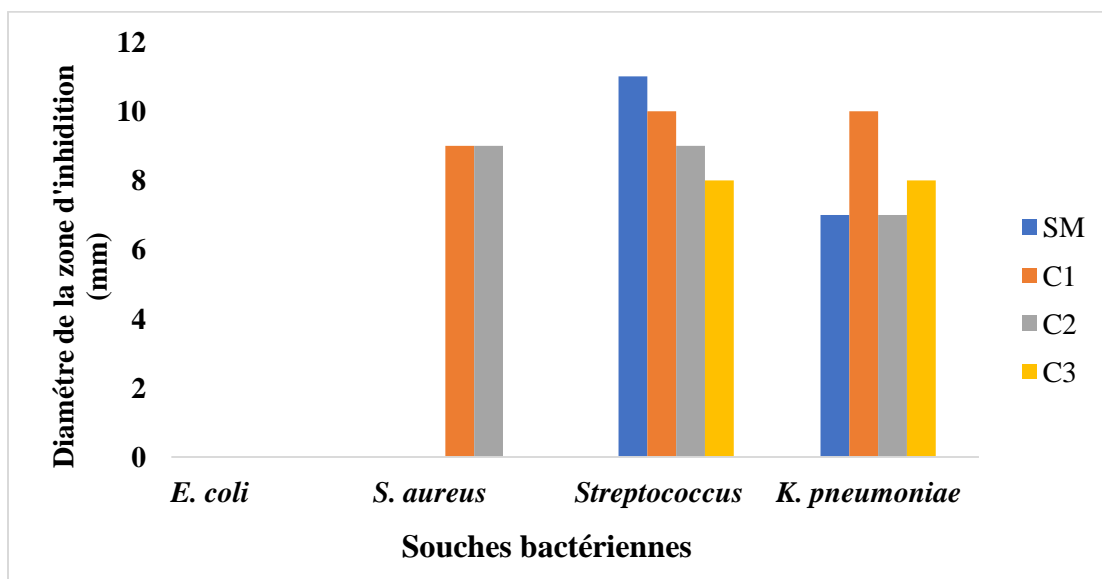


Figure. III.5 : Diamètre des zones d’inhibition de l’extrait CHCl_3 contre les bactéries testées.

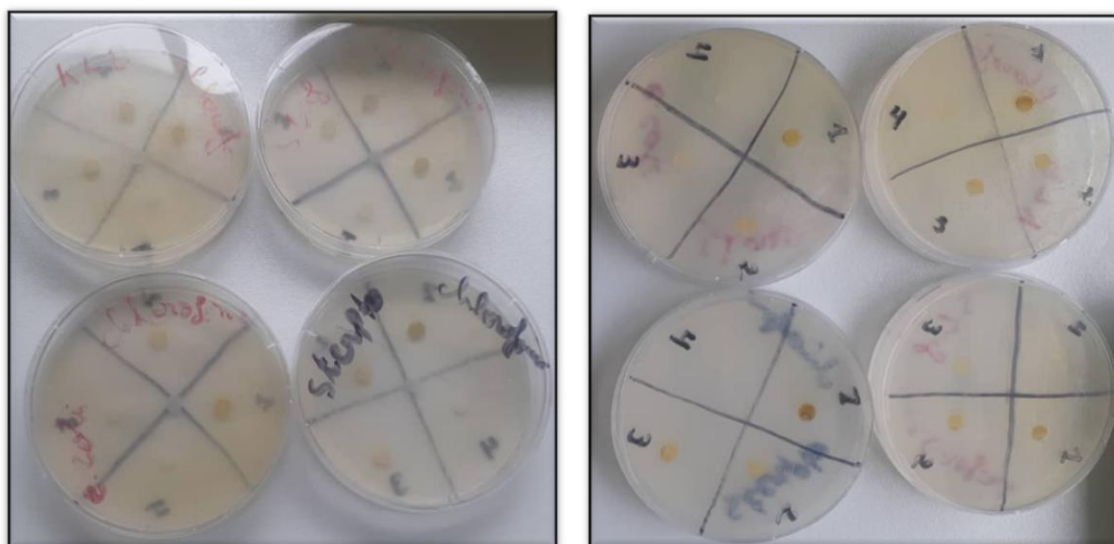


Figure III.6 : Zone d’inhibition de l’extrait CHCl_3 .

Tous les résultats sont négatifs vis-à-vis DMSO.

Résultats de Zone d’inhibition testée avec les solvants :

Tableau III.6 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait MeOH

SB	ZI (mm)				Test positif
	Extrait MeOH				Solvent
	SM	(C1) 1/2	(C2) 1/4	(C3) 1/8	
<i>E. coli</i>	–	8	–	11	+
<i>S. aureus</i>	13	8	10	13	+
<i>Streptococcus</i>	11	12	10	10	+
<i>K. pneumoniae</i>	–	–	10	10	+

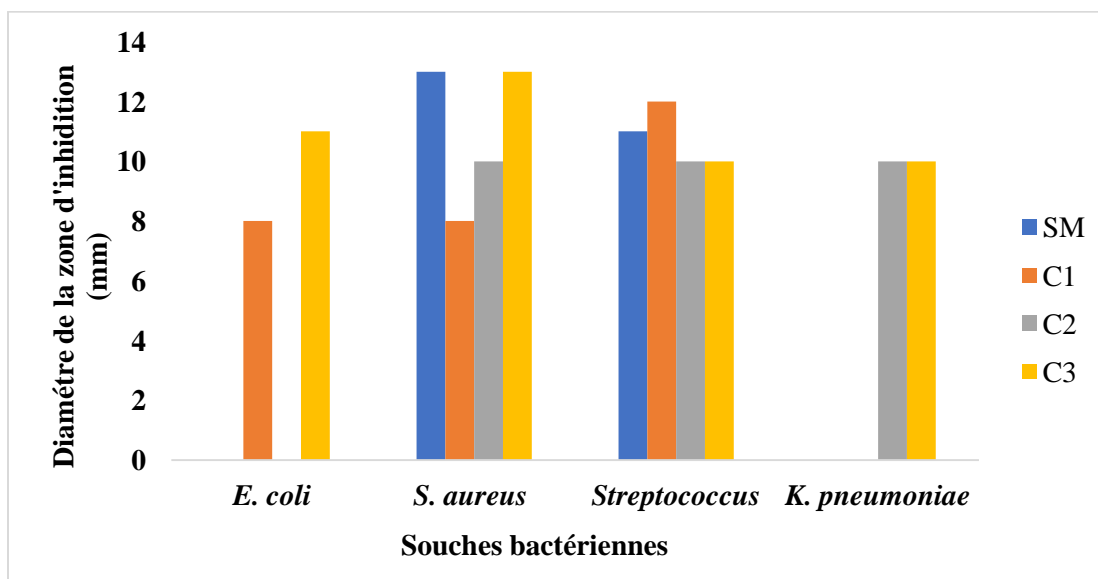


Figure III.7 : Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait MeOH contre les bactéries testées.

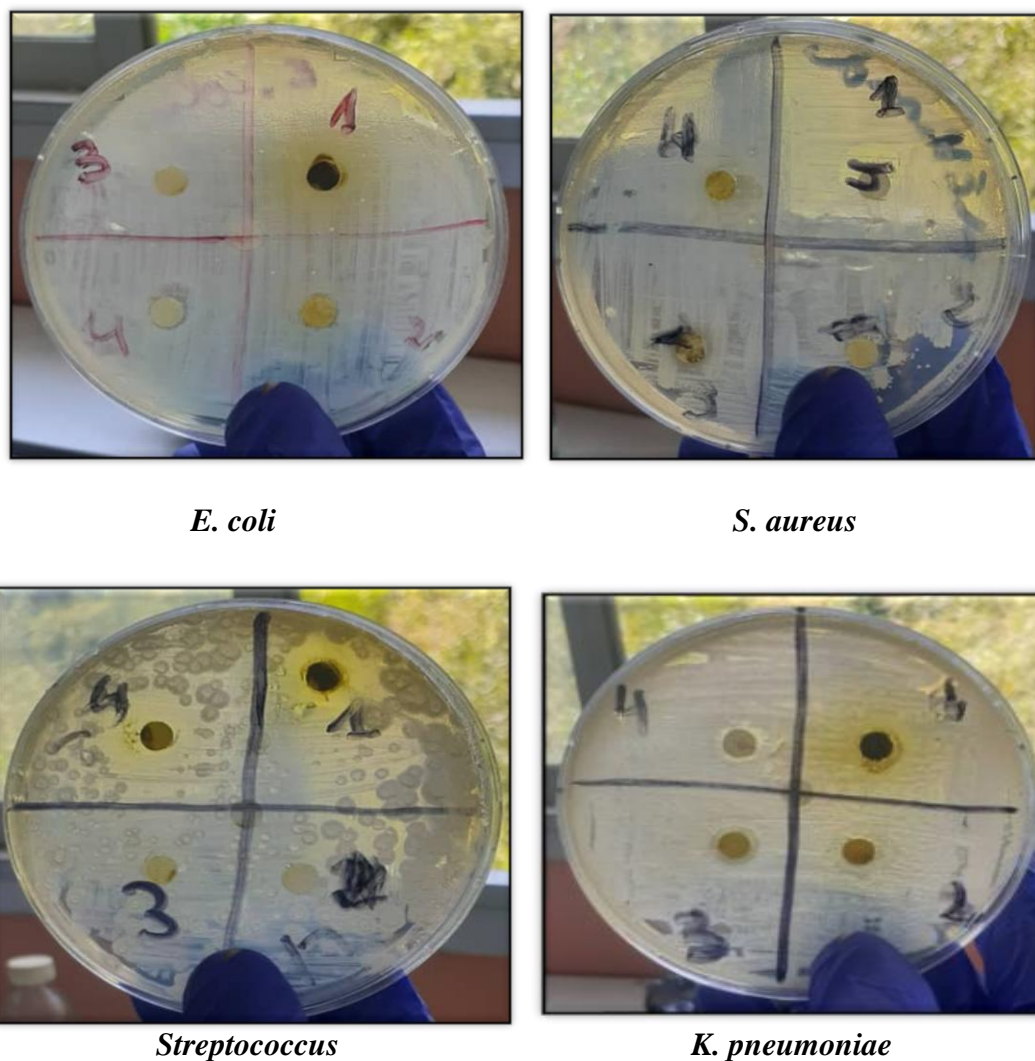


Figure III.8: Zone d'inhibition de l'extrait MeOH

Tableau III. 7 : Zone d'inhibition (mm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec l'extrait CHCl₃

SB	Extrait CHCl ₃				Test positif
	SM	(C1) 1/2	(C2) 1/4	(C3) 1/8	Solvant
<i>E. coli</i>	–	8	9	10	+
<i>S. aureus</i>	15	13	–	8	+
<i>Streptococcus</i>	12	12	13	20	+
<i>K. pneumoniae</i>	–	9	7	13	+

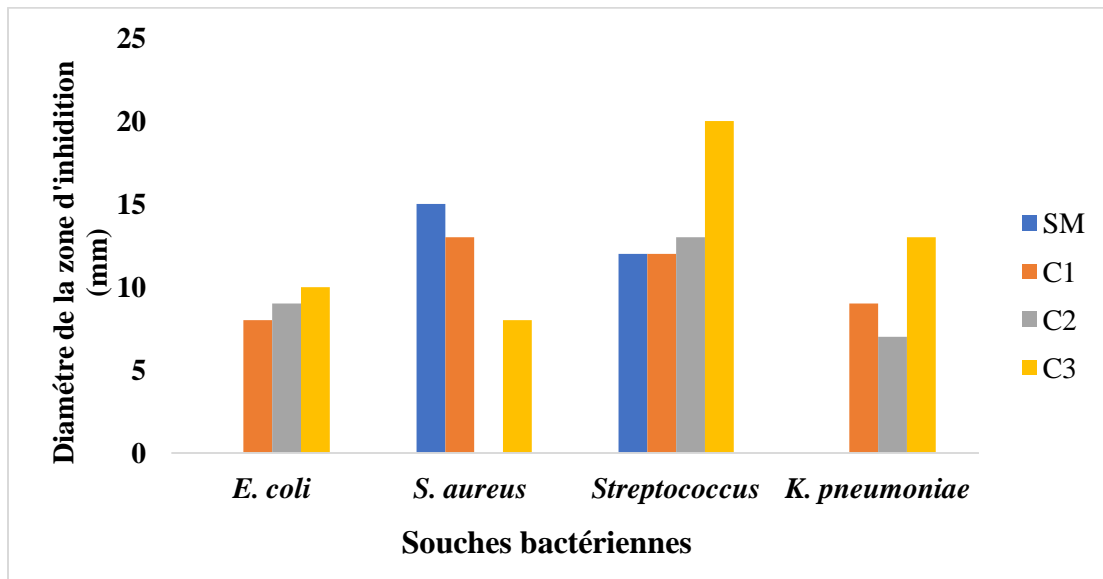
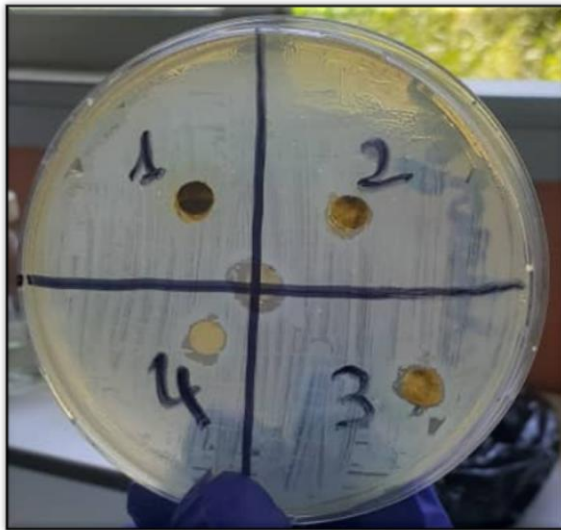
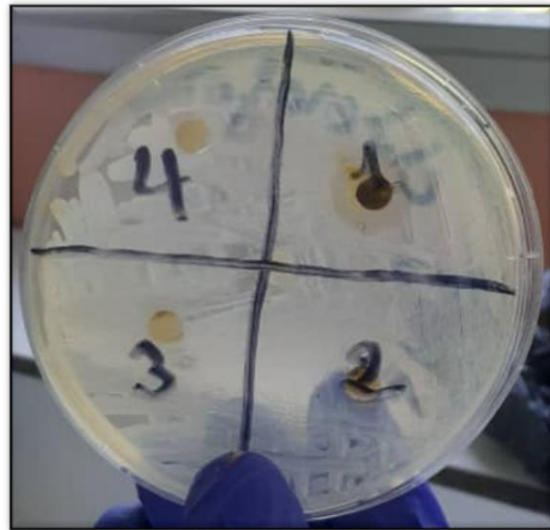


Figure III.9 : Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait CHCl_3 contre les bactéries testées



E. coli



S. aureus

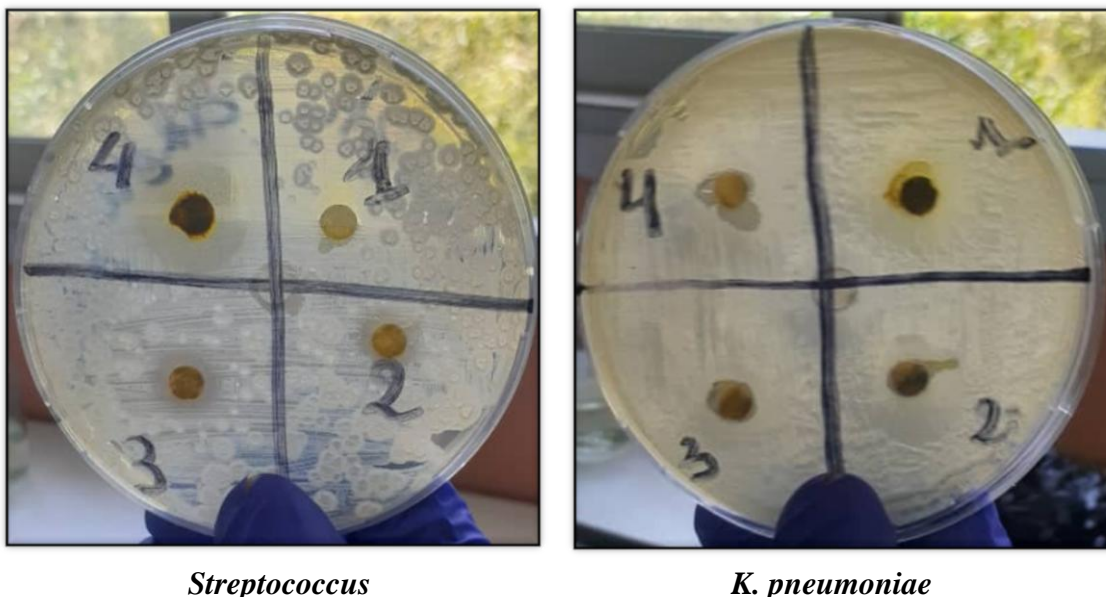


Figure III.10: Zone d'inhibition de l'extrait CHCl_3

Tous les résultats sont positifs vis-à-vis les solvants.

On note également que de meilleurs résultats ont été obtenus en diluant les extraits bruts dans des solvants que dans du DMSO.

❖ Discussion

Les résultats obtenus à partir de notre étude confirment l'existence du pouvoir antibactérien de partie aérienne (feuilles, tiges et fleurs) d'*A. millefolium*. Où la méthode de diffusion des disques des extraits nous a permis de déterminer l'action de ces extraits sur les différentes souches bactériennes testées.

Les diamètres des zones d'inhibition se diffèrent d'une bactérie à une autre et d'une concentration d'un extrait à autre.

La résistance des souches aux extraits peut être due à la différence de structure de paroi cellulaire entre les bactéries Gram (+) et Gram (-). En effet, les bactéries Gram (-). Sont résistantes, dont elles possèdent une membrane externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, en la rendant imperméable aux substances de nos extraits. Par contre les bactéries Gram (+) sont les plus sensible. [41]

En comparant les résultats de notre investigation avec les résultats d'autre études précédentes sur la même espèce, on trouve de nombreux travaux soulignent cet effet antibactérien des principes actifs naturels. En effet, l'étude d'Alice G et al. (2020) a révélé

que l'extrait des fleurs de l'espèce *A. millefolium* exercé une forte activité inhibitrice sur les souches *S. aureus* (ZI = 21 mm) et activité de degré moindre sur *Streptococcus* (ZI moyenne de 10 à 11 mm). Des résultats similaires ont été trouvés sur l'extrait éthanolique de parties aériennes d'*A. millefolium* qui a été testé contre la souche bactérienne *E. coli*. [42]

L'étude de Negar F et al. (2020), aussi a montrée des résultats similaires à notre résultats, elle a montré que les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs de cette plante ont eu des effets significatifs contre les bactéries à Gram positif telles que *S. aureus* et *B. cereus*, et un effet plus faible sur les bactéries à Gram négatif. Les polysaccharides de la paroi cellulaire étaient susceptibles d'empêcher les ingrédients actifs des huiles essentielles et des extraits d'atteindre la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram négatif. En général, les produits végétaux entraînent la rupture de la membrane cellulaire, l'inactivation ou l'inhibition de l'activité de l'enzyme intracellulaire et extracellulaire et l'élimination de la membrane cellulaire que ces résultats ont montrés à plusieurs reprises dans différents domaines. [43] Ainsi, l'étude obtenue par Aleksandra R. N et al. (2018) a révélé l'activité antibactérienne des extraits de l'espèce *A. millefolium* contre les bactéries Gram (-) *E. coli* et Gram (+) *S. aureus*, tel que, ses résultats étaient aussi en accord avec notre investigation [44].

En revanche, l'étude de Lakshmi T et al. 2011 [20] menée sur les extraits éther de pétrole, hexane et méthanol ainsi que l'extrait aqueux de fleurs de l'*A. millefolium* a trouvé une différence des résultats à ceux présentés ici.

Cette différence de résultats pourrait être due à plusieurs facteurs, dont les différentes méthodes d'extraction utilisées, les facteurs environnementaux et écologiques, tels que la zone de récolte, le type de sol, le climat.... Qui peuvent affecter la composition chimique de la plante en termes de qualité et de quantité. Il est bien connu que *A. millefolium* représente un complexe polyploïde diversifié qui est probablement composé de dizaines d'espèces aux compositions biochimiques variables. La diversité biochimique de ce complexe a été assez bien décrite, et on a émis l'hypothèse que des composés phénoliques tels que les flavonoïdes et l'acide phénol carbonique pourraient sous-tendre l'activité antimicrobienne observée. [20]

III.4.2. Activité antifongique

Les extraits MeOH, AcOEt et CHCl₃ ont été évalués pour leur activité antifongique vis-à-vis de champignons alimentaire (Moisissure du beurre animal). Les solvants ont servi de témoin positif et le champignon sans aucun ajout a servi de témoin négatif, les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique des extraits testés vis-à-vis de champignon.

Les résultats obtenus du pouvoir antifongique des différents extraits étudiés après 48 h d'incubation à 30°C sont présentées sur la Figure III.11.

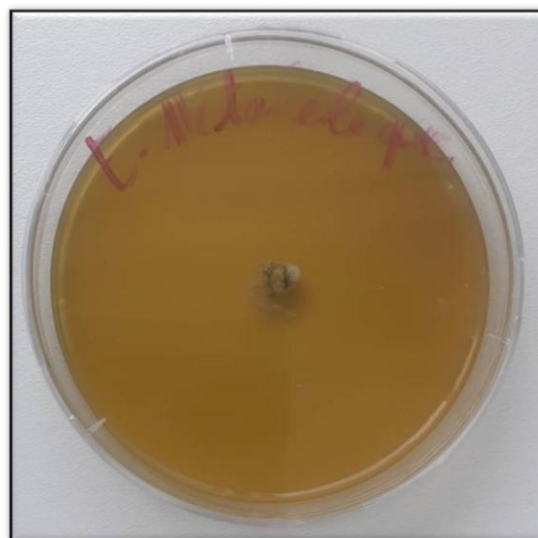
Le tableau ci-dessous rapporte les résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis de champignon alimentaire par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Tableau III.8. Résultats d'activité antifongique

Extrait	MeOH	AcOEt	CHCl ₃
(I%) Moisissure du beurre animal	100 % Inhibition totale		



-A-



-B-

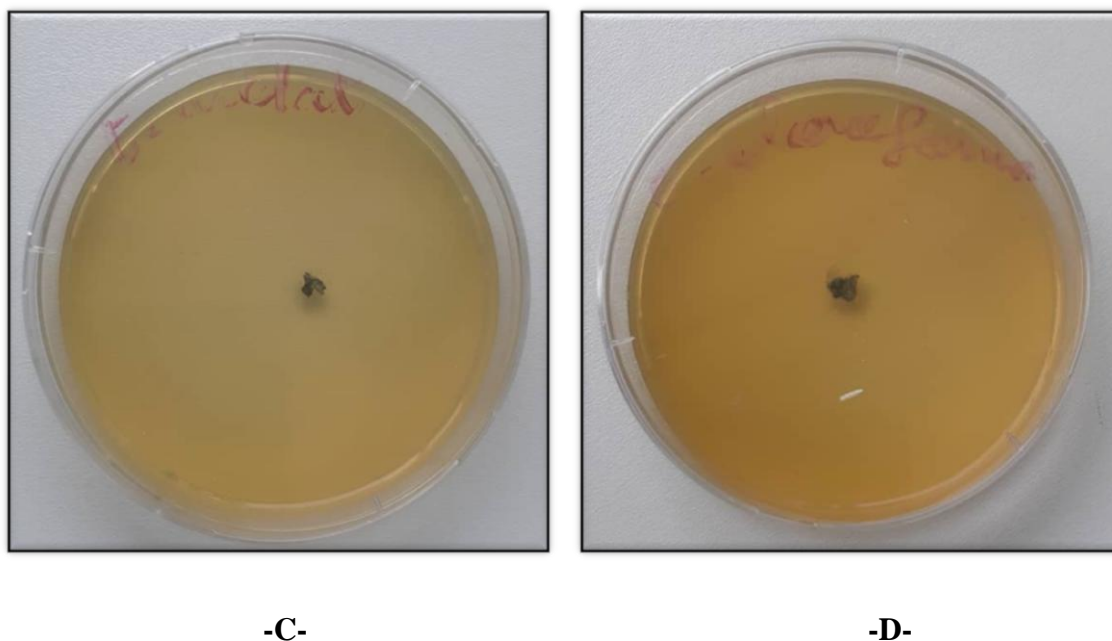


Figure III.11 : Activité antifongique des extraits de l'espèce *A. millefolium*

A : Témoin

B : Extrait méthanolique

C : Extrait d'acétate d'éthyle

D : Extrait chloroformique

Le Taux d'inhibition (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I = (C - T / C) \times 100$$

D'après les résultats présentés dans le tableau III.8, le champignon est très sensible à tous les extraits de 100% pendant 48 heures d'incubation, le résultat s'est avéré être un inhibiteur très efficace sur la croissance de la moisissure du beurre animal.

L'étude d'Alice G. et al. 2020a a montré des résultats similaires, ils ont constaté que l'extrait éthanolique d'*A. millefolium* affectait fortement la croissance de certains champignons. [42]

Ainsi, on peut conclure que les extraits de cette espèce ont un bon effet antifongique.

III.4.2. Activité antioxydante

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. À partir des valeurs obtenues, les pourcentages d'inhibition ont été calculés en utilisant la formule citée plus haut. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentées sur la Figure

III.12 qui montrent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de nos extraits. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC_{50}).

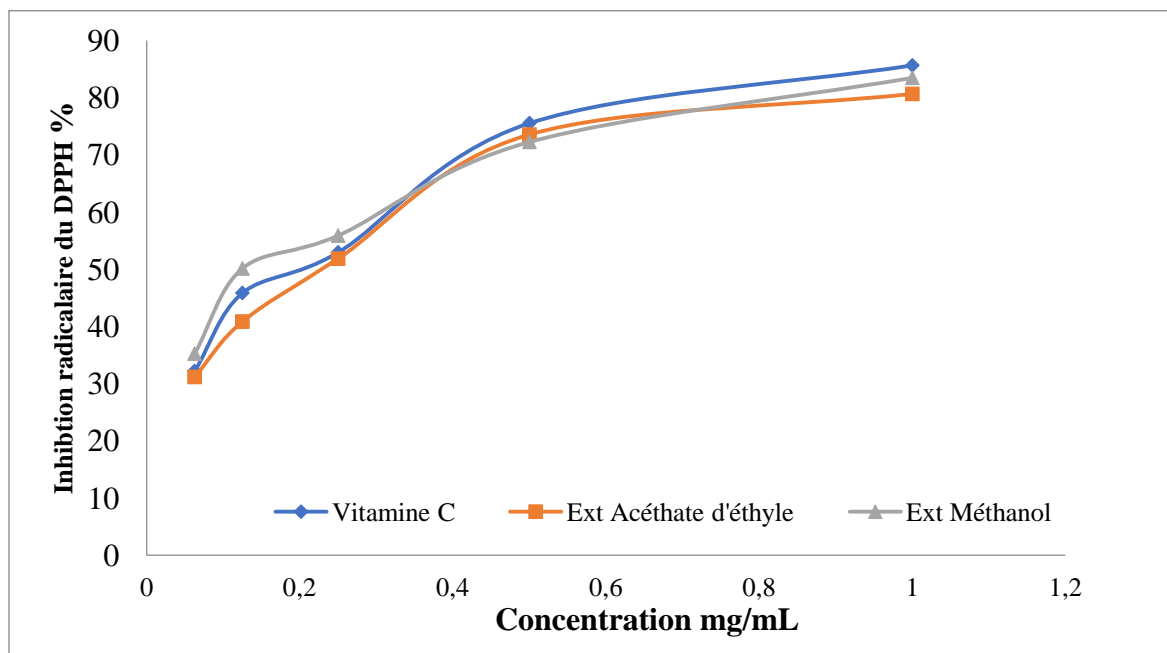


Figure III.12. Pourcentage de l'activité antiradicalaire des extraits AcOEt et MeOH vis-à-vis du radical libre DPPH

En comparant les IC_{50} des extraits testé (Tableau III.9) par rapport à celle de la vitamine C, nous remarquons que l'activité antiradicalaire des extraits est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH[•] de la substance de référence ($5 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$).

Tableau III.9. IC_{50} des extraits AcOEt et MeOH d'*A. millefolium*

Matériel végétal	Extrait	DPPH (IC_{50}) $\mu\text{g/mL}$
Parties aériennes	AcOEt	$7,27 \pm 0,24$
	MeOH	$6,57 \pm 0,17$
	Vitamine C	$5 \pm 0,10$

❖ Discussion

L'activité anti-oxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. De nombreuses méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer cette activité. Le radical DPPH a été largement utilisé pour l'étude de l'activité antiradicalaire de différents extraits végétaux. Le DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques [45, 46].

Dans cette étude nous avons remarqué que l'activité antiradicalaire des extraits est inférieure celle de la substance de référence. Il est évident que l'activité de l'extrait MeOH et AcOEt est attribuable à sa richesse aux composés phénoliques.

Ces résultats expliquent les propriétés anti-oxydantes des composés phénoliques reportées dans plusieurs travaux [47].

D'après les résultats obtenus, on remarque que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (Vitamine C), ou pour les différents extraits testés. Nos résultats ont révélé que la vitamine C montre un effet antioxydant très important et atteint un effet maximal de 85 % à 1 mg/ml, ce qui représente le pourcentage le plus élevé par rapport aux extraits étudiés. A la même concentration, le pourcentage d'inhibition de la réduction de DPPH des deux extraits MeOH et AcOEt sont atteints : 80% ; 78% respectivement.

La valeur d'IC₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition) d'un composé, en effet, Plus elle est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable. La (VC), pris comme antioxydant de référence a manifesté *in vitro* une capacité très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par la valeur IC₅₀ la plus basse obtenue expérimentalement ($5 \pm 0,10$ µg/ml) par rapport à celle des deux extraits MeOH et AcOEt qui est de $6,57 \pm 0,17$ µg/ml et $7,27 \pm 0,17$ µg/ml respectivement. Ce standard demeure le piègeur le plus efficace, dirigé contre les radicaux libres.

Dans une étude précédente, Mohd Y. et al. (2017) [48] ont trouvé que l'extrait méthanolique d'*A. millefolium* a permis de donner des bonnes activités antiradicalaires avec un IC₅₀ = 14,80 µg/mL. D'autre part, les résultats obtenus par Lysanne S. et al. (2021) [49] ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*A. millefolium* a un effet antioxydant modéré avec une (IC₅₀ = 17,0 µg/mL). Contrairement à notre résultat qui a donné une

capacité antioxydante plus importante avec les deux extraits MeOH et AcOEt ($IC_{50} = 6,57$ ug/mL et $IC_{50} = 7,27$ ug/mL) respectivement.

Cette bonne activité antioxydante de l'extrait de méthanol et d'acétate d'éthyle de cette espèce s'explique par la richesse, la nature et la variation des composés bioactifs, qui sont des acides phénoliques, des flavonoïdes, ... Et d'autre part, par l'aspect environnemental, tel que le climat et la culture végétale.

Enfin, cette différence de résultats est peut-être due à plusieurs facteurs ou raisons, notamment le lieu et le moment de récolte, la méthode d'extraction, les conditions environnementales, comme le type de sol, le climat... [50]

III.5. Conclusion

Ce chapitre reporte les résultats de nos travaux de recherche de criblage phytochimique, les activités antibactérienne, antifongique et anti-oxydante, des extraits de l'espèce *A. millefolium*.

A la lumière des résultats de ces expériences, nous concluons que l'espèce *A. millefolium* est riche en composés bioactifs et possède des effets biologiques efficaces comprennent un large éventail de différentes propriétés thérapeutiques.

La discussion des activités biologiques fournit une perspective importante sur l'utilisation potentielle de l'espèce *A. millefolium* dans le domaine de la médecine, de la pharmacie, ou dans le domaine industriel. Cependant, il est important de poursuivre les recherches pour comprendre les mécanismes d'action des extraits végétaux de l'espèce *A. millefolium*.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours une source inépuisable des molécules bioactives ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses maladies et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale.

De nombreuses plantes aromatiques et médicinales sont devenues attrayantes pour les scientifiques sources naturelles d'agents naturels qui pourraient être plus sûres que les sources synthétiques.

Au cours de ce travail, nous avons étudié la composition chimique de l'espèce *A. millefolium* récoltée dans la région de Tamalous (Skikda), en menant quelques tests préliminaires du screening phytochimique, ainsi que l'activité antimicrobienne, antifongique et anti-oxydante des extraits bruts (CHCl₃, AcOEt et MeOH) d'*A. millefolium*

En outre, afin d'obtenir un extrait enrichi en métabolites d'intérêt, nous avons opté pour une méthode d'extraction, une extraction solide liquide par une activation ultrasonore, en utilisant différents solvants de polarité croissantes (CHCl₃, AcOEt et MeOH).

Dans cette étude nous sommes arrivés à plusieurs résultats dont les plus importants sont :

L'extraction de la partie aérienne de notre plante a permis d'obtenir les rendements suivants : 6,4 % ; 3,75 % et 7 % pour les extraits bruts : CHCl₃, AcOEt et MeOH respectivement.

La détermination de l'activité antibactérienne des extraits a mis en évidence des niveaux d'action variable. L'extrait de chloroforme a montré une activité antibactérienne considérable vis-à-vis de souches testées, en particulier la souche à gram (+) *Streptococcus* (ZI =20 mm).

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant des extraits AcOEt et MeOH vis à vis du DPPH, le plus élevé (78%), 80% respectivement) est observé avec une dose de 1 mg/ml; pouvoir équivalent à celui qu'exerce la vitamine C (85%) à la même concentration.

Les extraits bruts (AcOEt et MeOH) sont présentés une bonne activité anti-oxydante par DPPH avec une IC₅₀ de 7,27 ± 0,24 µg/mL et 6,57 ± 0,17 µg/mL respectivement par rapport à celle du standard (vitamine C ; IC₅₀ = 5 ± 0,10 µg/ml). Ce qui explique la richesse de ces extraits en composés bioactifs.

Les extraits étudiés ont un bon effet inhibiteur sur la moisissure du beurre animal.

Conclusion générale

Afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, un certain nombre de perspectives peuvent être envisagées :

- ❖ Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante *in vivo* sur un modèle biologique.
- ❖ Elargir la palette des micro-organismes en testant la sensibilité des autres espèces bactériennes, des champignons et virus.
- ❖ Étude de ses utilisations traditionnelles pour les troubles gastro-intestinaux, les anomalies menstruelles et gynécologiques, et en particulier les études *in vitro*, *in vivo*.
- ❖ Des études cliniques devraient être menées pour vérifier les utilisations traditionnelles des espèces les plus connues, *A. millefolium*, ainsi que de plantes médicinales moins étudiées ou autres qui n'ont pas été étudiées.

Notons enfin que ce travail permettra d'envisager des horizons de recherche ciblés dans l'axe que nous avons initié sur les espèces *A. millefolium* dans notre territoire algérien

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] Christine B., Maria E., Grafakou E., Tomou M., Hélène S., 2021. Phytochimie et utilisations traditionnelles fondées sur des données probantes du genre *Achillea* L. Vol .89, N°4, p : 2-7.
- [2] Pascal L., 2018. Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques.Université de Limoges. p: 18.
- [3] Laib N., et Megag B., 2020. Etude des propriétés biologiques des métabolites secondaires de quelques espèces végétales de la famille Astéracées (Doctoral dissertation. University of Jijel).
- [4] Maryam J., Amirhosein J., Fatemehzahra T., 2023.The role of *Achillea millefolium* in traditional medicine: A review of its use in different cultures. Vol. 12, N° 3. p: 152-156.
- [5] Belouahad S., Bensammar C., 2022.Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne : *Asteriscus graveolens* (Asteraceae). Université Les Frères Mentouri Constantine1, p : 4,41.
- [6] Matsuda H., Morikawa T., Toguchida I., Harima S., Yoshikawa M., 2002. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 50, p : 972.
- [7] Baba A., Zaibet I., 2019. Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire et le test de formal in de l'espèce *santolina rosmarinifolia* L. Université Les Frères Mentouri Constantine1, p : 8.
- [8] Giradi C., 2015. Recherche d'accepteur de Michael a visées antiparasitaires à partir d'une Asteraceae : *Pseudelephantopusspiralis* (Less.) Cronquist. Université de Toulouse 3 Paul Sabatier, p : 51.
- [9] Fertout M N., 2018. Etude phytoécologique de la flore adventice des agro systèmes céréalières de la région de Tassala (Algérie nord-occidentale). 2018, p : 87.
- [10] Harkati N., Elmachta I., 2019. Etude phytochimique et évaluation des activités antiinflammatoire et antidiabétique de l'espèce *Achillea millefolium* L. Université Les Frères Mentouri Constantine 1, p : 5,9.

- [11] Larouse A., 2001. Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Paris, p : 56 – 131.
- [12] Chaker E. K., 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Université de Toulouse, p : 23.
- [13] Gilbert F. ,1999. Les plantes au jardin de santé. Equin.xe., p : 22 - 23 et p : 122-123.
- [14] Jacques F., 2018. Des plantes qui soignent. Ouest-France, p : 296 – 352.
- [15] Floriane C.V., 2022. *Passiflore, Aamamélis, Achillea millefolium, Aubépine & Alchémille* : cinq plantes sans phyto-oestrogènes pour lutter contre les troubles liés à la ménopause, étude pratique en officine chez 39 patientes souffrant de bouffées de chaleur. Université de lorraine, p : 51-61.
- [16] Benguelil I., Aouifour M.R. 2017. Etude phytochimique et évaluations des activités anti-bactérienne et antifongique des deux espèces : *Achillea millefolium* L et *Sambucus nigra* L. Université Les Frères Mentouri Constantine 1, p : 8-50.
- [17] Monographie *Achillea millefolium* - version 200515, MYRTEA FORMATIONS, formation@myrtea.com-www.myrtea-formations.com, p : 1.
- [18] Boulfous M., Heloulou A., Naamene I., 2011. Utilisation des plantes médicinales a activite anti-inflammatoire. Université de Jijel, p : 23.
- [19] https://phytolog.legtux.org/index.php?title=Achillea_millefolium (10 \5\2024).
- [20] Lakshmi T., Geetha R.V., Anitha R., Aravind k.S.2011. Yarrow (*Achillea millefolium* linn.) a herbal medicinal plant with broad therapeutic use – a review. Vol.9, N°.2, p: 138-139.
- [21] Khan A., Gilani A. H., 2011. « Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of *Achillea millefolium* », *Phytother. Res. PTR.* vol. 25, N° 4, p: 577-583.
- [22] Shimada H., Uchida M., Okawara T., Abe S., Imamura Y., 2005. « Inhibitory effects of flavonoids on the reduction of progesterone to 20 α -hydroxyprogesterone in rat liver », *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 93, N° 1, p: 73-79.

- [23] Taulelle A., 2023. Pérénisation d'un herbier réalisé entre 1891 et 1903 et mise en exergue de l'intérêt thérapeutique de l'Achillée millefeuille (*Achillea millefolium* L.). Université de Montpellier, p: 322.
- [24] Boswell-Ruys C. L., Ritchie H. E., Brown-Woodman P. D., 2003. « Preliminary screening study of reproductive outcomes after exposure to yarrow in the pregnant rat », *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* Vol. 68, N° 5, p: 416-420.
- [25] Dalsenter P. R., Cavalcanti A. M., Andrade A. J., M Araújo S. L., Marques M. C. A., 2004. « Reproductive evaluation of aqueous crude extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in Wistar rats », *Reprod Toxicol.* Vol. 18, N° 6, p: 819-823.
- [26] Cavalcanti A. M. et al., 2006. « Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats », *J Ethnopharmacol.* Vol. 107, N° 2, p: 277-284.
- [27] N'guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D., Aké-Assi L., 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en *pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)*. *Sciences & Nature* Vol. 6, N°1, p : 1 -15
- [28] Koudougou K., 2000. Étude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *Biophytum petersianum* Klotzsch (*Oxalidaceae*). Université d'Ouagadougou – DEA, p : 16.
- [29] Bekro Y. A., Mamyrbekova Bekro J. A., Boua B. B., Trabi F. H., Éhilé E. E., 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). *Sciences & Nature*. Vol. 4, N°2, p : 220.
- [30] Mibindzou M. A., 2004. Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L. (*Papilionaceae*) et *Mitragynaciliata* Aubrev. & Pellegr. (*Rubiaceae*) récoltées au Gabon, p : 62.
- [31] Kongo-N., zuzi. Y., 2009. Evaluation *in vitro* des pouvoirs antifongiques des extraits de feuille de *papayer* sur des souches de *candidas albicans*, *ISTM*

Kinshasa, p : 25.

- [32] Bouquet A., 1972. Plantes médicinales de Congo Brazzaville, Travaux et document O.R.S.T.O.M paris, N°13, p : 9.
- [33] Lokadi L. P., 2008. Etude Chimique de l'espèce *Jacobinia Carnea*. Université de Lubumbashi.
- [34] Dohou N., Yamini K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N., 2003. Screening Phytochimique d'une *endémique ibéro-marocaine, thymelaealythroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, p : 66.
- [35] Najjaa H., Zouari S., Arnault I., Auger J., Ammar E. R, Neffati M., 2011. Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. Acta Bot. Gallica, Vol .158, N°1, p : 111-123.
- [36] Allel F., Bouras Z., Bouteghane I., 2022. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des graines de *pin d'Alep*. Université 8 Mai 1945-Guelma, p : 10.
- [37] Benlahrache R., Boukerzaza S. B., 2022. Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaureadimorpha*, Université Les Frères Mentouri Constantine 1, p : 30.
- [38] Bougiuerra O., Dahmani N., 2022. Etude phytochimique et Activité biologique de plante *Santolina chamaecyparissus*, Université MohamedBoudiaf - Msila, p : 27.
- [39] Braca A., Tommasi D., Di Bari L., Pizza C., Politi M., 2001. Morelli Antioxidant principales from *Bauhiniaterapotensis*. J. Nat. Prodi, Vol. 64, N°3, p : 892-895.
- [40] <https://www.hielscher.com/fr/strategies-for-higher-yields-in-botanical-extraction.htm>, (3/ 6 /2024).
- [41] Cushnie P.T, Lamb A.J., 2011. Recent advances in understanding the antibacterial

properties of flavonoïds. Internat J Antimicrob Agents. Vol.1, N°9, p: 6.

- [42] Alice G., Svetlana C.M., Cristina B., Rasit Y., Carmen I., Uciana G., 2020. Antimicrobial activity of an *Achillea millefolium* L, Proceedings J. Vol. 57, N°1, p: 2.
- [43] Negar F., Sanaz N., Negar B., Samira M., Fereshteh M.P., 2020. In -vitro Antibacterial Effects of Aqueous, Ethanolic, Methanolic, Acetone and Hydro Ethanolic Extracts of *Achillea millefolium* on Standard *Klebsiella*, *S. pyogenes*, and Oral Bacterias Strains. Tabari Bio Stu Res J. Vol. 2, N° 3, p: 25.
- [44] Aleksandra R. N., Tanja I. R., Alena M. T., Predrag M. I., 2018. PLA films loaded with *Achillea millefolium* - *in vitro* antibacterial effects. Food and Feed Research J. Vol.45, N°1, p: 45-52.
- [45] Wang H., Dong Gao X., Zhou G.C., et al., 2008. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food Chem. Vol. 106, p: 888-895.
- [46] Bentabet N., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., 2014. Composition chimique et activité anti-oxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de Béchar en Algérie. Phytothérapie. Vol.12, N°6, p : 364–371.
- [47] Amrani A., Benaïssa O., Boubekri N., Zama D., Benayache F., Benayache S., 2017. In vitro antioxidant activities of *Rhantherium suaveolens* extracts. J. Mater. Environ. Sci. Vol.8, N°11, p: 4002-4006.
- [48] Mohd Y., Mudasar A., Tareq A. W., Manzoor A., Gani B. A., Qureshi R., 2017. Phytochemical screening and antioxidant activity of extracts of the leaf and stem of *Achillea millefolium*, Vol .2, N° 6, p: 55-59.
- [49] Lysanne S., Peter L., Marek B., Otmar S., Florian C. S., Dietmar R. K., 2021. Comparison of the Phenolic Compound Profile and Antioxidant Potential of *Achillea atrata* L. and *Achillea millefolium* L, p: 7.
- [50] Karolina C., Katarzyna G., Agnieszka S., Wirginia K., Thomas J., Günther B., Shah H., Paweł K., Halina E., Kazimierz G., 2023. Phytochemical Profiling,

Antioxidant and Tyrosinase Regulatory Activities of Extracts from Herb, Leaf and *In Vitro* Culture of *Achillea millefolium* (Yarrow). *Molecules*, Vol.28, N°12, p: 4791.

Annexes



Annexe 1 : Etuve



Annexe 2: Bain marie



Annexe 3: Autoclave



Annexe 4 : Rotavapeur



Annexe 5: Balance



Annexe 6: Balance précise

Résumé

Les travaux présentés dans ce manuscrit contribuent à la valorisation chimique et biologique d'une plante médicinale algérienne *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) en les caractérisant par une étude phytochimique (quelques tests préliminaires du screening phytochimique sur l'extrait brut), une évaluation des activités antimicrobienne, antifongique et anti-oxydante.

Ainsi, afin d'obtenir un extrait enrichi en métabolites d'intérêt, nous avons opté pour une méthode d'extraction par ultrasons, en utilisant différents solvants de polarité croissantes (CHCl₃, AcOEt et MeOH), une technique permet d'obtenir une extraction complète et donc des rendements d'extraction supérieurs dans un temps d'extraction très court.

Les différents extraits étudiés ont révélé une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Streptococcus* pour l'extrait CHCl₃ avec un diamètre d'inhibition maximal de 20 mm. L'évaluation de l'activité antifongique de tous les extraits d'*A. millefolium* montre que cette espèce a un effet remarquable contre la moisissure du beurre animal, avec la présence d'une inhibition totale. L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante des deux extraits MeOH et d'AcOEt isolés de d'*A. millefolium*, a été réalisé par la méthode de piégeage du radical (DPPH*), ainsi les extraits ont présenté des activités anti-oxydantes intéressantes, dépendantes peut être du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Ces résultats ont confirmé l'importance de l'utilisation de cette plante dans le traitement de diverses maladies. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les molécules bioactives et fournir des informations précises sur les mécanismes moléculaires responsables de ces effets.

Mots clés :

Asteraceae, *Achillea millefolium*, Extrait, Etude phytochimique, Flavonoïdes, composés phénoliques, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante.

Abstract

The works presented in this thesis contribute to the chemical and biological valorization of an algerian medicinal plant *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) characterizing them by a phytochemical study (a few preliminary tests of the phytochemical screening on the raw extract), an evaluation of the antioxidant activities, antifungal and antimicrobial.

Thus, in order to obtain an extract enriched in metabolites of interest, we opted for an ultrasonic extraction method, using different solvents of increasing polarity (CHCl₃, AcOEt and MeOH), a technique allows obtain a complete extraction and therefore higher extraction yields in a very short extraction time. The different extracts studied revealed strong antibacterial activity against *sterptococcus* for the CHCl₃ extract with a maximum inhibition diameter of 20 mm. The evaluation of the antifungal activity of all *A. millefolium* extracts shows that this species has a remarkable effect against animal butter mold, with the presence of total inhibition. The *in vitro* evaluation of the antioxidant activity of the both extracts MeOH and AcOEt isolated from *A. millefolium*, was carried out by the radical scavenging method (DPPH*), thus the extracts present interesting antioxidant activities, perhaps dependent on the content of total polyphenols and flavonoids.

These results confirmed the importance of the use of this plant in the treatment of various diseases. However, more research is needed to identify bioactive molecules and provide accurate information on the molecular mechanisms responsible for these effects.

Keywords:

Asteraceae, *Achillea millefolium*, Extract, Phytochemical study, Flavonoids, Phenolic compounds, Antibacterial activity, Antifungal activity, Antioxidant activity.

ملخص

تساهم الأعمال المقدمة في هذه الرسالة في التثمين الكيميائي والبيولوجي لنبات طبي جزائري (*Achillea millefolium*, (Acteraceae) من خلال توصيفه بواسطة دراسة كيميائية نباتية (بعض الاختبارات الأولية للفحص الكيميائي النباتي على المستخلص الخام) ، وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات الفطريات ومضادات الميكروبات. و ذلك من أجل الحصول على مستخلص غني بالمستقلبات ذات الأهمية ، اخترنا طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية ، باستخدام مذيبات مختلفة ذات قطبية متزايدة (كلوروفورم، أسيتات الإيثيلوالميثانول) ، تقنية تسمح بالحصول على استخلاص كامل وبالتالي الحصول على مردود عالي من المستخلصات الخام في وقت قصير جدا. المستخلصات المختلفة التي تمت دراستها أظهرت نشاطاً قوياً مضاداً للجراثيم ضد *sterptococcus* مع مستخلص الكلوروفورم. أظهرت دراسة النشاط المضاد للفطريات لجميع مستخلصات *Achillea millefolium* L تأثيراً ملحوظاً ضد عفن الزبدة الحيوانية ، مع وجود تثبيط كلي. التقييم في المختبر للنشاط المضاد للأكسدة لمستخلصي أسيتات الإيثيل و الميثانول المعزولة من *A. millefolium* ، تم بطريقة الكسح الجذري (DPPH*) ، المستخلصين قدما أنشطة مضادة للأكسدة مثيرة للاهتمام ، تتعلقربما بالمحتوى الإجمالي لمتعدد الفينول والفلافونويد.

أكدت هذه النتائج أهمية استخدام هذا النبات في علاج الأمراض المختلفة ومع ذلك ، هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجياً وتقديم معلومات دقيقة تتعلق بالآليات الجزيئية المسؤولة عن هذه التأثيرات.

الكلمات المفتاحية:

Achillea millefolium L, Asteraceae, المستخلص ، دراسة فيثوكيميائية، فلافونويد ، مركبات فينولية ، فعالية مضادة للبكتيريا، فعالية مضادة للفطريات، فعالية مضادة للأكسدة.