

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

BENCHETTOUH Belkis Fatima

CHIKOUCHE HAMINA Djamila

HADJI Afaf

Intitulé

Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
des extraits et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. HENDEL Noui	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
M ^{me} . BOUAZIZ Samia	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur
M ^{lle} . DEHIMI Khadidja	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Encadreur

Année universitaire : 2021 /2022

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la force d'aller au bout afin de terminer ce travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **M^{lle} Dehimi Khadidja**, pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'elle a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect.

Nous remercions infiniment les membres de jury d'avoir accepté de juger et évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier **Pr. SMAILI Tahar**, professeur à l'Université Mohamed Boudiaf-M'sila, de nous avoir aidé à identifier la plante étudiée, ainsi que **le laboratoire de la phytothérapie appliquée aux maladies chroniques, université de Sétif-1**, pour leur bienveillance et les facilités qu'ils nous ont fourni.

Nous tenons à exprimer aussi nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

ملخص

Artemisia herba-alba هو نبات طبي ينتمي إلى الفصيلة النجمية ؛ وهو منتشر في الجزائر في السهوب والمراعي الصخرية ويسمى محليا «الشيخ». تستخدم الأجزاء الهوائية من هذا النبات تقليدياً كمضاد للإسهال ولعلاج اضطرابات المعدة و مرض السكري. تم إنجاز هذا العمل من أجل دراسة التركيب الكيميائي النباتي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات والزيت الأساسي المحضر من الأجزاء الهوائية للنبات. تم تحضير المستخلصات باستخدام تقنية النقع بواسطة أربع مذيبات ذات قطبية مختلفة؛ بلغ مردود الاستخلاص 17.35% للمستخلص المائي و 9.56% لمستخلص الميثانول، في حين أن مردود مستخلصي الأسيتون الهكسان كان أقل (5.64% و 12.2%)، على التوالي). أعطى استخلاص الزيت عن طريق التقطير المائي مردود قدره 1.005%. تم العثور على أعلى مستوى من عديدات الفينول في المستخلص المائي (86.574 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ مغ مستخلص). أظهر مستخلص الأسيتون أعلى مستوى من الفلافونويدات (83.892 ميكروغرام مكافئ الكيرسيتين /مغ مستخلص) وكان مستخلص الميثانول الأغنى بالدباغ (239.027 ميكروغرام مكافئ حمض التانيك/مغ مستخلص). تم الحصول على أفضل قدرة على إرجاع الحديد في مستخلص الأسيتون الذي أظهر نشاطية متزايدة مع التركيز بقيمة امتصاص قصوى بلغت 1.90 بتركيز 2 مغ/مل. أظهر اختبار حمض بيتاكاروتين/حمض اللينوليك أن مستخلص الميثانول له نشاطية أعلى من المستخلصات الأخرى بنسبة تثبيط تساوي 90.01%. تم تقييم النشاطية المضادة للبكتيريا باستعمال ثلاث سلالات (إيجابية وسلبية الغرام)؛ أظهرت جميع المستخلصات العضوية نشاطية ضد *s.aureus* بأقصى تثبيط قدر بـ 18.5 مم، تم الحصول عليه بمستخلص الأسيتون. أظهرت *E.coli* حساسية فقط من مستخلص الأسيتون (13.5 مم)، بينما تثبط الزيت الأساسي جميع السلالات بمنطقة تثبيط قصوى قدرت بـ 16.33 مم.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba-alba*، عديدات الفينول، *FRAP*، بيتاكاروتين، نشاطية مضادة للبكتيريا، زيت أساسي.

Résumé

Artemisia herba-alba est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracées ; elle est commune en Algérie dans les steppes et les pâturages rocaillieux et appelée localement "Chih". Les parties aériennes de cette plante sont utilisées traditionnellement comme anti-diarrhéique et pour traiter les troubles gastriques et le diabète. On a fait ce travail dans le but d'étudier la composition phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle préparés à partir des parties aériennes de la plante. Les extraits ont été préparés en utilisant la technique de macération par quatre solvants de polarités différentes ; le rendement de l'extraction est de 17.35% pour l'extrait aqueux et 9.56% pour l'extrait de méthanol, tandis que celui des extraits d'acétone et d'hexane est plus faible (5.64% et 2.12%, respectivement). L'extraction de l'huile par hydrodistillation a donné un rendement de 1.005%. Le taux le plus élevé de polyphénols a été trouvé dans l'extrait aqueux (86.574 µg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait). L'extrait d'acétone a montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes (83.892 µg équivalent quercétine/mg d'extrait) et l'extrait méthanolique a été le plus riche en tannins (239.027 µg équivalent acide tannique/mg d'extrait). La meilleure capacité à réduire le fer a été obtenue par l'extrait acétonique qui a montré une activité dose-dépendante avec une valeur maximale d'absorbance de 1.90 à une concentration de 2 mg/ml. Le test de β -carotène/acide linoléique a montré que l'extrait méthanolique possède une activité plus importante que les autres extraits avec un pourcentage d'inhibition égale à 90.01 %. L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant trois souches (G+ et G-) ; les extraits organiques avaient tous une activité contre *S. aureus* avec une inhibition maximale de 18.5 mm, obtenue par l'extrait acétonique. *E. coli* a été sensible seulement à l'extrait d'acétone (13.5 mm), alors que l'huile essentielle a inhibé toutes les souches avec une zone d'inhibition maximale de 16.33 mm.

Mots clés : *Artemisia herba-alba*, polyphénols, FRAP, β carotène, activité antibactérienne, huile essentielle.

Abstract

Artemisia herba-alba is a medicinal plant belonging to the *Asteraceae* family; it is common in Algeria in steppes and rocky pastures and locally called "Chih". The aerial parts of this plant are traditionally used as anti-diarrheal and to treat gastric disorders and diabetes. This work was carried out in order to study the phytochemical composition and to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of extracts and essential oil prepared from the aerial parts of the plant. The extracts are prepared using the maceration technique by four solvents of different polarities; the extraction yield is 17.35% for the aqueous extract and 9.56% for the methanol extract, while yields of hexane and acetone extracts are lower (5.64% and 2.12%, respectively). Oil extraction by hydrodistillation gave an extraction yield of 1.005%. The highest level of polyphenols was found in aqueous extract (86,574 μg gallic acid equivalent/mg extract). Acetone extract showed the highest level of flavonoids (83.892 μg quercetin equivalent/mg extract) and methanolic extract was the most rich in tannins (239.027 μg tannic acid equivalent/mg extract). The best capacity to reduce iron was obtained by acetic extract which showed a dose-dependent activity with a maximal absorbance value of 1.90 at a concentration of 2 mg/ml. The β -carotene/linoleic acid test showed that methanolic extract has more important activity than the other extracts with an inhibition percentage equal to 90.01%. The antibacterial activity was evaluated using three strains (G+ and G-); organic extracts had all an activity against *S. aureus* with a maximal inhibition of 18.5 mm, obtained by acetic extract. *E. coli* was only sensitive to acetone extract (13.5 mm), while the essential oil inhibited all strains with a maximal inhibition zone of 16.33 mm.

Key words : *Artemisia herba-alba*, polyphenols, FRAP, β -carotene, antibacterial activity, essential oil.

Sommaire

Introduction.....	1
CHAPITRE I: Synthèse bibliographique	
1 La plante <i>Artemisia herba-Alba</i>	3
1.1 La famille des Astéracées.....	3
1.2 Le genre <i>Artemisia</i>	3
1.2.1 Morphologie.....	3
1.2.2 Les espèces Algériennes du genre <i>Artemisia</i>	3
1.3 L'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>	4
1.3.1 Description botanique.....	4
1.3.2 Classification.....	4
1.3.3 Composition chimique.....	4
1.3.4 Intérêts thérapeutiques et autres utilisations d ' <i>Artemisia herba alba</i>	5
2 Les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants.....	6
2.1 Les radicaux libres.....	6
2.1.1 Définition.....	6
2.1.2 Les principaux ROS.....	6
2.1.2.1 L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$).....	6
2.1.2.2 Le radical hydroxyle (OH.).....	6
2.1.2.3 Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2).....	6
2.1.3 Les sources des ROS.....	7
2.1.3.1 Les sources endogènes.....	7
2.1.3.2 Les sources exogènes.....	7
2.1.4 Rôles biologiques des radicaux libres.....	7
2.2 Le stress oxydatif.....	8
2.2.1 Définition.....	8
2.2.2 Conséquences du stress oxydatif.....	8
2.3 Les antioxydants.....	8
2.3.1 Définition.....	8
2.3.2 Les classes des antioxydants.....	8
2.3.2.1 Les antioxydants enzymatiques.....	8
2.3.2.2 Les antioxydants non enzymatiques.....	9
3 Les antibiotiques.....	9
3.1 Définition.....	9
3.2 Mécanismes d'action des antibiotiques.....	9
3.3 L'antibiorésistance.....	10
4 Les métabolites secondaires.....	10
4.1 Les polyphénols.....	10
4.2 Les flavonoïdes.....	11
4.3 Les tannins.....	11
4.4 Les huiles essentielles.....	12
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	
1 Matériel.....	14
1.1 Matériel végétal.....	14
1.2 Souches bactériennes.....	14
1.3 Produits chimiques.....	15
2 Méthodes.....	15
2.1 Méthodes d'extraction.....	15
2.1.1 Préparation de l'extrait aqueux.....	15
2.1.2 Préparation des extraits organiques.....	15
2.1.3 Extraction des huiles essentielles.....	16
2.1.4 Calcul du rendement d'extraction.....	16
2.2 Etude phytochimique.....	17

2.2.1	Les flavonoïdes	17
2.2.2	Les tannins	17
2.2.3	Les quinones	17
2.2.4	Les terpénoïdes	17
2.2.5	Les saponines	17
2.3	Dosages de quelques métabolites secondaires	17
2.3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	17
2.3.2	Dosage des flavonoïdes	18
2.3.3	Dosage des tannins totaux	19
2.4	Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante.....	20
2.4.1	Pouvoir réducteur de fer (frap ou ferric reducing antioxidant power)	20
2.4.1.1	Préparation du tampon phosphate 0.2 m (ph 6.6)	20
2.4.1.2	Le test FRAP	20
2.4.2	Test du β - carotène/acide linoléique.....	21
2.5	Etude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante	22
2.5.1	Préparation de l'inoculum.....	22
2.5.2	Méthode des puits de diffusion	22
2.5.3	Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)	22
2.6	Etude statistique	23
CHAPITRE III : Résultats et discussion		
1	Extraction	25
2	Etude phytochimique.....	26
3	Dosage des composés phénoliques des extraits de la plante.....	27
4	Activité antioxydante des extraits aqueux et organiques.....	28
4.1	Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	28
4.2	Test de β -carotène/acide linoléique.....	30
5	Activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante.....	32
	Conclusion	36
	Références bibliographiques	38

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AHA : *Artemisia herba alba*

ATB : Antibiotique

ATCC : American type culture collection

BHT : Hydroxytoluène butylé.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

ERO Espèces réactives de l'oxygène .

GM : Gentamicine

HE : huile essentielle

MHA: Mueller-Hinton Agar

NOS: Nitric oxide synthase.

¹O₂: Oxygène singulet

ROS: Reactive oxygen species.

SOD : Superoxyde dismutase.

UV : Ultra-violet.

Liste des figures

Figure 1: Mécanismes d'action des antibiotiques.	10
Figure 2: Structure de base des composés phénoliques.....	11
Figure 3: Structure chimique générale de flavonoïdes.	11
Figure 4: Structure chimique des tannins.	12
Figure 5: La plante <i>Artemisia herba-alba</i> . A : plante dans son environnement, B : partie aérienne.	14
Figure 6: Montage d'extraction par hydrodistillation.	16
Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	18
Figure 8: Courbe d'étalonnage de la quercétine	19
Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.....	20
Figure 10: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	28
Figure 11: Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i> par la méthode de FRAP	29
Figure 12: Cinétique de blanchissement du β -carotène en présence des extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i> , de BHT et du témoin négatif (DMSO) durant 48h.....	30
Figure 13: Pourcentages d'inhibition des quatre extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i> , du témoin positif (BHT) et de témoin négatif (DMSO) après 24h d'incubation.	31
Figure 14: Activité antibactérienne de la gentamycine, des extraits et de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	33

Liste des tableaux

Tableau 1: Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'activité antimicrobienne.	14
Tableau 2: Rendements des extractions aqueuse, organiques et de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	25
Tableau 3: Analyse phytochimique des différents extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i>	26
Tableau 4: Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux des extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i>	27
Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'AHA résultant de l'effet antibactérien des extraits et de l'HE (10 µl/disque), et de la gentamycine (10 µg/disque).	32

INTRODUCTION

Les espèces réactives d'oxygène à concentrations élevées peuvent causer la lésion des molécules biologiques et surtout l'ADN, les protéines et les lipides. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète (Benmammar et Lazizi, 2021).

Dans un autre palier, les antibiotiques existant pour traiter les infections ne sont pas toujours efficaces du fait de l'apparition de germes résistants et de la toxicité des produits, par conséquent, la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques s'avère nécessaire (Photolo et *al.*, 2020).

Les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle sont apparues ces dernières années comme des sources potentielles d'antioxydants, d'antimicrobiens et de métabolites secondaires pour les interventions thérapeutiques (Muthanna et *al.*, 2021).

Artemisia herba-alba est une plante médicinale utilisée traditionnellement dans le traitement de plusieurs désordres comme les troubles digestifs et le diabète ; ce travail a pour but d'étudier la composition chimique et l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle préparés des parties aérienne de la plante par le biais de :

- L'investigation de la présence ou l'absence des principaux groupes de composés chimiques végétaux dans les extraits.
- L'estimation de la teneur des extraits organiques et aqueux en polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux.
- L'étude de l'activité antioxydante des extraits par la méthode de FRAP et le test de β carotène/acide linoléique.
- L'étude du pouvoir antibactérien des extraits et de l'huile essentielle de la plante.

CHAPITRE I

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

1 La plante *Artemisia herba-alba*

1.1 La famille des Astéracées

La famille des Astéracées est parmi les plus grandes familles d'angiospermes, appelées aussi Composées (*Compositae*), ou plus rarement composacées. Elle compte environ 24 000 espèces regroupées dans 1 600 à 1 700 genres, ce qui en fait la deuxième plus vaste famille du monde végétal et des plantes à fleurs (Sifouane, 2021). La famille des Astéracées se rencontre dans les régions tempérées, les régions sèches, le bassin Méditerranéen, l'Afrique australe, le Mexique, le Sud-Ouest des États-Unis et les régions arides d'Amérique du Sud. Les espèces de cette famille peuvent aussi pousser dans les régions froides (Guignard et Dupont, 2005 ; Botineau, 2010). Les Astéracées ont été nommées par ce nom en raison de leur inflorescence spéciale ; les fleurs sont réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes aux autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'une tige et entourées par des bractées florales. Plusieurs espèces appartenant à cette famille sont des plantes alimentaires ou d'une importance économique comme la laitue, l'artichaut et le tournesol (Messai, et Belkacemi, 2011).

1.2 Le genre *Artemisia*

1.2.1 Morphologie

Les plantes du genre *Artemisia* sont des plantes odorantes vivaces, suffrutescentes ou ligneuses, distinguées par des capitules discoïdes petits ou moyens, des fleurs du disque hermaphrodites (fertiles ou stériles) et un réceptacle plan ou convexe, glabre ou velu, non paléacé (Quezel et Santa, 1963).

1.2.2 Les espèces Algériennes du genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* est représenté en Algérie par neuf espèces qui sont (Quezel et Santa, 1963) :

<i>A. herba-alba</i> Asso	<i>A. judaica</i> L.	<i>A. Verlotorum</i>
<i>A. absinthium</i> L.	<i>A. alba turra</i>	<i>A. vulgaris</i> L.
<i>A. arborescens</i> L.	<i>A. campestris</i> L.	<i>A. atlantica</i>

1.3 L'espèce *Artemisia herba-alba*

1.3.1 Description botanique

Artemisia herba-alba est une plante herbacée à tiges nombreuses et tomenteuses, de 30 à 50 cm. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées. Les fleurs sont groupées sous forme de grappes, à capitules petites et ovoïdes. L'involucre est à bractées externes orbiculaires, opaques et pubescentes ; les intérieures sont oblongues, brillantes et glanduleuses. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Quezel et Santa, 1963).

1.3.2 Classification

Artemisia herba halba ou armoise herbe blanche, commune en Algérie dans les steppes et les pâturages rocaillieux et par le nom «Chih», est classée comme suit (Quezel et Santa, 1963):

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Gamopétales

Ordre : Astérales

Familles : Composées

Sous famille : Tubilifoidées

Tribu : Antimidées

Genre : *Artemisia*

Espèce: *Artemisia herba-alba*

1.3.3 Composition chimique

Artemisia herba alba est une plante riche en métabolites secondaires dont les principaux composés identifiés dans cette espèce sont des constituants volatiles, l'huile essentielle, des constituants non volatiles tel que les flavonoïdes et les sesquiterpènes lactones, des études menées sur l'huile essentielle de cette espèce recueillie en Algérie ont montré que les monoterpènes sont les principaux composants, essentiellement le camphre, les thuyones, les dérivés du 1,8-cinéole et du chrysanthényle (Tilaoui et *al.*, 2015).

Quelques flavonoïdes ont été identifiés comme les flavonoïdes C-glycosidés : isovitexine (ou apigénine 6-C-glucoside), vicénine-2 (ou apigénine 6,8-di-C-glucoside), schaftoside (ou apigénine 6-C-glucosyl-8-C-arabinoside), iso-schaftoside (ou apigénine 6-C-arabinosyl-8glucoside) ; ainsi que les flavonoïdes O-glycosidés dérivés essentiellement du kaempferol, quercétine, isorhamnetin et de patulétine (Nabiel *et al.*, 1987).

De nombreuses lactones sesquiterpéniques de type germacranolides et eudesmanolides ont été isolés : l'herbalbine, herbolides, germacrane triol et hydroxylyratrol. D'autres composés ont été aussi identifiés dans la plante comme les santonines, les coumarines et les tannins (Marco *et al.*, 1994 ; Boriky *et al.*, 1996).

1.3.4 Intérêts thérapeutiques et autres utilisations d' *Artemisia herba alba*

L'armoise herbe blanche est très connue pour ses propriétés pharmacologiques. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les troubles gastriques et hépatiques, en plus des maux les plus divers et contre certaines formes d'empoisonnement. Les feuilles de cette espèce sont utilisées pour soigner le diabète, la bronchite, les abcès et comme vermifuge. Elle possède des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. L'infusion de cette plante est utilisée comme agent antibactérien, analgésique et hémostatique (Abou El-Hamd *et al.*, 2010 ; Tilaoui *et al.*, 2011). L'huile essentielle d'*A herba-alba* est aussi utilisée en médecine traditionnelle comme laxatif très prononcé et pour la lutte contre les vers intestinaux, ainsi que pour le soulagement du diabète, le traitement de la bronchite et d'autres troubles comme la jaunisse (Marrif *et al.*, 1995).

Dans la recherche scientifique, cette espèce a une grande popularité qui repose vraisemblablement sur ses pouvoirs anti-tumoraux, antispasmodiques et antiseptiques (Tariq *et al.*, 1987; Mouchem, 2015). Des études *in vitro* démontrent que l'extrait aqueux de l'armoise herbe blanche inhibe l'action hémolytique des venins de serpents et de scorpions, ainsi qu'une importante activité antioxydante (Amr, 1995).

En plus des activités biologiques, la plante étudiée présente un excellent moyen naturel de lutte contre l'érosion et la désertification, un double intérêt économique comme pâturage permanent des zones désertiques (Benjilali *et al.*, 1984). L'huile essentielle est utilisée dans l'industrie pharmaceutique et en cosmétique (Kadri *et al.*, 2011).

2 Les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants

2.1 Les radicaux libres

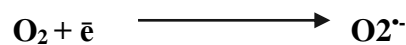
2.1.1 Définition

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre. On distingue aussi la nomination des espèces réactives d'oxygène (ERO ou ROS) qui inclue toutes les molécules réactives dérivées de l'oxygène et qui peuvent être des radicaux ou de nature non radicalaire (Fettah, 2019).

2.1.2 Les principaux ROS

2.1.2.1 L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

L'anion superoxyde est une espèce réactive oxygénée formée par la capture d'un électron par la molécule d'oxygène (Boulaouad et Bouhaf, 2018).

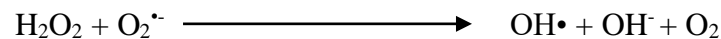


2.1.2.2 Le radical hydroxyle (OH^{\cdot})

C'est une espèce radicalaire plus réactive. Elle est principalement formée lors de réactions d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène, ces réactions sont décrites sous le nom de réactions de Fenton (Boyer, 2016) :



L' H_2O_2 peut aussi réagir avec le radical superoxyde, selon la réaction d'Haber et Weiss (Sorge, 2004) :



2.1.2.3 Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et L'oxygène singulet (1O_2)

Ces deux molécules sont des espèces réactives mais non radicalaires. Le danger lié au peroxyde d'oxygène est important car cette molécule peut traverser les membranes des cellules et des organelles. Le 1O_2 est une forme excitée d'oxygène, hautement oxydative (Bounaia et al., 2013).

2.1.3 Les sources des ROS

2.1.3.1 Les sources endogènes

A. La chaîne respiratoire des mitochondries

La source principale des ROS endogènes est la mitochondrie. En effet, environ 80 % de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente, soit l'ajout de 4 électrons qui conduit à la production d'eau. Cependant, une faible quantité d'électrons peut s'échapper de la chaîne de transport des électrons et ainsi réduire en partie l'oxygène (Sherer et *al.*, 2002). On estime qu'environ 2 % de l'oxygène utilisé par la respiration subit une réduction mono-électronique, soit l'ajout d'un électron à une molécule d'oxygène qui conduit à la formation d'un radical $O_2^{\cdot-}$ (Halliwell, 2006).

B. La xanthine oxydase

La xanthine oxydase qui produit l' $O_2^{\cdot-}$ par la réduction de l'hypoxanthine en xanthine et celle-ci en acide urique (Hille, 2006).

C. L'enzyme NOS (Nitric Oxide Synthase)

Cette enzyme produit le radical NO^{\cdot} qui va être oxydé et produit d'autres types d'espèces réactives (Coleman, 2001).

2.1.3.2 Les sources exogènes

Tels que les pesticides, les métaux lourds, la fumée de cigarettes, les polluants, la poussière, la prise de certains médicaments ainsi que le rayonnement électromagnétique (Delattre et *al.*, 2005).

2.1.4 Rôles biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent agir en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Ils ont aussi un rôle important dans la réponse immunitaire comme l'acide hypochlorique HOCl, qui est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des antigènes par les cellules immunitaires (Favier, 2003).

2.2 Le stress oxydatif

2.2.1 Définition

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et les systèmes antioxydants du corps, qui sont responsables de la neutralisation des ROS et la réparation des dommages causés par ceux-ci (Boyd et *al.*, 2003).

2.2.2 Conséquences du stress oxydatif

Les espèces réactives d'oxygène assurent alors plusieurs fonctions dans le corps, mais à concentrations élevées ils peuvent causer la lésion des molécules biologiques et surtout l'ADN, les protéines et les lipides. C'est pour cela que le stress oxydant est impliqué dans plusieurs maladies comme le cancer, l'inflammation et le vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

2.3 Les antioxydants

2.3.1 Définition

Les antioxydants sont définis comme toute molécule capable d'entrer en compétition avec des substrats oxydables et inhiber ou retarder leur oxydation par les radicaux libres. Les antioxydants peuvent agir à des concentrations faibles (Tang et Halliwell, 2010).

2.3.2 Les classes des antioxydants

2.3.2.1 Les antioxydants enzymatiques

Plusieurs enzymes exercent un effet antioxydant au niveau des cellules, ici on cite :

A. La superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine, son rôle dans la défense antioxydante est très important, elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en dioxygène et en eau oxygénée selon la réaction suivante (Atkins et Depaula, 2013).



B. La catalase

Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes, elle transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène selon la réaction suivante (Reynaert et *al.*, 2007) :



2.3.2.2 Les antioxydants non enzymatiques

Parmi les antioxydants non enzymatiques, on distingue des molécules endogènes comme le glutathion et l'acide urique, ainsi que les antioxydants apportés par l'alimentation comme les vitamines C et E, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les caroténoïdes et quelques oligoéléments (Wu et *al.*, 2013).

3 Les antibiotiques

3.1 Définition

Un antibiotique (ATB) est une substance chimique organique, produite par l'un des microorganismes ou issu de la synthèse chimique et exerçant à faible dose une action toxique envers d'autres microorganismes (Badaoui et *al.*, 2013).

3.2 Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne en provoquant la formation de paroi incomplète aboutissant à l'éclatement de la bactérie, ou sur la structure de la membrane cytoplasmique ce qui entraîne une fuite du cytoplasme ou bien finalement sur la synthèse des protéines bactériennes ou la réplication d'ADN (Figure 1) (Kahlouche-Riachi, 2014).

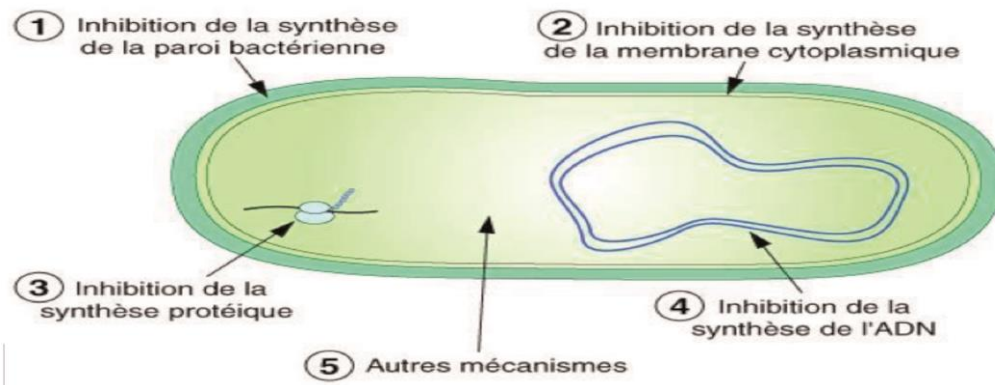


Figure 1: Mécanismes d'action des antibiotiques (Lesseur, 2014).

3.3 L'antibiorésistance

Les antibiotiques risquent d'être inefficaces dû au problème des résistances des micro-organismes aux antimicrobiens (Jindal et *al.*, 2015). Le règne végétal semble être un puits profond pour la recherche de nouveaux agents antimicrobiens grâce aux nombreuses caractéristiques attrayantes des plantes : facilement disponibles et bon marché ; les extraits ou les composés de sources végétales présentent souvent une activité de haut niveau contre les agents pathogènes, et ils ont rarement des effets secondaires graves. La grande variété de composés d'origine végétale fournit des structures chimiques très diverses qui peuvent fournir à la fois les nouveaux mécanismes d'action antimicrobienne et fournir aussi de nouvelles cibles au sein de la cellule bactérienne (Gorlenko et *al.*, 2020).

4 Les métabolites secondaires

4.1 Les polyphénols

Ce sont des métabolites secondaires très largement représentés dans le règne végétal, ils peuvent être apportés par l'alimentation lors de la consommation des fruits ou de légumes. Leur structure contient un ou plusieurs groupements phénols (noyau aromatique relié à un groupement OH) (Figure 2). Plusieurs études ont été menées sur les activités biologiques des polyphénols, notamment l'activité antioxydante ce qui explique leur importance dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies liées au stress oxydatif comme les cancers, les maladies cardiovasculaires et dégénératives.

Ces composés sont aussi utilisés comme additifs dans plusieurs domaines tel l'agroalimentaire, en cosmétique et en industrie pharmaceutique (Chen et *al.*, 2004).

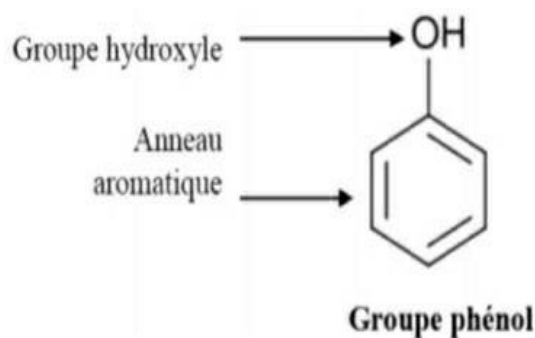


Figure 2: Structure de base des composés phénoliques (Manallah, 2018).

4.2 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (*flavus* signifie jaune) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont les pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge des organes végétaux (Havsteen, 2002). Leur structure est formée de deux cycles aromatiques reliés par un hétérocycle (Figure 3). Cette structure peut être à l'état libre ou aglycone, ou peut se lier à des glucides pour former les flavonoïdes glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Les flavonoïdes sont très connus par leurs activités biologiques et ils jouent un rôle important aussi au sein de la plante surtout dans la protection des rayonnements UV (Erlund, 2004).

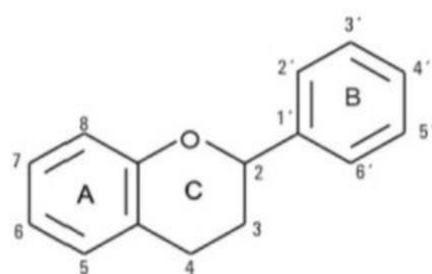


Figure 3: Structure chimique générale de flavonoïdes (Chanvallon et *al.*, 1994).

4.3 Les tannins

Les tannins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques (Figure 4) qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation et leur saveur astringente mais ayant en commun la

propriété de tanner la peau ; cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000 Da. Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation lipidique (Bennick, 2002 ; Marouf et Tremblin, 2021).

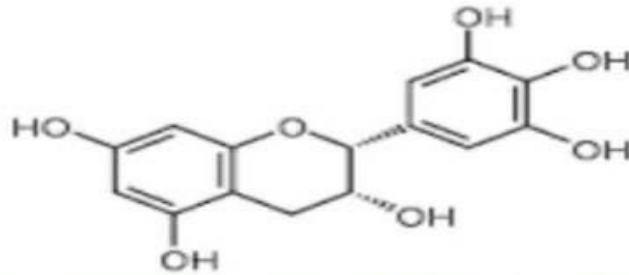


Figure 4: Structure chimique des tannins (Fettah, 2019).

4.4 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composants liquides et hautement volatiles des plantes caractérisées par une odeur forte ; les terpènes représentent la majeure partie de ces composants. Elles sont obtenues par distillation par la vapeur d'eau et sont plus ou moins modifiées au cours de la préparation (Figueredo, 2007).

Ces substances sont particulièrement abondantes chez certaines familles du règne végétal comme les conifères, les rutacées, les ombellifères, les myrtacées, les lamiacées, les astéracées et les poacées. Tous les organes peuvent en renfermer, surtout les sommités fleuries (lavande, menthe...) mais on en trouve aussi dans les racines ou rhizomes (vétiver, gingembre), dans les écorces (cannelle), le bois (camphrier), les fruits (poivres) et les graines (muscade) (Laib, 2011)

CHAPITRE II
MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 . Matériel

1.1 Matériel végétal

La plante *Artemisia herba-alba* (Figure 5) a été récoltée à la fin du mois de Novembre 2021, de la région Draa Elhadja à M'sila. L'identification botanique a été confirmée par Pr. SMAILI Tahar (Université Mohamed Boudiaf, M'sila). La partie aérienne a été nettoyée et séchée à l'obscurité pendant 10 jours. Le matériel végétal a été ensuite broyée afin d'obtenir une poudre qui sera, ultérieurement, utilisée pour la préparation des extraits.



Figure 5: la plante *Artemisia herba-alba*. A : plante dans son environnement, B : partie aérienne.

1.2 Souches bactériennes

Les bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée sont toutes des souches de références (Tableau 1), fournies par le laboratoire de microbiologie au niveau du département de microbiologie et biochimie (Université de M'sila).

Tableau 1: Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'activité antimicrobienne.

SOUCHES	GRAM	CODE ATCC
<i>Escherichia coli</i>	-	22922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	22923

ATCC: American type culture collection

1.3 Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés proviennent de Sigma, Fluka, Biochem et prolabo. Les solvants utilisés proviennent de Sigma-Aldrich, Honeywell et AnalaR NORMAPUR.

2 Méthodes

2.1 Méthodes d'extraction

Afin d'extraire les molécules actives de la plante *d'Artemisia herba-alba*, quatre solvants de polarités différentes ont été utilisés : l'eau distillée, le méthanol, l'acétone et l'hexane.

2.1.1 Préparation de l'extrait aqueux

Pour obtenir l'extrait aqueux de la plante, 50 g du matériel végétal ont été soumis à une macération par 500 ml d'eau distillée à 70°C durant une heure avec agitation. Le mélange est laissé durant deux jours à température ambiante et à l'abri de la lumière, avec agitation occasionnelle. La filtration du mélange est réalisée par du coton puis par du papier whatman. Le filtrat est ensuite soumis à une évaporation par un rotavapor (BUchi) pour éliminer l'eau. L'extrait obtenu est séché à l'étuve et conservé dans des eppendorfs à 4°C jusqu'à utilisation (Gnanaprakash et *al.*, 2010).

2.1.2 Préparation des extraits organiques

L'extraction est effectuée selon la méthode décrite par Siracusa et ses collaborateurs en 2011.

Brièvement, 50 g de la poudre du matériel végétal ont été macérés dans 500 ml d'hexane pendant deux jours avec une agitation occasionnelle à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration, le filtrat est soumis à une évaporation et l'extrait obtenu est ensuite séché à l'étuve et conservé dans des eppendorfs à 4°C jusqu'à utilisation. Les débris de la plante sont macérés à la suite dans 500ml d'acétone et ensuite par du méthanol en suivant la même méthode utilisée pour l'hexane.

2.1.3 Extraction des huiles essentielles

L'hydrodistillation est une technique largement utilisée pour l'extraction des huiles essentielles (Figure 6). L'avantage de cette technique réside en la diminution de la température de distillation. Les composés volatils sont donc entraînés à des températures beaucoup plus basses que leur température d'ébullition, ce qui évite leur décomposition. L'opération consiste à introduire 70 g de masse végétale séchée dans un ballon de 1 litre, on y ajoute une quantité d'eau distillée correspondant à 2/3 du volume du ballon. L'opération d'extraction est réalisée pendant 6 heures à partir du début d'ébullition.

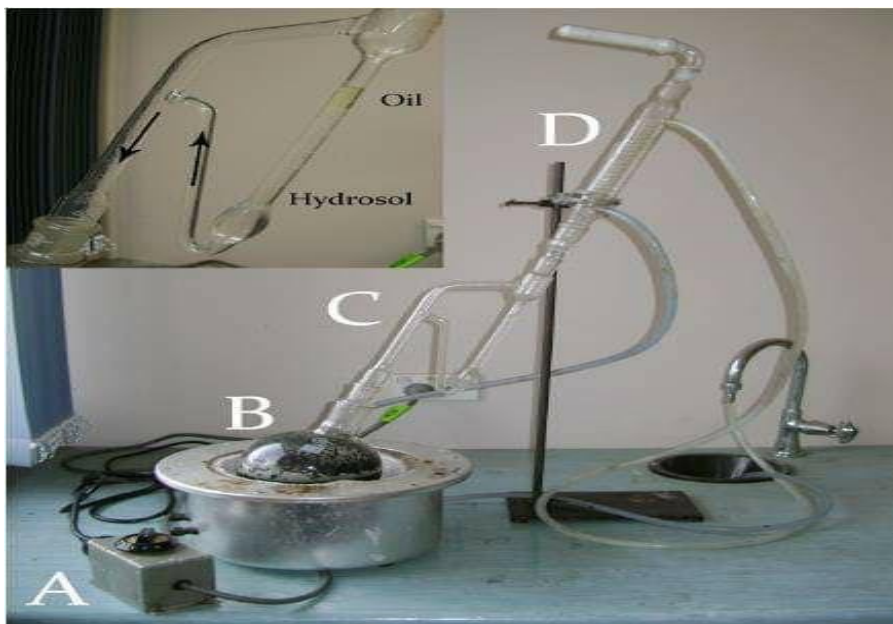


Figure 6: Montage d'extraction par hydrodistillation (Sadgrove et Jones, 2019).

2.1.4 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'extrait et /ou l'huile obtenue et la masse de la matière première végétale traitée. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\% = (MEX / MMV) \times 100$$

MMV : masse de la matière végétale séchée en (g).

MEX : masse de l'extrait et /ou l'huile obtenue en (g).

2.2 Etude phytochimique

Pour rechercher la présence ou l'absence de grandes familles de composés dans les extraits étudiés, des tests simples ont été réalisés selon la méthode décrite par Sunil et ses collaborateurs en 2012.

2.2.1 Les flavonoïdes

Ajouter quelques gouttes d'hydroxyde de sodium (NaOH) dilué à 1 ml d'extrait à une concentration de 4 mg/ml. Une couleur jaune intense est apparue puis a disparu après l'ajout de quelques gouttes d'acide dilué, indiquant la présence de flavonoïdes dans l'extrait.

2.2.2 Les tannins

Placer 1 ml de l'extrait (concentration de 4 mg/ml) et quelques gouttes de chlorure ferrique à 0,1% (FeCl_3) dans un tube à essai. La présence de tannins est indiquée par la formation d'un précipité noir bleuâtre ou noir verdâtre.

2.2.3 Les quinones

Dans un tube à essai on met 500 μl d'extrait de concentration 4 mg/ml et 500 μl d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence de quinones.

2.2.4 Les terpénoïdes

1 ml de chaque extrait (4mg/ml) est mélangé avec 0.5 ml de chloroforme. Puis, 0,75 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) sont ajoutés doucement. La formation d'un anneau brun rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes.

2.2.5 Les saponines

500 μl d'extrait (4 mg/ml) sont dilués par 3 ml d'eau distillée et agités vigoureusement pendant 15 minutes. La formation d'une couche stable de mousse indique la présence des saponines.

2.3 Dosages de quelques métabolites secondaires

2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par le test de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007). Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique

(H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) ; les polyphénols dans les extraits végétaux sont capables de réduire les constituants du réactif Folin en un mélange d'oxydes bleus. La coloration produite dont l'absorption est maximale à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits étudiés.

Brièvement, 1 ml de Folin-Ciocalteu (10 %) est ajouté à 200 µl de chaque extrait à une concentration de 2 mg/ml ou à 200 µl de DMSO pour obtenir le blanc. Après avoir agité et incubé durant 4 min, on ajoute 800 µl de carbonate de Sodium (Na₂CO₃) à une concentration de 75 g/l, puis on incube durant 2 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée à 765nm par un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est préparée à concentrations différentes (de 10 à 80 µg/ml) (Figure 7). Les concentrations de polyphénols dans les extraits sont calculées et exprimées en µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg EAG/mg E).

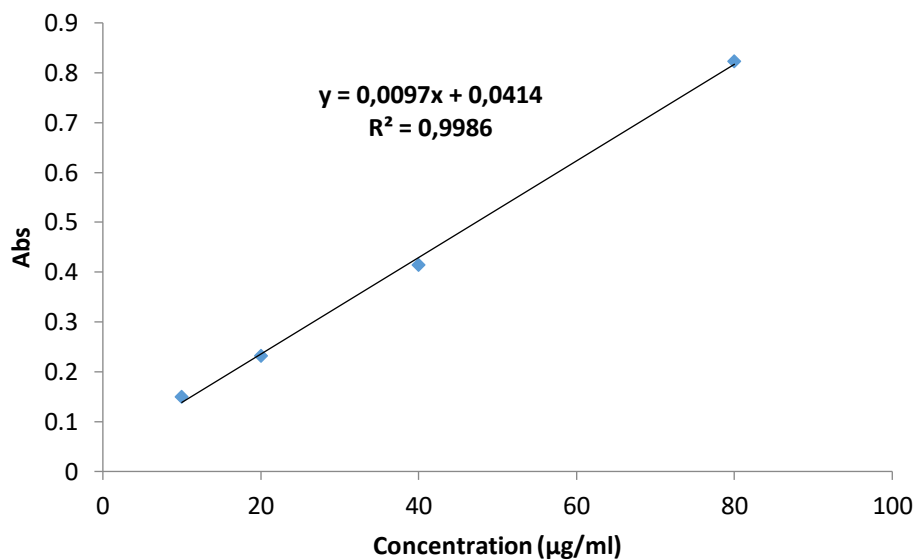


Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.(Chaque point représente la moyenne de trois répétitions).

2.3.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode de trichlorure d'Aluminium (AlCl₃) (Bahorun et *al.*, 1996). En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, qui est susceptible de donner avec le groupement CO un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium.

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium), ceci est traduit par le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

On ajoute 1ml d' AlCl_3 (2%) à 1 ml de chaque solution des extraits préparés à une concentration de 2 mg/ml. Après incubation à l'obscurité durant 10 min, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Le calcul de la concentration des flavonoïdes dans les extraits se fait à l'aide d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations (Figure 8), elle est exprimée en μg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait sec (μg EQ/mg E).

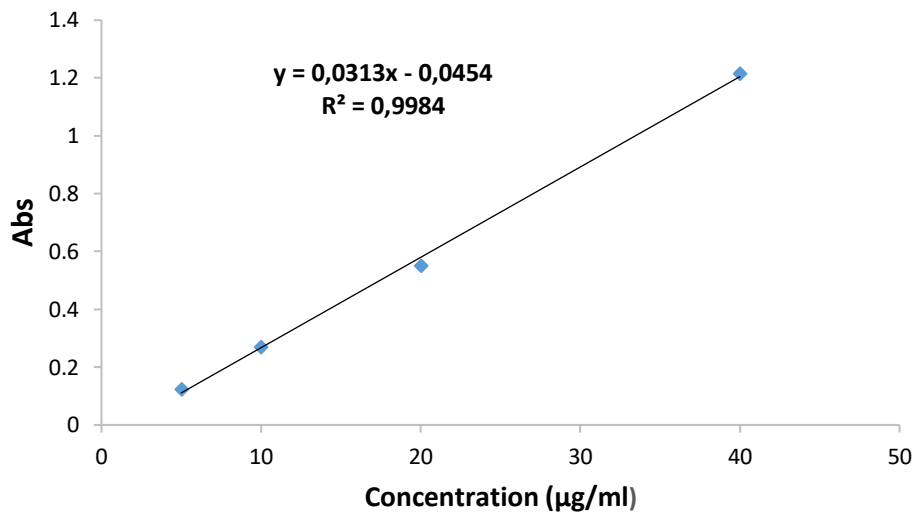


Figure 8: Courbe d'étalonnage de la quercétine ,(Chaque point représente la moyenne de trois répétitions).

2.3.3 Dosage des tannins totaux

Le dosage des tannins est effectué selon la méthode décrite par Prasanth et ses collaborateurs Le milieu réactionnel est préparé par l'addition de 350 μl de chaque extrait (2 mg/ml dans le DMSO) à 1.5 ml de Folin-Ciocalteu (10%). Après agitation, 1.5 ml de Na_2CO_3 (7.5%) sont ajoutés et le mélange est incubé pendant 45 min à 45°C. L'absorbance est déterminée à 765 nm. L'acide tannique est utilisé comme standard à différentes concentrations (Figure 9). Les teneurs en tannins totaux sont exprimées en μg d'équivalent d'acide tannique par mg d'extrait sec (μg EAT/mg E).

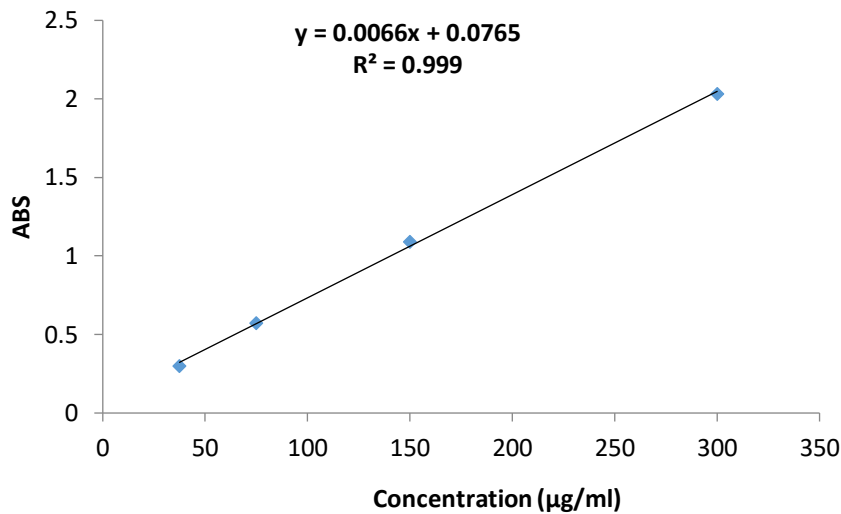


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique. (Chaque point représente la moyenne de trois répétitions).

2.4 Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante

2.4.1 Pouvoir réducteur de fer (FRAP ou Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'activité antioxydante totale des extraits a été estimée par l'évaluation du pouvoir antioxydant réducteur ferrique. Cette méthode est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Ce test est effectué selon la méthode décrite par (Vijayalakshmi et Ruckmani, 2016).

2.4.1.1 Préparation du tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6)

Le tampon doit être préparé le même jour de l'expérimentation, pour cela, on dissout 8 g de chlorure de sodium (NaCl), 0,2 g de chlorure de potassium (KCl), 1,44 g de disodium hydrogénophosphate (Na_2HPO_4), 0,24 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) dans 800 ml d'eau distillée. Ensuite, on ajuste le pH à 6,6 par l'acide chlorhydrique et on complète le volume jusqu'à 1 L par l'eau distillée.

2.4.1.2 Le test FRAP

Dans un tube à essai en verre contenant 500 µl de solution d'échantillon (les différents extraits) à différentes concentrations (0.5, 1 et 2 mg/ml), on ajoute 1250 µl de tampon phosphate (pH 6,6) puis 1250 µl de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%). L'ensemble est agité puis incubé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Après refroidissement, un volume de 1250 µl d'acide trichloracétique (TCA à 10%) est ajouté et le

mélange est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes. 1250 µl de surnageant sont ensuite transférés dans un autre tube auquel on ajoute 1250 µl d'eau distillée et 250 µl de Chlorure ferrique (FeCl₃ à 0,1%) fraîchement préparé dans l'eau distillée ; l'ensemble est incubé pendant 10 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance est effectuée à 700 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le DMSO. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le contrôle positif utilisé est représenté par l'acide ascorbique préparé à différentes concentrations.

2.4.2 Test du β- carotène/acide linoléique

Dans cet essai, l'activité antioxydante des extraits est évaluée par la mesure de l'inhibition des produits d'oxydation issus de l'oxydation de l'acide linoléique. Le test est réalisé selon la méthode décrite par Dapkevicius et ses collaborateurs (1998).

La solution de β- carotène a été préparée en ajoutant 0.5 mg de β- carotène à 1 ml de chloroforme, 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation de chloroforme à 40°C par un rotavapor, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés avec agitation vigoureuse. A partir de cette solution, on met 2.5 ml dans des tubes à essai et on ajoute 350 µl de chaque extrait à une concentration de 3 mg/ml ou de l'hydroxytoluène butylé (BHT) utilisé à même concentration comme contrôle positif, ou de DMSO utilisé comme des contrôle négatif. Chaque solution est répétée trois fois.

L'absorbance des solutions est mesurée à 490 nm au temps 0 puis à différents intervalles de temps. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{At} / \text{Ato}) * 100$$

At: absorbance au temps (t).

Ato: absorbance initiale.

2.5 Etude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante

2.5.1 Préparation de l'inoculum

Les bactéries sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37°C, elles sont ensuite conservées à 4 °C dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée. Une colonie de chaque bactérie a été prélevée et introduite dans 9 ml d'eau physiologique contenue dans un tube stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0.5 McFarland, ce qui correspond à une densité optique de 0.08-0.13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10^7 - 10^8 UFC/ml (Khrich *et al.*, 2018).

2.5.2 Méthode des puits de diffusion

Dans ce test, des puits de 7mm sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton Agar (MHA) coulée dans des boîtes de Pétri (à deux points équidistants du centre et des bords de la boîte) etensemencée par écouvillonnage de suspension bactérienne. Dans des conditions aseptiques les extraits ont été dissous dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO), à une concentration de 200 mg/ml et 30µl de cette concentration sont incorporés dans chaque puits. Les diamètres d'inhibition sont ensuite mesurés en mm autour des puits après une pré-incubation de 1 heure à 4°C pour que l'extrait puisse diffuser et une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les extraits ont été remplacés par le DMSO dans les témoins et la gentamicine à 10µg/disque a été utilisée comme contrôle positif (Bouyahya *et al.*, 2017). Les souches testées sont considérées non sensibles pour les diamètres de 8mm; sensibles pour les diamètres de 9 à 14mm ; très sensibles pour les diamètres de 15 à 19mm et extrêmement sensibles pour les diamètres plus de 20mm (Ponce *et al.*, 2003).

2.5.3 Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)

La technique utilisée pour étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé. Les milieux MHA coulés en boites de Petri sontensemencés par écouvillonnage de suspension bactérienne préalablement préparée. Dans des conditions aseptiques l'HE est déposée au volume de 10 µl sur des disques de papier whatman stériles placés à la surface des milieux. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure pour que l'HE puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètre (Mouas *et al.*, 2017).

2.6 Etude statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par Microsoft Excel 2007. Le logiciel utilisé pour l'étude statistique est GraphPad Prism 7.04. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type (n=3) ; les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentration)]. La signification statistique est déterminée par le test one-way ANOVA et les différences sont considérées significatives au seuil de $p < 0.05$.

CHAPITRE III
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

1 Extraction

Les quatre extraits (hexanique, acétonique, méthanolique et aqueux) et l'huile essentielle (HE) sont obtenus à partir de la partie aérienne de la plante *Artemisia herba-alba* (AHA). Les rendements d'extraction sont exprimés en pourcentage de masse d'extrait ou de l'huile par rapport à la masse initiale du matériel végétal. Les rendements obtenus sont représentés dans le tableau 2

Tableau 2: Rendements des extractions aqueuse, organiques et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Extrait	Rendement (%)
Aqueux	17.35
Méthanol	09.56
Acétone	05.64
Hexane	02.12
Huile essentielle	01.00

Puisque chaque solvant est capable d'extraire des composés phytochimiques qui ne peuvent être obtenus probablement que par l'utilisation de celui-ci, on a utilisé quatre solvants de polarités différentes afin d'extraire le maximum de constituants chimiques de la plante (Dos Santos et *al.*, 1991).

L'extrait aqueux (préparé sous forme d'une décoction) a donné le rendement le plus élevé (17.35%) par rapport aux autres extraits. Il est bien connu que le chauffage peut améliorer la solubilité de certains composés et donc augmenter le rendement de l'extraction. L'extrait aqueux est suivi par l'extrait méthanolique, dont le rendement est égal 9.56 %, puis l'extrait acétonique (5.64%) et enfin l'extrait d'hexane qui a montré le rendement le plus faible (2.12%). On peut constater que pour la plante étudiée le rendement augmente avec la polarité des solvants d'extraction.

Le rendement de l'extraction par macération dépend de plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction, la durée de macération du matériel végétal dans le solvant, la température, le solvant utilisé et la nature chimique de l'échantillon (Su et *al.*, 2006).

L'huile essentielle d'AHA qui est obtenue par la méthode d'hydrodistillation, est de couleur jaune et d'odeur fortement aromatique. Le rendement d'extraction est égal à 1.005%. Selon une étude réalisée par Bezza et *al.* en 2010, le rendement en HE d'AHA dans différentes régions en Algérie varie de 0.2 à 0.95%. Une autre étude sur la même plante récoltée dans 4 régions différentes en Espagne a mentionné que le rendement en HE varie de 0.41 à 2.30% (Salido et *al.*, 2004).

2 Etude phytochimique

Les résultats des divers tests phytochimiques effectués sur les extraits sont reportés dans le tableau 3.

Tableau 3: Analyse phytochimique des différents extraits d'Artemisia herba-alba.

Extrait	Aqueux	Méthanol	Acétone	Hexane
Flavonoïdes	+	+	+	+
Saponines	+	-	-	-
Tannins	+	+	+	-
Terpénoïdes	+	+	+	-
Quinones	+	+	+	+

(+) : présence, (-) : absence.

Les tests phytochimiques nous ont permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes, les quinones, les tannins et les saponines dans les extraits. Selon les résultats montrés dans le tableau 3, les flavonoïdes et les quinones sont présents dans tous les extraits étudiés, alors que les terpénoïdes et les tannins sont absents seulement dans l'extrait d'hexane. Les saponines sont présentes seulement dans l'extrait aqueux.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux décrits par Dif et ses collaborateurs en 2018, qui ont confirmé la présence des flavonoïdes, des tannins et des terpénoïdes dans l'extrait méthanolique de la plante. Par contre, dans la même étude, l'extrait d'hexane a montré l'absence des tannins et des flavonoïdes, ainsi que la présence des terpénoïdes.

3 Dosage des composés phénoliques des extraits de la plante

Dans le but de caractériser les extraits préparés, un dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins totaux a été effectué. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins totaux des extraits d'*Artemisia herba-alba*.

Extrait	Teneur en polyphénols (µg EAG/mg E)	Teneur en flavonoïdes (µg EQ/mg E)	Teneur en tanins (µg EAT/mg E)
Aqueux	86.57 ± 0,09	11.10 ± 0,06	112.05 ± 0,63
Méthanol	35.31 ± 2,14	32.21 ± 0,46	239.02 ± 4,35
Acétone	33.18 ± 1,89	83.89 ± 0,62	168.05 ± 2,82
Hexane	10.29 ± 1,13	16.23 ± 0,99	39.38 ± 0,37

EAG : équivalent d'acide gallique, EQ : équivalent de quercétine, EAT : équivalent d'acide tannique ; E : extrait.

Selon le tableau 4, la teneur des extraits étudiés en polyphénols est directement proportionnelle à la polarité des extraits ; l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols par rapport aux autres extraits (86,57 µg EAG/mg E), suivi par l'extrait méthanolique et acétonique avec des teneurs proches (35.31 et 33.18 µg EAG/mg E, respectivement), tandis que l'extrait d'hexane est le plus pauvre en polyphénols (10,29 µg EAG/mg E). Ces résultats sont loin de ceux obtenus dans une étude réalisée par AYAD et ses collaborateurs en 2022, où la teneur totale en composés phénoliques dans les extraits méthanolique et aqueux est de 154.06 et 52.44 µg EAG/mg E, respectivement. Dans l'étude réalisée par Dif et ses collaborateurs en 2018, l'extrait de méthanol contient 43.61 µg EAG/mg E, la valeur est proche de nos résultats, alors que l'extrait d'hexane contient 63.14 µg EAG/mg E.

L'extrait acétonique contient la quantité la plus importante des flavonoïdes (83.89 µg EQ/mg E), suivi par l'extrait de méthanol (31.44 µg EQ/mg E), puis l'extrait d'hexane (16.23 µg EQ/mg E) et enfin l'extrait aqueux (12.43 µg EQ/mg E). Selon AYAD et ses collaborateurs en 2022, la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique est de 47.97 µg EQ/mg E et de l'extrait aqueux est de 31.86 µg EQ/mg E. Dans l'étude de Dif et ses collaborateurs en 2018, la teneur en flavonoïdes dans les extraits méthanolique et hexanique

sont 234.45 et 138.80 $\mu\text{g EQ/mg E}$, respectivement. Ces valeurs sont élevées par rapport à nos résultats.

La quantification des tannins dans les extraits a révélé que les quantités les plus élevées sont trouvées dans les fractions de méthanol et d'acétone (239.02 et 178.05 $\mu\text{g EAT/mg E}$, respectivement), suivis de l'extrait aqueux avec une concentration de 124.66 $\mu\text{g EAT/mg E}$ et de l'extrait d'hexane avec une concentration de 39.38 $\mu\text{g EAT/mg E}$. Selon (Dif *et al.*, 2018), la teneur en tannins dans l'extrait méthanolique est de 20.18 $\mu\text{g EAT/mg E}$ et dans l'extrait d'hexane est de 11.24 $\mu\text{g EAT/mg E}$. Ces valeurs sont largement inférieures à nos résultats.

4 Activité antioxydante des extraits aqueux et organiques

4.1 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de la plante a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Les résultats sont résumés dans les figures 10 et 11.

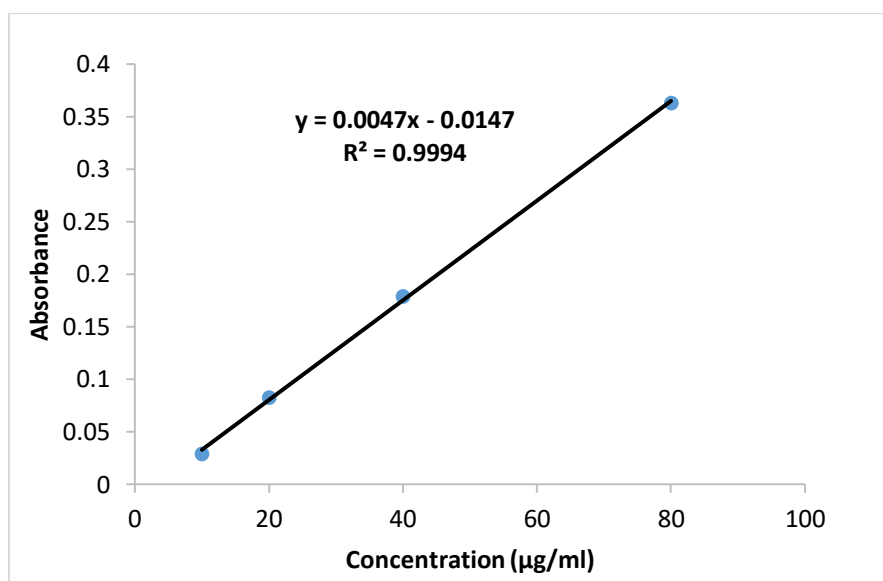


Figure 10: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique. (Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions).

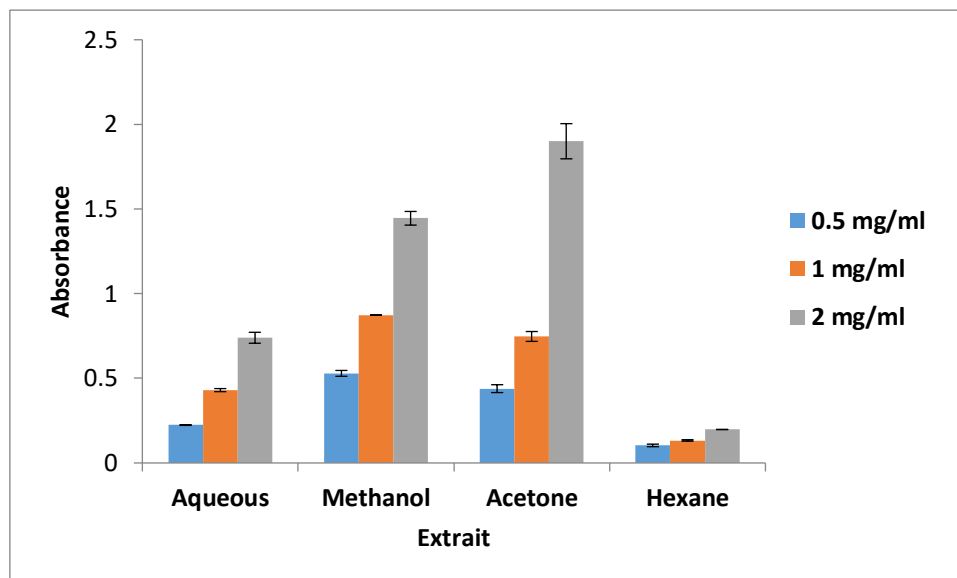


Figure 11: Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Artemisia herba-alba* par la méthode de FRAP. (Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions \pm écart type (M \pm SD)).

La méthode de FRAP est un essai simple, rapide et reproductible qui mesure la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques en donnant un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} , ce qui induit le passage de la couleur jaune à la couleur vert pâle et bleue en fonction de la concentration d'antioxydants dans les échantillons. Cette transformation de couleur est suivie par spectrophotométrie à 700 nm (Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Bentabet et *al.*, 2014).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que tous les extraits présentent une capacité réductrice dose-dépendante, c'est-à-dire que le pouvoir réducteur de fer est proportionnel à la concentration des extraits et du standard (augmentation de l'absorbance). La capacité de l'acide ascorbique à réduire le fer est supérieure à celle des extraits, dont la valeur d'absorbance est égale à 0.36 pour la concentration 80 μ g/ml. Parmi les extraits étudiés, l'extrait acétonique a montré la meilleure capacité réductrice ($A = 1.90$) par rapport aux autres extraits pour la même concentration (2 mg/ml), notant que c'est l'extrait qui a montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes qui peuvent servir comme donneurs d'électrons, suivi de l'extrait méthanolique ($A = 1.41$), puis l'extrait aqueux ($A = 0.73$) et enfin l'extrait hexanique qui a montré une faible activité réductrice ($A = 0.19$). Dans l'étude réalisée par AYAD et ses collaborateurs en 2022, les extraits aqueux et méthanolique d'AHA ont donné des valeurs de EC_{50} de 532.36 et 249.88 μ g/ml, respectivement, dans le test de FRAP.

Le potentiel réducteur des extraits est lié à la présence des molécules capables de donner des électrons. L'interaction des polyphénols avec les métaux de transition joue un rôle important dans les propriétés antioxydantes, surtout pour les flavonoïdes qui ont, en point de vue structural, plusieurs sites potentiels (Ferreira et *al.*, 2006).

4.2 Test de β -carotène/acide linoléique

Le test au β -carotène est largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des composés bioactifs du fait que le β -carotène est extrêmement susceptible aux radicaux libres, dérivés hydro peroxydes résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Kumazawa et *al.*, 2002). Ces derniers attaquent le chromophore du β -carotène, résultant en une décoloration de l'émulsion réactionnelle qui se traduit par une diminution de l'absorbance à 490 nm.

La présence d'antioxydants pourrait donc prévenir l'oxydation et par conséquent la décoloration de cette molécule, par neutralisation de ces radicaux. La cinétique de blanchissement du β -carotène a été réalisée en présence des extraits d'*Artemisia herba-alba* et d'un antioxydant (BHT) utilisé comme contrôle positif. Les pourcentages d'inhibition sont représentés dans les Figures 12 et 13.

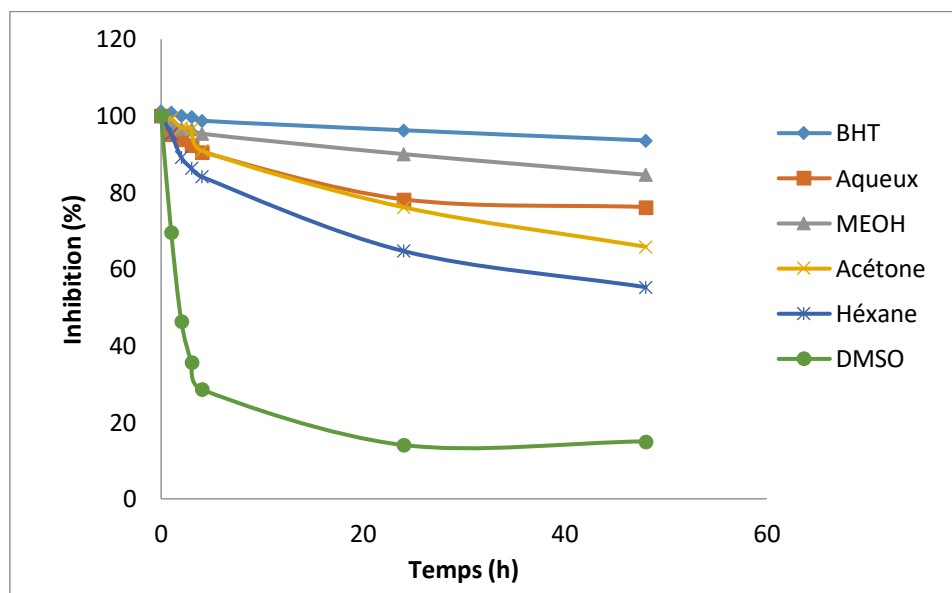


Figure 12: Cinétique de blanchissement du β -carotène en présence des extraits d'*Artemisia herba-alba*, de BHT et du témoin négatif (DMSO) durant 48h. Chaque point représente la moyenne de trois répétitions

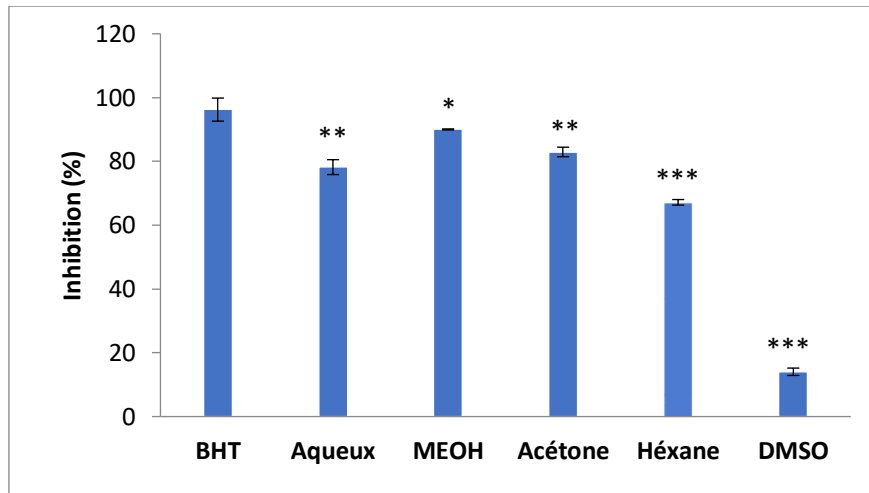


Figure 13: Pourcentages d'inhibition des quatre extraits d'*Artemisia herba-alba*, du témoin positif (BHT) et de témoin négatif (DMSO) après 24h d'incubation. Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions \pm SD. Comparaison par rapport au BHT ($p < 0.05$) *, ($p < 0.01$) **, ($p < 0.001$) ***.

La figure 12 montre la cinétique de blanchissement de β -carotène, dont on observe qu'en présence du DMSO seul, l'absorbance diminue rapidement, alors qu'en présence de BHT et des extraits d'AHA, le blanchissement est ralenti.

Après 24 h d'incubation, l'activité antioxydante (inhibition%) la plus élevée est présentée par l'extrait de méthanol (90.01%) qui est la valeur la plus proche de celle du BHT ; ce dernier a montré la plus forte activité antioxydante (96,23%). L'extrait d'acétone et aqueux ont donné des pourcentages d'inhibition de 82.96% et 78.20%, respectivement, tandis que l'extrait d'hexane a montré l'activité la plus faible par rapport aux autres extraits (67,17%). Les extraits de la plante ont donc un effet inhibiteur significatif contre la peroxydation lipidique surtout pour l'extrait méthanolique.

L'activité antioxydante des extraits dans ce test est proportionnelle à leur teneur en tannins. Ce groupe de métabolites secondaires est connu par son activité inhibitrice de la peroxydation lipidique (Sieniawska, 2015).

Des recherches précédentes ont étudié l'activité antioxydante de l'HE de la plante par le test de β -carotène où la valeur de R_{c50} est égale à 0.87 mg/ml (Ed-Draet *al.*, 2021).

5 Activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des extraits d'AHA contre les bactéries testées est évaluée par la méthode des disques de diffusion (aromatogramme) pour l'HE et la méthode des puits de diffusion pour les extraits. Leur potentiel antibactérien est évalué par la mesure du diamètre des zones d'inhibition. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 5 et la figure 14.

Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'AHA résultant de l'effet antibactérien des extraits et de l'HE (10 µl/disque), et de la gentamicine (10 µg/disque).

SOUCHE	Concentration de l'extrait (mg/ml)								ATB	HE
	Aqueux		Méthanol		Acétone		Hexane			
	200	100	200	100	200	100	200	100		
<i>E.coli</i>	NA	NA	NA	NA	13.5±0.70	9.5±0.70	NA	NA	25±1	16±2
<i>S.aureus</i>	NA	NA	15.5± 0.70	10.5± 0.70	18.5± 0.70	18± 2.82	15± 0	nt	35.33± 0.57	15.66± 2.08
<i>P.aeruginosa</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	20.5± 4.94	16.33± 4.5

NA : non actif, nt : non testé, ATB : Antibiotique, HE (huile essentielle).

L'antibiotique utilisé comme contrôle positif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne est la gentamicine (GM) (10µg/disque). Il appartient à la famille des aminosides (ou aminoglycosides) qui ont un large spectre d'activité contre les bactéries Gram positif et Gram négatif (Bouhaddouda, 2016). Dans cette étude, toutes les souches testées ont montré une sensibilité extrême à la gentamicine (diamètres variant de 20.5 à 35.33 mm).

Pour la souche *E. coli*, l'extrait acétonique à deux concentrations (200 et 100 mg/ml) a provoqué une inhibition moins efficace que celui de la GM (25 mm). Les zones d'inhibition obtenues pour cette souche varient de 9.5 à 13.5 mm, on peut dire alors que cette bactérie est qualifiée sensible à cet extrait selon Ponce et *al.*, (2003). Les autres extraits n'ont présenté aucune activité vis-à-vis d'*E. coli*.

Par ailleurs, l'extrait d'acétone a remarquablement inhibé la croissance de la souche bactérienne *S. aureus* avec des diamètres allant de 18 à 18.5 mm, cette souche est donc qualifiée de très sensible selon Ponce et *al.*, (2003) ; l'extrait méthanolique et d'hexane ont donné des zones d'inhibitions allant de 10.5 à 15.5 mm, *S. aureus* est donc qualifiée sensible à très sensible à ces deux extraits. L'extrait aqueux n'a montré aucun effet contre cette souche.

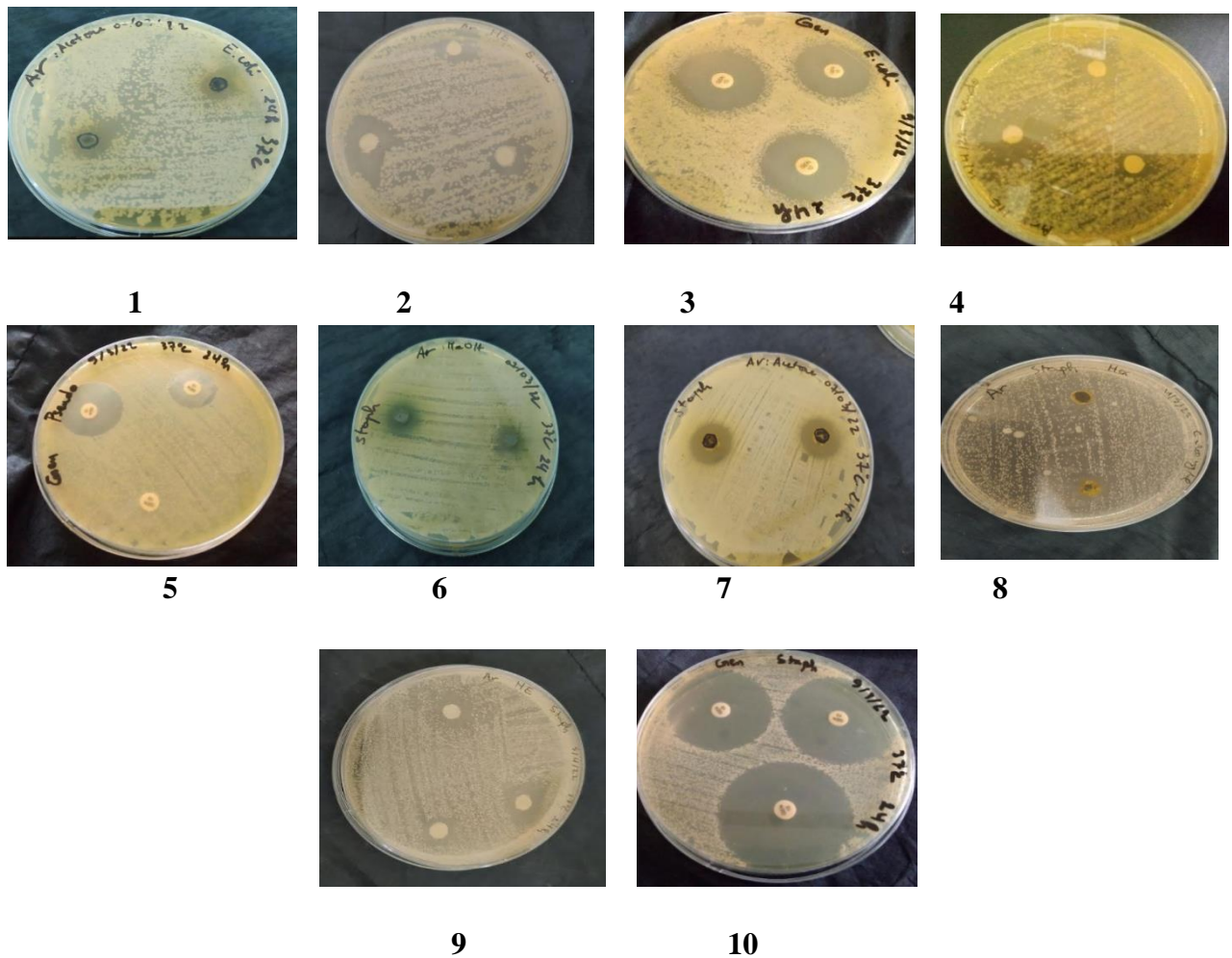


Figure 14: Activité antibactérienne de la gentamycine, des extraits et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*. 1 : Extrait d'acétone (*E. coli*), 2 : HE (*E. coli*), 3 : GM (*E. coli*), 4 : HE (*P. aeruginosa*), 5 : GM (*P. aeruginosa*), 6 : Extrait méthanol (*S. aureus*), 7 : Extrait acétone (*S. aureus*), 8 : Extrait hexane (*S. aureus*), 9 : HE (*S. aureus*), 10 : GM (*S. aureus*).

Aucun extrait pour les concentrations 100 et 200 mg/ml n'a eu d'effet contre *P. aeruginosa*. En outre, le DMSO, utilisé comme témoin négatif n'a présenté aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes.

On note aussi que la bactérie à Gram positif utilisée dans cette étude (*S. aureus*) a été plus sensible aux extraits de la plante par rapport aux deux autres bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). L'hypersensibilité des souches à Gram positif aux extraits naturels est due à l'absence de la membrane externe (Balentine et al., 2006).

Plusieurs auteurs ont expliqué l'activité antibactérienne des polyphénols par la modification de la perméabilité des membranes cellulaires. Les flavonoïdes peuvent également agir en inhibant à la fois le métabolisme énergétique et la synthèse de l'ADN, affectant ainsi les synthèses de protéines et d'ARN. Dans le cas des bactéries à Gram positif,

une modification du pH intracellulaire ainsi qu'une interférence avec le système générateur d'énergie (ATP) ont été signalées (Bouarab-Chibane et *al.*, 2019).

D'après l'étude de AYAD et ses collaborateurs en 2022, *E. coli* était sensible aux extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de la plante par des zones d'inhibition allant de 9.94 jusqu'à 13.56 mm ; de même pour *P. aeruginosa* (9.01 à 13.92 mm) et *S. aureus* (9.28 à 15.63 mm) qui ont été sensibles aussi à ces extraits à une concentration maximale de 250 mg/ml. L'activité de l'extrait méthanolique contre *S. aureus* dans cette étude est comparable à nos résultats ; de même pour l'extrait aqueux qui a donné de petites zones d'inhibition (10 à 11mm) à une concentration de 250 mg/ml.

D'autre part, l'HE d'AHA appliquée à 10 µl/disque, a présenté un effet inhibiteur très important sur toutes les bactéries ; les diamètres des zones d'inhibition variaient de 15.66 à 16.33 mm. Selon Younsi et *al.*, (2016), le diamètre d'inhibition obtenu par l'HE de la plante était de 17 mm pour *S. aureus* et *E. coli* et de 20 mm pour *P. aeruginosa*. Ces valeurs sont proches à nos résultats. Une autre étude réalisée par Bouhouia et *al.*, (2020), montre que l'activité d'inhibition était de 6 mm pour *P. aeruginosa*, 13 mm pour *E. coli* et 14 mm pour *S. aureus*, donc ces valeurs sont inférieures comparativement à nos résultats.

Les activités antibactériennes des extraits et de l'HE d'AHA sont sans doute reliées à leur composition en molécules actives contre ces bactéries, par conséquent, les extraits phénoliques et les huiles essentielles soient utilisés comme source potentielle d'agents antibactériens naturels contre les bactéries multi-résistantes (Sharafati Chaleshtori et *al.*, 2018).

CONCLUSION

Les plantes médicinales représentent une source fiable et majoritaire de molécules actives comme les antioxydants et les antimicrobiens naturels, notamment les polyphénols et les huiles essentielles. Dans le présent travail, on a étudié quelques propriétés phytochimiques et les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits et de l'huile essentielle des parties aériennes d'*Artemisia herba alba*.

Les résultats montrent que le rendement d'extraction augmente avec la polarité des solvants utilisés. Une investigation phytochimique a confirmé la présence des flavonoïdes, des quinones, des tannins, des terpénoïdes et des saponines dans les extraits préparés. Le dosage des polyphénols totaux a révélé des teneurs qui varient considérablement entre les extraits, dont la teneur la plus élevée est trouvée dans l'extrait aqueux. D'autre part, la teneur la plus élevée en flavonoïdes est observée dans l'extrait acétonique, cependant, l'extrait méthanolique représente l'extrait le plus riche en tannins.

L'évaluation du potentiel antioxydant par la méthode de FRAP montre que la meilleure capacité réductrice de fer est présentée par l'extrait d'acétone. Le pouvoir antioxydant évalué par le test de blanchissement du bêta-carotène, a montré que l'extrait méthanolique avait le pourcentage d'inhibition le plus important.

En parallèle, l'évaluation de l'activité antibactérienne d'*Artemisia herba alba* montre que l'huile essentielle présente une excellente activité vis-à-vis des souches testées. Pour le pouvoir antibactérien des extraits, la souche *Staphylococcus aureus* a été sensible vis-à-vis de l'extrait acétonique, méthanolique et d'hexane ; de plus, l'extrait d'acétone exhibe une activité moyenne contre *Escherichia coli*. En revanche, la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est révélée insensible aux extraits de la plante.

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

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Abou El-Hamd H. Mohamed¹, El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1).

Amr, A. (1995). Antioxidative role of some aromatic herbs in refrigerated ground beef patties. *DIRASAT-AMMAN*-, 22, 1475-1488.

Atkins, M. P. W., & De Paula, M. J. (2013). *Chimie physique*. De Boeck Supérieur.

Ayad, N., Benaraba, R., Hemida, H., & Abdellah, F. (2022). Biological activities of phenolic extracts from *Artemisia herba-alba* Asso grown in western Algeria. *European Journal of Biological Research*, 12(1), 46-61.

Badaoui, F., Douaouria, M., , Haiahem, I., (2013). Analyse phytochimique et activité antibactérienne d'extraits bruts de *Satureja calamintha* L. et *Artemisia herba alba* L.

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.

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

Benjilali, B., Tantaoui-Elaraki, A., Ayadi, A., & Ihlal, M. (1984). Method to study antimicrobial effects of essential oils: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. *Journal of Food Protection*, 47(10), 748-752.

Benmammar Razika et lazizi Narimane (2021). *Contribution à l'étude physico-chimique, phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes d'Artemisia Herba alba* (Doctoral dissertation).

Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 184-196.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., & Kaloustian, J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*, 8(5), 277-281.

Boriky, D., Berrada, M., Talbi, M., Keravis, G., & Rouessac, F. (1996). Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 43(1), 309-311.

Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc.

Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., ... & Bordes, C. (2019). Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (Quantitative structure–activity relationship) models. *Frontiers in microbiology*, 10, 829.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. *Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba*.

BOUHOUIA, A., MAAZI, M. C., & CHEFROUR, A. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE *Artemisia herba-alba* ASSO ESSENTIAL OIL (SOUK AHRAS, ALGERIA) AGAINST FOURTEEN BACTERIAL STRAINS.

Boulaouad, Anis & Bouhafs, Younes. (2018). *tude de l'activité antioxydante des extraits de la plante médicinale Atriplex halimus ssp. schweinfurthii* (Doctoral dissertation).

Bounaia, N. Chelbab, A., Maizi, H. (2013). Le rôle protecteur des flavonoïdes dans la préservation du cœur ischémique.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.

Boyd, B., Ford, C., Koepke, M. C., Gary, K., Hom, E., Mc Analley, S., & Mc Analley, B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*, 4(6), 7.

Boyer, F. (2016). *Stress oxydant et pathologie diabétique: impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Chanvallon, C., Blanchemaison, P., & Cance-Sanchez, B. (1994). Les Flavonoïdes. *Act Med Angiologie*, 12, 3846-50.

Chen, D., Daniel, K. G., Kuhn, D. J., Kazi, A., Bhuiyan, M., Li, L., ... & Dou, Q. P. (2004). Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Biosci*, 9(2618).

Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., & Chou, S. T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454-2458.

Coleman, J. W. (2001). Nitric oxide in immunity and inflammation. *International immunopharmacology*, 1(8), 1397-1406.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T. A., & Linssen, J. P. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 140-146.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. *Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris: Lavoisier*, 45-80.

Dif, M. M., Toumi, F. B., Boukaaza, H., Mokaddem, F., Benyahia, M., & Bouazza, S. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of *Artemisa herba-alba*, A medicinal plant from Algerian arid zone. *Phytothérapie*, 16(2), 91-95.

Dos Santos, J. R., Fleurentin, J., Cabalion, P., Mazars, G., & Younos, C. (1991). *Ethnopharmacologie. Sources, Méthodes, Objectifs*.

Ed-Dra, A., Filali, F. R., Presti, V. L., Zekkori, B., Nalbone, L., Elsharkawy, E. R., ... & Giarratana, F. (2021). Effectiveness of essential oil from the *Artemisia herba-alba* aerial parts against multidrug-

resistant bacteria isolated from food and hospitalized patients. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(7).

Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M., & Araujo, M. E. M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*, 108(1), 31-37.

Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région BeniSouik, Biskra (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA).

Figueredo, G. (2007). *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.

Gnanaprakash, K., Madhusudhana Chetty, C., Ramkanth, S., Alagusundaram, M., & Tiruvengadarajan Vs, A. P. S. (2010). Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat.

Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V., Zamyatnin, A. A., & Ikryannikova, L. N. (2020). Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics?. *Antibiotics*, 9(4), 170.

Guignard, J. L., & Dupont, F. (2005). *Abrégés de botanique systématique moléculaire*, 13ème éd.

Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of neurochemistry*, 97(6), 1634-1658.

Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.

Hille, R. (2006). Structure and function of xanthine oxidoreductase. *European journal of inorganic chemistry*, 2006(10), 1913-1926.

Jindal, A. K., Pandya, K., & Khan, I. D. (2015). Antimicrobial resistance: A public health challenge. *medical journal armed forces india*, 71(2), 178-181.

Kadri, A., Chobba, I. B., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. *African Journal of Biotechnology*, 10(15), 2923-2929.

Kahlouche-Riachi, F. (2014). evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'Algerie.

Khribch, J., Nassik, S., El houadfi, M., Zrira, S., Oukessou, M., (2018). Activité antibactérienne del'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire *Mar. Sci.Agron. Vét*, 6 (3): 300-307.

Kumazawa, S., Hayashi, K., Kajiya, K., Ishii, T., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2002). Studies of the constituents of Uruguayan propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4777-4782.

Laib, I. (2011). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs.

Lesseur Pascale., (2014). Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance, Site of Formation permanent ; développement & santé, Paris.

Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.

Manallah, A. (2018). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *olea europaea*L (Doctoral dissertation).

- Marco, J. A., Sanz-Cervera, J. F., Ocete, G., Carda, M., Rodríguez, S., & Vallès-Xirau, J. (1994). New germacranolides and Eudesmanolides from north African *Artemisia herba-alba*. *Journal of Natural Products*, 57(7), 939-946.
- Marouf, A., & Tremblin, G. (2021). Bibliographie sommaire. In *Abrégé de biochimie appliquée* (pp. 465-472). EDP Sciences.
- Marrif, H. I., Ali, B. H., & Hassan, K. M. (1995). Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso.) in rabbits and mice. *Journal of ethnopharmacology*, 49(1), 51-55.
- Messai, L., & Belkacemi, D. (2011). Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien.
- Mouas, Y., Benrebiha, F., & Chaouia, C., (2017). Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis l.* *Revue Agrobiologia*, 7(1) :363-370.
- MOUCHEM, F. Z. (2015). *Contribution à l'étude des huiles essentielles de l'armoise blanche de trois localités de l'ouest algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs effets antimicrobiens* (Doctoral dissertation).
- Muthanna J. Mohammed; Uttpal Anand; Ammar B. Altemimi; Vijay Tripathi; Yigong Guo; Anubhav Pratap-Singh . (2021). Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of white wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10(1), 164.
- Nabiel A.M.Saleh., El-Negoumy, S. I., & Abou-zaid, M. M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 26(11), 3059-3064.
- Photolo, M. M., Mavumengwana, V., Sitole, L., & Tlou, M. G. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of a bacterial endophyte, *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754, isolated from *Combretum erythrophyllum* seeds. *International journal of microbiology*, 2020.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Prasanth, D. S. N. B. K., Rao, A. S., & Yejella, R. P. PHYTOCHEMICAL, IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *ARGYREIA PILOSA* WIGHT & ARN.(WHOLE PLANT).

Quezel P et Santa S., 1963 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris.

Reynaert, N. L., Aesif, S. W., McGovern, T., Brown, A., Wouters, E. F., Irvin, C. G., & Janssen-Heininger, Y. M. (2007). Catalase overexpression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The Journal of Immunology*, 178(6), 3814-3821.

SADGROVE, N., & JONES, G. (2015). A contemporary introduction to essential oils: Chemistry, bioactivity and prospects for Australian agriculture. *Agriculture*, 5(1), 48-102.

Salido, S., Valenzuela, L. R., Altarejos, J., Nogueras, M., Sánchez, A., & Cano, E. (2004). Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical systematics and ecology*, 32(3), 265-277.

Sharafati Chaleshtori, F., Saholi, M., & Sharafati Chaleshtori, R. (2018). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of *Bunium persicum*, *Eucalyptus globulus*, and Rose Water on multidrug-resistant *Listeria* species. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23, 2515690X17751314.

Sherer, T. B., Betarbet, R., & Greenamyre, J. T. (2002). Environment, mitochondria, and Parkinson's disease. *The Neuroscientist*, 8(3), 192-197.

Sieniawska, E. (2015). Activities of tannins—From in vitro studies to clinical trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001118.

Sifouane, S. (2021). *Etude phytochimique de deux plantes Atractylis humilis et Carduncellus pinnatus (Asteraceae)* (Doctoral dissertation, UB1).

Siracusa, L., Saija, A., Cristani, M., Cimino, F., D'Arrigo, M., Trombetta, D., ... & Ruberto, G. (2011). Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves—Chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia*, 82(4), 546-556.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologies*, 327(7), 649-662.

Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Shi, J., & Kakuda, Y. (2006). Effects of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 348-353.

Sunil H. G., Shweta P. D. & Patil S. U., 2012 : Preliminary Phytochemicals Investigation and TLC Analysis of *Ficus racemosa* Leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.

Tang, S. Y., & Halliwell, B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: what do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies?. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(1), 1-5.

Tariq, M., Mossa, J. S., Al-Yahya, M. A., Parmar, N. S., & Ageel, A. M. (1987). Evaluation of *Artemisia inculta* for anti-inflammatory activity in rats. *The American Journal of Chinese Medicine*, 15(03n04), 127-132.

Tilaoui, M., Ait Mouse, H., Jaafari, A., & Zyad, A. (2015). Comparative phytochemical analysis of essential oils from different biological parts of *Artemisia herbaalba* and their cytotoxic effect on cancer cells. *PloS one*, 10(7), e0131799.

Vijayalakshmi, M., & Ruckmani, K. (2016). Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(3), 570-572.

Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 200-206.

Younsi, F., Trimech, R., Boulila, A., Ezzine, O., Dhahri, S., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016). Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *International journal of food properties*, 19(7), 1425-1438.

19-22 MAY, 2022

**Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts and Essential Oil of
Artemisia herba-alba From The Region of M'sila (North-East of Algeria)****Khadija DEHIMI^{1,2}, Afaf HADJI¹, Djamila CHIKOUCHE HAMINA¹, Belkis Fatima
BENCHETTOUH¹**¹*Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of M'sila,
Algeria.*²*Laboratory of Phytotherapy applied to chronic diseases, University of Setif 1, Algeria.*khadija.dehimi@univ-msila.dz**ABSTRACT**

Artemisia herba-alba is a medicinal plant belonging to the *Asteraceae* family, known as desert wormwood and in Arabic as « Chih ». In Algeria, this species is very common in steppes. In traditional medicine it is used as antispasmodic, hypoglycemic, antidiabetic and to treat hypertension. Extracts and essential oil from this plant are known for their antimicrobial, antioxidant, insecticidal, and antispasmodic activities. In the present study, antioxidant and antimicrobial activities of extracts (hexane, acetone, methanol and aqueous fractions) and essential oil from *A. herba-alba* are evaluated. Aqueous extract was the most rich in polyphenols (85.2 µg GAE/mg E), acetone fraction the richest in flavonoids (83.89 µg QE/mg E) and methanol extract contained the highest amount of tannins (226.83 µg TAE/mg E). In the FRAP assay, acetone fraction showed the best capacity to reduce iron with a maximal absorbance value of $A = 1.90$ at a concentration of 2 mg/ml. The highest percentage inhibition in the β -carotene / linoleic acid test was obtained by methanolic extract (87.54 % after 24h of incubation). In antimicrobial activity assays, the plant extracts showed a good potency against *S. aureus* and *E. coli*. Besides these two bacterial strains, essential oil from the studied species exhibited a high activity against *P. aeruginosa*.

Key words: *Artemisia herba-alba*, polyphenols, essential oil, antioxidant, antibacterial.

REFERENCES

- Mohamed, A. E. H. H., El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1).
- Amor, G., Caputo, L., La Stora, A., De Feo, V., Mauriello, G., & Fechtali, T. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* and *Origanum majorana* essential oils from Morocco. *Molecules*, 24(22), 4021.

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

This certificate is proudly presented to

Khadidja DEHIMI

We would like to thank you for your valuable contributions
as a participant with the online oral presentation entitled

*Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts and Essential Oil of Artemisia herba-alba From
The Region of M'sila (North-East of Algeria).*

at the 5. International Conference on Life and Engineering Sciences
with the sponsorship of Anand International College of Engineering,
Antalya-TURKEY, May 19-22, 2022.



Assoc. Prof. Dr. Gökhan ÖMEROĞLU
Co-chair of ICOLES 2022

22.05.2022

