

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**

**UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA 1**

**Faculté des sciences**

**Département de chimie**



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Domaine : **SCIENCES DE LA MATIERE**

Filière : **CHIMIE**

Spécialité : **CHIMIE DES PRODUITS NATURELS**

Intitulé :

Etude phytochimique, biologique et l'évaluation de l'huile  
essentielle des extraits d'*Artemisia Herba-alba* algérienne

**Présenté et soutenu par**

**Meraga Meriem & Chabou Rayane**

**Membres du jury**

<b>Présidente</b>	<b>Dr HAMICHE SONIA MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>Dr ESSEID CHAHRAZED MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>
<b>Promotrice</b>	<b>Dr BOUKAABACHE RABIA MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>

Année universitaire : **2022/2023**

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

## **Remerciement**

*Avant toute chose, je remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la capacité, la patience et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.*

الحمد لله الذي أعاننا على إنهاء هذا العمل و سخر القوة لإتمامه فكل توفيق منه وحده

\*\*\*

*Nous remercions notre encadreur **Dr R. Boukaabache** pour avoir encadrée et dirigée ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordée et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury **Dr HAMICHE** chef présidente et **Dr ESSEID** l'examinatrice d'avoir répondu présent à l'évaluation de ce modeste travail de fin d'étude.*

*Nous tenons à remercier nos familles pour leurs grands soutiens et leurs encouragements.*

*Nos remerciements également **Mr T.MOUSSI** de la Faculté du génie de procédés, Département de science et technologie, pour l'aide et les conseils.*

*Nos remerciements s'adressent à **Mm R.LAROUCI** pour sa motivation et nous avons appris beaucoup de son expérience.*

*Nous voudrions à remercier vivement **Mr DJ.TEFAHI**, chef service au sein de laboratoire d'hygiène et des analyses d'eau d'hôpital Ferroudja pour leur accueil chaleureux afin de réaliser la partie expérimentale de ce travail ainsi nous remercions **Mm S.AKABI** pour le temps qu'elle a accordé à l'évaluation de ce modeste travail.*

*Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, on les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.*

*Finalement, nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidées et soutenues de près ou de loin dans la réalisation de ce projet.*

# *Dédicace*

الحمد لله على كل حال حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail à*

*:*

*Mon père Mohamed, l'homme génial de toute ma vie  
qui m'a donné la force et le courage.*

*Ma mère Hassiba, la lumière qui m'a appris la foi et  
le bonheur,*

*Mes belles sœurs Amina & Leïla, ma petite sœur et  
mon œil Soundous.*

*Mon unique cher frère Noureddine.*

*Ma grande mère, qui dieu lui fasse miséricorde, elle  
m'est soutenue par des prières, et ça m'a toujours  
rendu meilleure*

*Ma chère amie Nadjet,.....*

*Ma cousine préférée Ikram, et toutes mes amies :  
Youssra, Rayane, Rania, Fella, Badiaa,.....*

*Mes collègues que j'ai l'honneur de les connaître.*

*Meriem...*

## *Dédicace*

*Tout d'abord, j'aimerais remercier mes magnifiques parents HOUCINE et FATIMA EL ZAHRAA, je remercie Dieu tous les jours pour que tu sois mes parents.*

*Deuxièmement, je remercierais ma grande famille pour tout l'amour et tout le soutien.*

*Je remercie également mes collègues étonnants pour nos merveilleux souvenirs ensemble, ils resteront toujours avec moi pour le reste de ma vie.*

*Et enfin je remercie MERIEM mon binôme incroyable pour être si patient avec la personne lente que je suis, merci beaucoup du fond de mon cœur.*

*Rayane .....*

## Résumé

La plante *Artémise herba alba* Asso « Chih » est parmi les onze espèces d'*Artemisia* spontanées enregistrées en Algérie. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, une plante aromatique *Artémise herba alba* provenant de la région de Djelfa fait l'objet d'une étude phytochimique de leurs extraits, et de son huile essentielle avec une évaluation de leur potentiel antioxydant, et l'activité antimicrobienne. L'extraction des polyphénols des trois extraits : (CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, MeOH) sur l'espèce étudiée a montré que le rendement le plus élevé a été obtenu par l'extrait Chlorométhanolique, et l'extraction d'huile a été réalisée par hydrodistillation, la plante testée donne un rendement en huile essentielle de 0.86 %. Cette étude a porté sur un criblage phytochimique des parties aériennes d'*Artemisia herba alba* Asso, où la présence de plusieurs groupements chimiques a été révélée des flavonoïdes, des tanins, des quinones, des anthraquinones, des saponines, des terpènes, des triterpènes et des stérols. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les trois extraits analysés, montre qu'ils sont riches en métabolites. Nous remarquons que l'extrait Chlorométhanolique présente la teneur la plus élevée dont la valeur de 44 µg EAG/mg PS, et pour les flavonoïdes avec une teneur de 13.08 µg EQ/mg PS. Les trois extraits et l'HE ont été criblés in vitro pour les activités antioxydants par la méthode au DPPH, antibactériennes, et antifongiques en utilisant des méthodes de dilution et de diffusion sur disque. L'huile essentielle d'*A.herba alba* a la capacité antioxydante la plus élevée après les extraits plus polaires de Chlorométhanolique, avec l'extrait méthanolique très proche, tandis que l'activité des extraits chloroformiques est trop faible. Les extraits ont montré une bonne activité antifongique pour le méthanol, et une bonne activité antimicrobienne pour l'extrait chloroformique, alors que l'extrait Chlorométhanolique a une activité antimicrobienne moyenne. Dans le cas de notre HE, on observe une excellente activité antimicrobienne et antifongique.

**Les mots clés :** *Artemisia herba alba*, plante médicinale, DPPH, huile essentiel, activité antibactérienne.

## Abstract

The plant *Artemisia herba alba* Asso “Chih” is one of the eleven species of spontaneous *Artemisia* recorded in Algeria, and as part of a project to exploit these resources, an aromatic plant *Artemisia herba alba* from the Djelfa region was the subject of a phytochemical study of its extracts and essential oil, with an assessment of their antioxidant potential and antimicrobienne activity. The extraction of polyphenols from the three extracts (CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, and MeOH) on the species studied showed that the highest yield was obtained by the chloromethanolic extract, and the oil extraction was carried out by hydrodistillation, the plant tested giving an essential oil yield of 0.86%. This study involved chemical screening of the aerial parts of *Artemisia herba alba* Asso, where the presence of several chemical groups was revealed: flavonoids, tannins, quinones, anthraquinones, saponins, terpenes, triterpenes and sterols. Quantitative estimation of total polyphenols and flavonoids in the three extracts analyzed shows that they are rich in metabolites, with the chloromethanolic extract showing the highest content at 44 µg EAG/mg PS, and flavonoids at 13.08 µg EQ/mg PS. The three extracts and the essential oil were screened in vitro for antioxidant activity using the DPPH method, and for antibacterial and antifungal activity using dilution and disk diffusion methods. *A. herba alba* essential oil has the highest antioxidant capacity after the more polar chloromethanolic extracts, with the methanolic extract very close behind, while the activity of the chloroformic extracts is too low. The extracts showed good antifungal activity for methanol and good antimicrobial activity for chloroformic, while the chloromethanolic extract had average antimicrobial activity. In the case of our essential oil, we observe excellent antimicrobial and antifungal activity.

**Key words:** *Artemisia herba alba*, medicinal plant, DPPH, essential oil, antibacterial activity.

## ملخص

يعتبر نبات (*Artemisia herba alba* Asso ("Chih")) من بين أحد عشر نوعًا من *Artemisia* العفوية المسجلة في الجزائر. وكجزء من تطوير هذه الموارد، فإن نبات *Artemisia herba alba* العطري من منطقة الجلفة هو موضوع الدراسة. المستخلصات وزيتها الأساسي مع تقييم إمكاناتها المضادة للأكسدة ونشاط المضادات الحيوية. أظهر استخراج البولي فينول من المستخلصات الثلاثة ( $\text{MeOH}$ ،  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{MeOH}$ ،  $\text{CHCl}_3$ ) على الأنواع المدروسة أن أعلى إنتاجية تم الحصول عليها من مستخلص الكلور ميثانول ، وتم استخلاص الزيت عن طريق التقطير المائي ، حيث أعطت النبتة المختبرة محصول زيت عطري 0.86% ، وركزت هذه الدراسة على الفرز الكيميائي للأجزاء الهوائية من *Artemise herba alba* Asso حيث تم الكشف عن وجود عدة مجموعات كيميائية: مركبات الفلافونويد ، التانينات ، كينونات ، أنثراكينون ، صابونين ، تربين ، ترايتيربينوستيروول. يُظهر التقدير الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد الكلي في المستخلصات الثلاثة التي تم تحليلها أنها غنية بالمستقبلات ، الفلافونويد بمحتوى 13.08 ميكروغرام EQ / mg PS. تم فحص المستخلصات الثلاثة والزيوت العطرية في المختبر بحثًا عن الأنشطة المضادة للأكسدة بطريقة DPPH والأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات باستخدام طرق التخفيف والانتشار القرصي. يمتلك زيت عطري *Artemise herba alba* Asso قدرة مضادة للأكسدة بعد مستخلصات الكلور ميثانول القطبية ، مع خلاصة الميثانول قريبة جدًا ، في حين أن نشاط مستخلصات الكلوروفورميك منخفض جدًا. أظهرت المستخلصات نشاط مضاد للفطريات جيد للميثانول ونشاط مضاد للميكروبات للكلوروفورم ، في حين أن مستخلص الكلوروميثانول له نشاط مضاد للميكروبات متوسط. في حالة الزيت العطري لدينا ، لوحظ نشاط ممتاز مضاد للميكروبات ومضاد للفطريات.

**الكلمات المفتاحية:** *Artemisia herba alba*، نبات طبي، DPPH ، زيت عطري، نشاط مضاد للجراثيم.



## ABREVIATIONS

**A :** *Artemisia*.

**DIF:** Détecteur à ionisation de flamme.

**DPPH:** (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

**E.CHCl<sub>3</sub>:** Extrait de chloroforme.

**E.CHCl<sub>3</sub>/MeOH:** Extrait de chlorométhanol.

**E.MeOH:** Extrait de méthanol.

**HE:** Huile essentielle.

**IC<sub>50</sub>:** Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres.

**UV:** Spectroscopie ultraviolet.

**MH:** Mueller Hinton.

**GDS :** Gélose de dextrose de Sabouraud

## LISTE DES FIGURES

<b>FIGURE I.1.</b> La plante <i>A. herba alba</i> .....	3
<b>FIGURE I.2.</b> Morphologie generale d' <i>A. herba alba</i> .....	4
<b>FIGURE I.3.</b> Fleur d' <i>A. herba alba</i> .....	4
<b>FIGURE I.4.</b> Aire de distribution d' <i>A. herba alba</i> en Algérie.....	5
<b>FIGURE I.5.</b> Schema de l'appareil d'hydro distillation.....	8
<b>FIGURE I.6.</b> Schéma se l'appareil d'entrainement a la vapeur d'eau .....	9
<b>FIGURE II.1.</b> Diagramme général de la procedure experimentale .....	17
<b>FIGURE II.2.</b> Séchage et broyage de la plante d' <i>A. herba alba</i> .....	18
<b>FIGURE II.3.</b> Hydrodistillation classique d' <i>A. herb alba</i> .....	19
<b>FIGURE II.4.</b> Protocol d'extraction d' <i>A. herba alba</i> par macération à froid .....	20
<b>FIGURE II.5.</b> Protocol d'extraction d' <i>A. herba alba</i> .....	21
<b>FIGURE II.6.</b> Les extraits d' <i>A. herba alba</i> .....	21
<b>FIGURE II.7 .</b> Le protocole de dosage des polyphénols .....	26
<b>FIGURE II.8.</b> Le protocole de dosage des flavonoïdes. ....	27
<b>FIGURE II.9.</b> Structure chimique du radical DPPH. ....	28
<b>FIGURE II.10.</b> La réaction de radicale DPPH .....	28
<b>FIGURE II.11.</b> Protocole d'étude de l'activite anti radicalaire par la methode de DPPH.....	28
<b>FIGURE II.12.</b> Les milieux et les temoins de cultures de l'activite antibiotique.....	30
<b>FIGURE III.1.</b> L'HE D' <i>A. herba alba</i> extraite.....	35
<b>FIGURE III.2.</b> Histogramme schematique des resultats obtenus pour l'extraction.....	36
<b>FIGURE III.3.</b> Résultats du screening phytochimie de l' <i>A. herba alba</i> .....	38
<b>FIGURE III.4.</b> Representation de la gamme d'AC gallique et la courbe d'etalonnage.....	39
<b>FIGURE III.5.</b> Les histogrammes de la quantite des polyphenols dans les extraits.....	40
<b>FIGURE III.6.</b> Courbe d'etalonnage de quercitine et dosage des flavonoïdes totaux .....	41
<b>FIGURE III.7.</b> Histogramme represente les resultats du dosage des flavonoïdes .....	42
<b>FIGURE III.8.</b> Activite anti radicalaire DPPH .....	42
<b>FIGURE III.9.</b> Representation de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH par standard teste en fonction de la concentration et les courbes du pouvoir reducteur de differents extraits et l'HE d'autre coté.....	43

## LISTE DES TABLEUX

<b>Tableau I.1.</b> Classification botanique d' <i>A. herba alba</i> asso.....	5
<b>Tableau III.1.</b> Rendement d'extraction d'HE .....	35
<b>Tableau III.2.</b> Rendement d'extraction des extraits.....	36
<b>Tableau III.3.</b> Résultats de criblage phytochimique d' <i>A. herba alba</i> .....	37
<b>Tableau III.4.</b> Taux des polyphenols dans les extraits de notre plante .....	39
<b>Tableau III.5.</b> Taux des flavonoïdes dans les différents extraits .....	41
<b>Tableau III.6.</b> Les valeurs d' $ic_{50}$ des extraits et l'he d' <i>A. herba alba</i> .....	44
<b>Tableau III.7.</b> Résultats de l'antibiogramme des extraits d' <i>A. herba-alba</i> .....	44
<b>Tableau III.8.</b> Résultats de l'antibiogramme d'HE d' <i>A. herba-alba</i> .....	45
<b>Tableau III.9.</b> Résultats de l'activité antifongique.....	46
<b>Tableau III.10.</b> Résultats de l'activité antibactérienne .....	47

## TABLE DES MATIERES

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURE	
LISTE DES TABLEAUX	
TABLEAUX DES MATIERES	
INTRODUCTION.....	1
<b>CHAPITRE I GENERALITES</b>	
I. Généralité sur l' <i>A.herba alba</i> .....	3
I.1. Description botanique.....	3
I.1.1. Classification dans la systematique botanique.....	5
I.1.2. Répartition géographique .....	5
I.1.3. Présentation et systematique de L'espèce <i>A. herba alba</i> .....	6
I.1.4. Présentation de la famille des asteraceae.....	6
I.1.5. Noms vernaculaires .....	6
I.1.6. Domaines d'utilisation .....	7
I.2. Les huiles essentielles.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Répartition et localisation des HE.....	7
I.2.3. Composition chimiques des HE.....	8
I.2.4. Techniques d'extraction des HE.....	8
I.2.5. Conservation des HE.....	9
I.2.6. Caracterisation physico-chimique des HE.....	9
I.3. L'activité biologique.....	10
I.3.1. Activité antioxydante.....	10
I.3.2. Antimicrobienne des composes phenoliques .....	10
I.3.3. Activités antibiotiques .....	10
I.4. Action antimicrobienne des HE.....	10
I.4.1. L'activité antibacterienne des HE.....	10

I.4.2. L'activité antifongique des HE.....	11
I.5. Travaux antérieurs d' <i>A. herba alba</i> .....	11
I.5.1. Composés polyphénoliques.....	11
I.5.2. La composition chimique de l'huile d' <i>A. herba alba</i> .....	11
I.5.3. L'activité antioxydante.....	11
I.5.4. L'activité antibactérienne .....	12
I.5.5. L'activité antifongique .....	12
Références bibliographiques .....	13

## CHAPITRE II MATÉRIELS ET MÉTHODES

II. Procédure expérimentale.....	17
II.1. Échantillonnage.....	17
- Récolte de <i>A. herba alba</i> .....	17
- Préparation de la matière végétale .....	17
II.1.1. Extraction des HE .....	19
- Méthode d'extraction (HYDRODISTILLATION).....	18
- Détermination du rendement d'extraction... ..	19
II.1.2. Extraction des polyphénols.....	19
- Méthode d'extraction (Macération à froid).....	22
II.1.3. Intérêts des solvants utilisés .....	22
II.2. Screening phytochimique .....	22
II.2.1. Préparation des extraits.....	22
II.2.2. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	22
II.3. Quantification des composés phénoliques.....	22
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	26
II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	27
II.4. Étude des activités biologiques .....	29
II.4.1. Étude de l'activité antioxydante.....	29
- Étude de l'activité anti radicalaire par DPPH .....	22
II.4.2. Étude de l'activité antimicrobienne.....	22
Références bibliographiques .....	32

## CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III. Étude phytochimique .....	35
III.1. Détermination du rendement d'extraction.....	35
III.1.1. Le rendement de l'HE d' <i>A. herba alba</i> (HYDRODISTILLATION).....	35
III.1.2. Le rendement de l'extraction des polyphénols.....	36
III.2. Screening phytochimique.....	36

<b>III.3. Résultats de l'étude quantitative .....</b>	<b>38</b>
<b>III.3.1. Dosage des polyphenols totaux .....</b>	<b>38</b>
<b>III.3.2. Dosage des flavonoïdes .....</b>	<b>40</b>
<b>III.4. Activités biologiques.....</b>	<b>42</b>
<b>III.4.1. Activité antioxydante.....</b>	<b>42</b>
<b>III.4.2. L'activité antimicrobienne .....</b>	<b>44</b>
<b>III.4.2.1. L'activité antibacterienne et antifongique.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSION ET PRESCRIPTIVES.....</b>	<b>50</b>

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

**D**E puis des milliers d'années, l'homme s'intéresse aussi bien aux plantes aromatiques qu'aux plantes médicinales présentes dans l'environnement, et elles sont utilisées dans divers domaines comme la médecine, la pharmacie, la cosmétique (parfums, savons, etc.), et l'agriculture.

En Algérie, le potentiel végétatif est important, en fonction de la diversité du climat et des propriétés du sol. L'Algérie représente un véritable réservoir de recherche évolutive et scientifique pour sa richesse et sa diversité florale, avec 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires [1].

La plus part de ses plantes sont inconnues à ce jour, seules 146 espèces sont considérées comme des plantes médicinales [2]. Parmi les plantes aromatiques et médicinales qui possèdent des vertus curatives intéressantes et occupent une place prépondérante dans le pays, nous donnons les noms suivants: le romarin (*Rosmarinus officinalis L*), la lavande (*Lavandula spica*), l'origan commun (*Origanum vulgare*), la graine d'anis vert (*Pimpinelle anisum*) et (*Artemisia herba-alba*).

L'*Artemisia herba-alba* est largement distribuée, notamment dans les régions semi-arides, et l'utilisation de ces ressources végétales naturelles est principalement due à l'extraction d'huiles essentielles dans les prairies algériennes et au Sahara.

Ces plantes sont largement utilisées pour de nombreuses conditions médicales telles que l'aménorrhée, les syndromes neurologiques, les maladies du foie, les maladies de l'estomac et certains empoisonnements [3].

Ce travail s'inscrit dans le cadre large de la recherche de nouvelles substances et extraits naturels du règne végétal, et de la recherche sur les activités biologiques, les antioxydants et antimicrobiennes, dans cette optique, notre étude a été divisé en trois parties:

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui résume les principaux contenus caractéristiques des espèces sélectionnées de la famille Asteraceae avec une présentation systématique de l'espèce *Artemisia herba-alba*, ses effets thérapeutiques et ses principes actifs et enfin l'étude des travaux antérieurs réalisés sur l'*Artémise herba-alba*.
- Le deuxième chapitre du travail est pour but de faire : Un criblage phytochimique, dosage des polyphénols et des flavonoïdes, et une évaluation de ses activités biologiques et extraction des huiles essentielles.
- Dans la troisième chapitre, nous discutons les résultats obtenus dans cette étude. Notre travail est complété par une conclusion et des perspectives.



## **Références bibliographiques**

[1] Dobignard A et Chatelain C 2010-2013 index Synonymique de la flore d'Afrique du nord, V : 4, Genève, C.J.B.G.

[2] Baba Aissa F 1999 en cyclopédie des Plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Des substances végétales D'Afrique, d'orient et d'occident, Ed. Edas , 178.

[3] Valn 1984 a Resetting of phanerozonic Community Evolution, 307: 50-52.

# **CHAPITRE I GÉNÉRALITÉS**

## I. Généralités sur L'A. *Herba alba*

### I.1. Description botanique

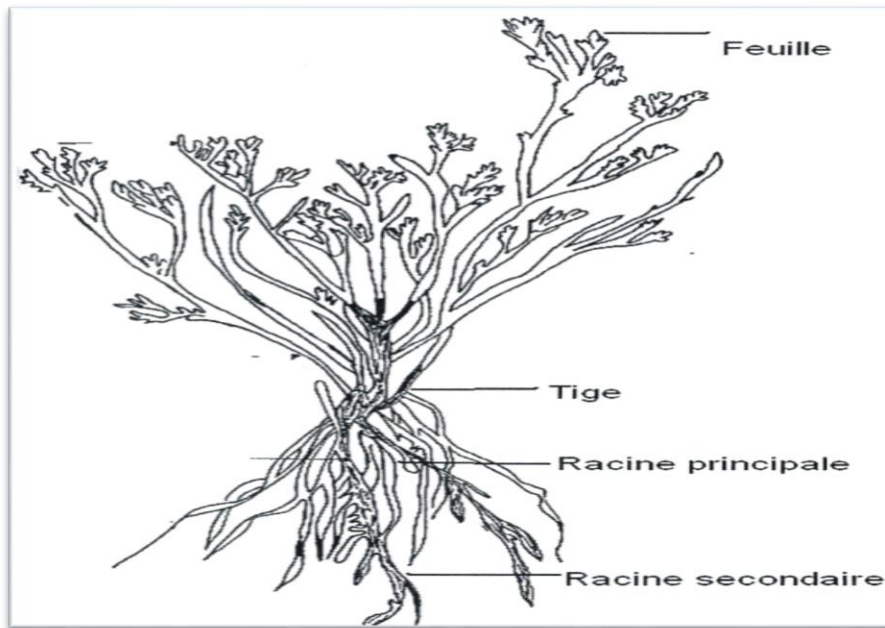
*A. herba alba* a une racine principale épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme une racine pivotante. Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes de 2 à 5 cm de profondeur, liant cette forme racinaire à l'existence d'une croûte calcaire superficielle. Lorsque l'armoise pousse dans des régions plus humides, ses racines poussent jusqu'à 40 à 50 cm de profondeur et ne se ramifient qu'à cette profondeur. La biomasse racinaire diminue très rapidement avec la profondeur et très peu de racines ont été trouvées à partir de 50 cm. Cette description concerne la partie implicite [1].



**Figure I.1.** La plante *A. herba alba* [2, 3]

Et pour la partie aérienne, elle est présentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs.

- **La tige :** *Artémise* présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, très ramifiée qui se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines, chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm.
- **Les feuilles et les rameaux :** les feuilles sont courtes, blanches, laineuses, argentées et pinnatipartites, elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse.



**Figure I.2.** Morphologie générale d'*A. Herba alba* [2,3]

- **La fleur :** La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fleur est formée d'inflorescences en capitules. Ces derniers sont très petits, étroits (1 à 1.5 mm) ovoïdes à involucre scarieux ne contenant que 3 à 8 fleurs, toutes hermaphrodites. Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support.



**Figure 1.3.** Fleur d'*A. Herba alba* [2,3]

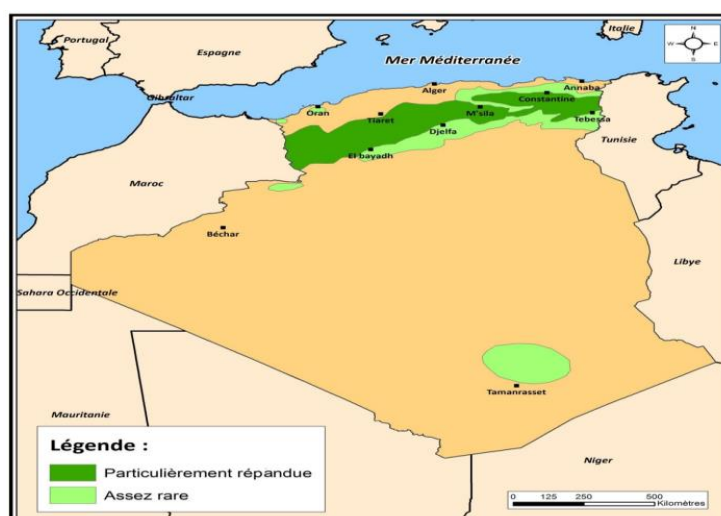
### I.1.1. Classification dans la systématique botanique

*A. Herba-alba* est classée par Quezel et Santa selon le tableau (I.1) [4].

**Tableau I.1.** Classification botanique d'*A. Herba alba* Asso

Règne	<b>Végétale</b>
Embranchement	<b>Phanérogame</b>
Sous-embranchement	<b>Angiosperme</b>
Classe	<b>Dicotylédone gamopétale</b>
Sous-classe	<b>Gamopétale Epigyne Isotémone</b>
Ordre	<b>Astérale</b>
Famille	<b>Asteraceae</b>
Sous-famille	<b>Tubiliflore</b>
Tribu	<b>Anthémidée</b>
Genre	<b><i>Artemisia</i></b>
Espèce	<b><i>Artemisia herba Alba</i> Asso(Chih)[5]</b>

### I.1.2. Répartition géographique



**Figure I.4.** Aire de distribution d'*A. Herba alba* en Algérie [4, 8,9]

En Afrique du Nord, d'A. *herba-alba* couvre plus de 10 millions d'hectares et l'espèce est absente des régions côtières du nord. Dans l'extrême sud, cependant l'espèce se raréfie [6] A. *herba-alba*, également connue sous le nom de 'Chih' ou 'Semen-contrà 'de Barbarie, occupe environ 6 millions d'hectares de prairies algériennes et se présente sous la forme d'arbustes laineux blancs dispersés [7].

### **I.1.3. Présentation et systématique de l'espèce A. *herba alba***

Le genre *Artemisia* comprend environ 400 espèces réparties sur les cinq continents. Il existe 10 espèces en Algérie, certaines rares et d'autres très répandues [1,4] A. *herba-alba* ou absinthe blanche, appelée 'Chih 'en arabe, est une plante de la famille des Astéracées qui pousse généralement en petites touffes. C'est une plante aux multiples usages. Elle se caractérise par une abondance d'huiles essentielles de composition variable, ce qui a conduit à la définition de plusieurs chémotypes. Sa haute valeur alimentaire et son rôle écologique très important contre l'érosion et la désertification [10].

### **I.1.4. Présentation de la famille des Asteraceae**

La famille des Astéracées représente environ 23500 espèces réparties en environ 1600 genres, ce qui en fait la 2<sup>ème</sup> famille au monde de la flore et des plantes à fleurs, après les Orchidaceae (25000 espèces). Cette famille pousse principalement dans les zones tempérées. Les arbres secs sont hors de concurrence avec les forêts tropicales humides. Ce sont principalement des plantes herbacées, bien que la famille comprenne également des arbres, des arbustes ou des lianes.

### **I.1.5. Noms vernaculaires**

Les noms vernaculaires en dialectes berbères et arabes n'ont pas toujours donné lieu à une identification précise des différentes espèces d'armoise dans la littérature [11]. Nous mentionnons ci-dessous:

- ♦ **Le nom scientifique:** *Artemisia herba-alba* Asso
- ♦ **Le nom en français:** Armoise herbe blanche ou l'Armoise blanche, Absinthe du désert
- ♦ **Le nom en anglais :** Desert worm wood, Sagebrush
- ♦ **Le nom en arabe:** شبيح [12 ,13]
- ♦ **Le nom en Algérie:** Chih à l'Est et Nord algérien [14], Izri en Mozabite.

### **I.1.6. Domaines d'utilisation**

#### **✓ Utilisation traditionnelle**

- Cette plante est utilisée pour ses propriétés purgatives, fébrifuges (médicament qui permet de lutter contre la fièvre), vermifuges et antidiabétiques.
- Le décocté des parties aériennes est efficace pour les ballonnements intestinaux et les aérocolies (augmentation du volume du côlon).
- Il est important de la diluer dans une huile végétale pour éviter toute éventuelle irritation de la peau.
- La posologie à respecter est de 30 % d'HE d'*A. Herba alba* et 70 % d'huile végétale.

#### **✓ Utilisation alimentaire**

En alimentation, l'*A. Herba alba* est l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café est pris en compte [15]. Cependant, son utilisation dans l'industrie alimentaire est limitée par la toxicité de la bêta-thuyone, qui ne doit pas dépasser 5 mg/kg [1,4].

#### **✓ Utilisation phyto-thérapeutique**

En pharmacopée traditionnelle, l'armoise blanche était reconnue depuis longtemps par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins [1,4]. On rapporte que l'infusion de l'*A. Herba alba* est assez employée par les bédouins du Néguev (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux [1,4]. En Irak, elle est préparée avec le thé et constitue l'une des formes d'automédication contre le diabète non insu lino-dépendant [1,4].

## **I.2. Les huiles essentielles**

### **I.2.1. Définition**

Les HE, ou essences végétales, sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques volatils (odorants) des plantes. Elles sont obtenues par extraction mécanique, distillation à la vapeur ou distillation sèche et elles sont généralement séparées de la phase aqueuse par un procédé physique [16]. On les appelle couramment : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles [17].

### **I.2.2. Répartition et localisation des HE**

Les huiles essentielles existent presque exclusivement dans les plantes supérieures. Les genres capables de construire les composants qui les composent ont répartis dans un cinquantaine familles de plantes dont Lamiacées, Astéracées, Rutacées, Cannelacées, Lauracées, Myrtacées et Zingibéracées. Les HE peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal),

racines (vetiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade)[18].

### I.2.3. Composition chimiques des HE

Les HE sont des mélanges de substance aromatique qui sont présentées à l'état naturel, en faible quantité dans le végétal [19]. Elles se constituent principalement des composés volatils d'origine terpénoïde ou non terpénoïde. Les composés terpénoïde: monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30). Ce sont les molécules les plus fréquemment rencontrées dans les HE et les non terpènes (phénylpropanoïde) sont également très fréquentes [20].

### I.2.4. Techniques d'extraction des HE

De nombreuses techniques sont utilisées pour l'extraction des substances aromatiques particulièrement difficiles, et les plus délicates, cette opération a pour but de capter les produits élaborés et éviter d'en altérer la qualité. En général, le choix de la méthode d'extraction des HE dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées [21]. Parmi ces méthodes :

#### a) L'hydro distillation :

Le principe de l'hydro distillation consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. L'HE étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [22].

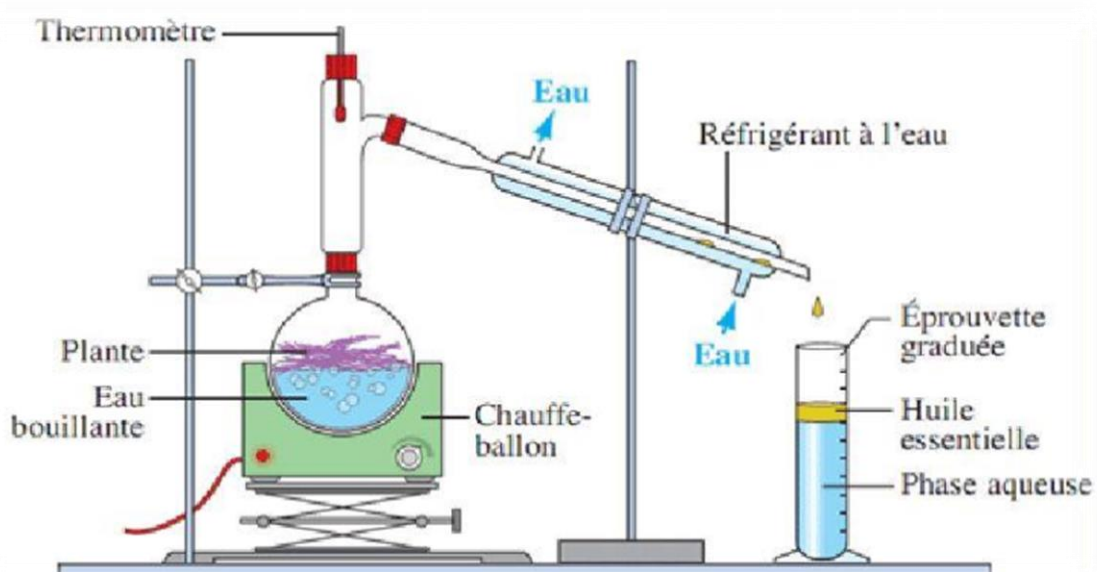


Figure I .5. Schéma de l'appareil d'hydro distillation [23]



## b) Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :

La distillation à la vapeur est l'une des méthodes officielles d'obtention des HE à partir de plantes aromatiques. Contrairement à la distillation de l'eau, cette technique n'expose pas l'eau et le matériel végétal traité à un contact direct [24]. Le matériel végétal est placé sur un grillage perforé pour laisser passer la vapeur d'eau. La vapeur d'eau traverse la matière végétale et libère ainsi les molécules. Les substances volatiles sont ensuite aspirées dans le refroidisseur. Cette méthode permet d'améliorer la qualité de l'HE en minimisant le changement hydrolytique [22].

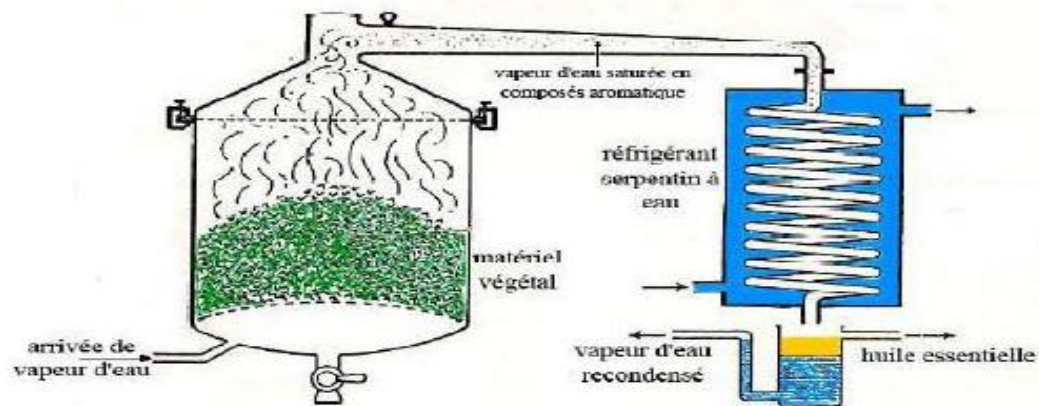


Figure I.6. Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau [25]

## c) La percolation ou l'hydro-diffusion

Cette méthode présente, pour certaines plantes (les conifères par exemple ou encore la cannelle), l'avantage d'être plus rapide et, par conséquent, moins susceptible de transformer la qualité des HE recueillies. Les substances obtenues sont chargées en composants non volatils, on parle alors dans ce cas d'essence de percolation et non des HE.

### I.2.5. Conservation des HE

Les HE sont des substances très délicates et facilement dégradées, rendant leur conservation difficile. Le risque de dégradation abonde: photo isomérisation, photo cycle, dissociation oxydative du propénylphénol, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène). Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés s'elles ne sont pas stockées dans des flacons en aluminium, en inox ou en verre coloré, propres et secs, à l'abri de la lumière et de la chaleur [26].

### I.2.6. Caractères physico-chimiques des HE

Les huiles essentielles sont :

- Liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes.
- Liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, Elles sont entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau [27].

- Constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) [27].

### **I.3. Activité biologiques des composés phénoliques**

Les composés phénoliques font actuellement l'objet de nombreuses études pour leurs différentes activités biologiques [28] et elles ont été rapportées pour des propriétés pharmacologiques intéressantes et diverses, à savoir anti-inflammatoires, anticancéreuses, anti-athérosclérotiques [29], propriétés antiallergiques [30], antioxydants [31], antivirale [32], antifongique [33] et antibactérienne [34].

#### **I.3.1. Activité antioxydante**

En général, les antioxydants sont des agents qui empêchent ou ralentissent l'oxydation en neutralisant les radicaux libres dans l'organisme, et la respiration cellulaire produit des espèces réactives de l'oxygène. Cela peut être une source de radicaux libres en excès et causer des dommages cellulaires, en particulier à l'ADN. Les antioxydants, quant à eux, combattent le stress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire et ont des effets anti-âges. De nombreux médicaments à base de plantes contiennent de grandes quantités d'antioxydants, qui peuvent être isolés et utilisés comme antioxydants pour prévenir et traiter les maladies des radicaux libres [1,4].

#### **I.3.2. Activité antimicrobienne des composés phénoliques**

L'activité antimicrobienne peut être accomplie de diverses manières. Certaines molécules exercent leur activité en oxydant ou en dénaturant des protéines bactériennes [35], d'autres exercent des pouvoirs plus spécifiques en altérant la structure membranaire ou en inactivant des composés ou des fonctions cellulaires essentielles [36]. Outre l'influence du caractère hydrophobe de la molécule, l'activité antimicrobienne des composés phénoliques, notamment des flavonoïdes, est essentiellement dépendante de la longueur, de la ramification et de la localisation des chaînes de substitution associées au noyau phénolique, mais dépend également de la nature des substituent et le volume du noyau phénolique [37].

### **I.4. Activités biologique d'HE**

#### **I.4.1. Action antibactérienne des HE**

Selon Zhiri [38] plusieurs études ont été menées dans le but de déterminer les composants susceptibles d'être responsables de l'activité antibactérienne des HE. Les HE ont deux effets sur les microorganismes, similaires à ceux des agents chimiques : une activité mortelle (bactéricide) et une inhibition de la croissance (bactériostase). Les HE sont souvent associés à des activités bactériostatiques. Les huiles contenant des phénols (thymol, Carvacrol et eugénol), des monoterpénoles, des aldéhydes aromatiques et des aldéhydes terpéniques sont sensibles aux germes [39].

#### **I.4.2. L'activité antifongique des HE**

Le pouvoir antifongique des espèces végétales n'est pas limité à aucun champignon [39] ou famille botanique, mais plutôt à une synergie entre les différents composants des huiles. L'activité antifongique des espèces végétales n'est pas principalement due aux composés majoritaires. Selon Pinto et Saguero [40], il y a une activité antifongique significative chez certains HE qui pourrait entraîner des avantages thérapeutiques.

#### **I.5. Travaux antérieurs d'A. *Herba alba***

Les plantes de la famille des Astéracées, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimique et biologiques par intérêt économique surtout pour leurs HE.

##### **I.5.1. Composés polyphénoliques**

La plante est riche en composés polyphénoliques, qui sont des antioxydants, des flavonoïdes et des tanins de premier ordre. La famille des polyphénols comprend une variété de substances naturelles appelées flavonoïdes. Ils sont considérés comme des pigments quasi lents universels qui colorent souvent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles des végétaux. Les flavonoïdes les plus importants trouvés dans l'A. *Herba alba* sont la hispiduline et la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques tels que la quercitrine, l'isovitexine et le 3-rutinoside sont également mentionnés [41]. Dans une étude menée sur 49 espèces de plantes médicinales du Maroc [42] l'acide chlorogénique a été isolé de A. *herba alba*. Huit polyphénols et composants connexes ont été identifiés dans une autre enquête sur les principes actifs A. *herba alba* [43].

##### **I.5.2. La composition chimique de l'HE d'A. *herba alba* Asso**

L'huile d'A. *herba alba*, également connue sous le nom d'huile de Chiḥ, a été beaucoup étudiée au cours des dernières décennies. Une grande variété dans la composition de l'huile extraite de plantes poussant dans divers pays et même dans le même pays a été mise en évidence. L'huile extraite d'A. *herba alba* contient généralement des monoterpénoïdes principalement oxygénés, comme le 1,8-cinéole, le chrysanthène, le chrysanthénol (et son acétate), le camphre, le thuyone et le chrysanthène [44]. Des études sur la composition de l'HE d'A. *herba alba* en Algérie ont révélé que le camphre, le alpha/alpha-thujone, le 1,8-cinéole et les dérivés du chrysanthényl sont les principaux composants. Selon d'autres études, les principaux composants sont le camphène (3%), le bornéol (3.6%), l'éther davana (8.8%) et le davanone (36.1%). L'HE d'A. *Herba alba* sauvage cultivée à Msila-Algérie contient principalement le camphre (19.4%), le transpinocarveol (16.9%) et le chrysanthène (15.8%) [45].

##### **I.5.3. L'activité antioxydante**

La partie aérienne d'A. *herba alba* possède des activités antioxydants significatives. En effet

cette partie de la plante est riche en composés doués d'activité antioxydants tels que: les flavonoïdes, les poly phénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydants en inhibant la production de l'anion su peroxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes [46].

#### **I.5.4. L'activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne de quatre types d'HE d'extraites par hydro distillation de la partie aérienne d'*A. herba-alba* asso cultivée dans le Sud de la Tunisie a été testée sur des bactéries gram-positives et négatives. Les résultats montrent que toutes les huiles examinées ont une activité antimicrobienne significative contre les souches testées [47]. Six souches de bactéries ont été testées sur les HE de l'*A. herba alba* [48]. Les résultats ont montré que cette huile avait une activité variable contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition allant de 8 à 23 mm ; la souche la plus sensible était *Bacillus cereus*, mais elle n'a pas été totalement active contre *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **I.5.5. Activité antifongique**

Benjilali [49] ont examiné 26 HE, y compris l'huile essentielle de l'*A. herba-alba* asso (de trois régions), le thym, l'eucalyptus et le romarin, pour leur capacité antifongique. Sur les 37 souches de moisissures étudiées, l'HE du thym a été la plus active, suivie de l'armoise blanche, du romarin et de l'eucalyptus qui ont été les moins efficaces. L'HE d'*A. herba alba* Asso a été trouvée efficace en Algérie, avec une concentration minimale inhibitrice de 5,617 g/ml, inférieure de 9 fois à celle de l'antibiotique l'amphotéricine B (0,650 g/ml) [50].

## Références bibliographiques

- [1] Bezza L, Mannarino A, Fattarsi K, Mikail C, Abou L, Hadji-Minaglou F, And Kaloustian J 2010 Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*. 8 :277-281.
- [2] Ozenda P 1985 Flore du Sahara, 2ème éd CNRS, (France), 441.
- [3] Bouafia A 2022 Optimisation de biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de fer par l'utilisation de différents extraits des plantes et évaluation de leur activité biologique, doctorat LMD.
- [4] Quezel P And Santa S 1963 Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, C.N.R.S, Editor; Paris. France.
- [5] Ghrabi Ahmed 2008 *Environmental Toxicology and chemistry: an international journal*, 27:1084-1092.
- [6] Nabil M A 1989 Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ,186-188.
- [7] Boutekjen et 1987 Contribution à l'étude chimique d'*Artemisia herba alba*, projet de fin d'étude en génie chimique. Ecole nationale polytechnique Alger.
- [8] Aidoud A, Lahmer-Zemiti B 2016 Suivi à long-terme dans la steppe d'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba Asso.*) du Sud-Oranais (Algérie): facteurs et indicateurs de changements, *Revue d'écologie, Terre et vie*, 71 :168-177.
- [9] Bey-Ouled Si Said Z, Harkat-Madouri L, Boudria A, Khodir M, Rigou P 2015 *Industrial Crops and Products*, 78 :148-153.
- [10] Bouzidi 2016 Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche «*Artemisia herba alba asso* » Université Mustapha Stambouli de MASCARA.
- [11] Gast M 1989 « Armoise », *Encyclopédie berbère*, 6 : 905-908.
- [12] Dozy R 1967 *Supplément aux dictionnaires arabes*, Leyde, E. Brill, Paris, G.P. Maisonneuve et Larousse.
- [13] Gasseline 1886 *Dictionnaire français-arabe*, Paris, Leroux, 2 t.
- [14] Dallet J-M 1982 *Dictionnaire kabyle-français : parler des At Mangell et*, Algérie, Paris, SELAF (Maghreb-Sahara 1) ,1050.
- [15] Bendjilali B, Richard H, Liddle P 1984 chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phytochimie, 131-151.

- [16] Afnor 1989 Huiles essentielles. Recueil des normes Françaises, 3ème édition, Paris.
- [17] Reffas O 2018 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* de la région d'Ain Zaatout, Biskra, Thèse de master.
- [18] Sang wan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sang wan RS 2001 Regulation of essential oil production in plants, Plant growth regulation
- [19] Bruneton J 1999 « Pharmacognosie », Plantes médicinales, 5ème édition, Edition par Tec et Doc, 567.
- [20] Ralf Günter Berger, 2010 Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability: chemistry of essential oil. Ed. Springer, Berlin.
- [21] Hallal Z, 2011 Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus* application sur la sardine (*Sardina pilchards*). Thèse de Magister de biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 78.
- [22] Franchomme P, Penoël D 1990 L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges, 445.
- [23] STL-SPCL 2019 Chimie et développement durable Fiche technique – extraction.
- [24] Lagunez-Rivera L 2006 Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe, Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- [25] Lucchesi M E, Smadja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F 2007 Solvent free microwave extraction of *Elle taria car damomum L*: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. J. Food Engineering. 79: 1079-1086.
- [26] Bahaz 2018 Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* Thèse de master, Département des sciences de la nature et de la vie. Sciences biologiques Biskra.
- [27] Afssaps 2008 Recommandations relatifs aux critères de qualité des huiles essentielles.
- [28] Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Soumaya B, Hajlaoui H and Abdelly C 2010 Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limonia strum monopetalum* leaves. LWT - Food Science and Technology, 43: 632-639.
- [29] Stahlhut S G, Siedler S, Malla S, Harrison S J, Maury J, Neves A R. and Forster J, 2015 Assembly of a novel biosynthetic pathway for production of the plant flavonoids fisetin in *Escherichia coli*. Metabolic engineering, 31: 84-93.

- [30] Bouhafoun A, Yilmaz M A, Boukeloua A, Temel H and Harche M K, 2018 Simultaneous quantification of phenolic acids and flavonoids in *Chamaerops humilis* L. using LC–ESI-MS/MS. *Food Science and Technology*, 38: 242-247.
- [31] Santos-Sánchez N F, Salas-Coronado R, Hernández-Carlos B and Villanueva Vacañongo, C, 2019 Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*, 1-15.
- [32] Cevallos-Casals, B.A. & Cisneros-Zevallos, L, 2010 Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119: 1485-1490.
- [33] Kamelé K Y, Clémentine K K A, Carole K A, Mesmin K Y, Bi Fézan Honora T and Kablan T 2019 Antifungal *in vitro* Activity of Five Plants from Local Traditional Medicine of Côte d'Ivoire on *Colletotrichum higginsianum*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizopus totolonifer*, Pathogens of Pawpaw (*Carica Papaya* L) and Tomatoes (*Solanum Lycopersicum* L). *European Scientific Journal*, 15 (9): 304-321.
- [34] Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Chen H, Qin W, Wu H and Chen H, 2016 An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21: 1-19
- [35] Schiota S, Shimizu S, Mizushima T, Ito H, Hatano T, Yoshida T and Tsuchiya T 2004 Mechanisms of action of Corilagin and Tellimagradin I that remarkably potentiate the activity of  $\beta$ -lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Immunology*, 48: 67-73.
- [36] Hamouda Ali I and Doumandji A 2017 Comparative phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'institut Scientifique*, 39: 41-49.
- [37] Alcaraz L E, Blanco S E, Puig O N, Tomas F and Ferretti F H 2000 Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of theoretical Biology*, 205: 231-240.
- [38] Zhiri A 2006 Aromathérapie in *Natura News: science, Nutrition, prévention et santé*. Fondation pour le libre choix ed, 12 : 16.
- [39] Idrissi H L M, Alilou H et al 2009 Composition des huiles essentielles et activité antifongique de quelques plantes de sud marocain, université ibn zohr Agadir.
- [40] Pinto E et al 2006 Antifungal activity of the essential oil of thymus pulegioides on *Candida aspergillus* and dermatophyte species in *Journal of medical microbiology*, 55: 1367-1377.

- [41] Moufid A, Eddouks M 2012 *Artemisia herba alba*: a popular plant with potential.
- [42] Mouhajir F, Pedersen J-A, Rejdali M, Touer S-G-H-N. 2001. Phenolics in Moroccan medicinal plant species as studied by electron spin resonance spectroscopy. *Can Pharmaceutical Biology*, 39 (5): 391-398.
- [43] Kim T-H, Ito H, Hatano T, Taniguchi S, Khennouf S, Yoshida T. 2004. Chemical constituents of *Artemisia herba-alba* Asso, *Nat. Med*, 58 (4): 165.
- [44] Feuerstein I, Danin A et Segal R 1988 Constitution of the essential oil from an *Artemisia herba-alba* population of Spain, *Phytochemistry*. 27(2): 433-434.
- [45] Dahmani-Hamzani N, Baaliouamer A 2005 Chemical composition of the Algerian
- [46] Bruneton J 1999 *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3ème Ed. Ed. Médicales inter nationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- [47] Mighri H, Hajlaoui H, Akrouf A, Najjaa H, and Neffati M 2010 Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3): 380-386.
- [48] Zouari S, Zouari N, Fakhfakh N, Bougatef A, Ayadi M.A, and Neffat M 2010 Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso, *Journal of medicinal Plants Research*, 4(10): 871-880
- [49] Benjilali B, Tantaoui-Elaraki A, Ismaïli Alaoui M et Ayadi A 1986 Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome XX, 2: 155-167.
- [50] Giordani R, Hadeif Y ET Kaloustian J 2008 Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79(3): 199-203.



## **CHAPITRE II MATERIELS ET METHODES**

## II. Procédure expérimentale

Cette étude menée sur la plante d'*A. herba alba* vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie. Les principaux objectifs sont l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes, déterminer les rendements et l'extraction par hydro distillation de l'HE, les tests colorimétriques pour confirmer la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires, l'évaluation du contenu des phénols et flavonoïdes totaux et l'étude de leurs activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et antifongique).

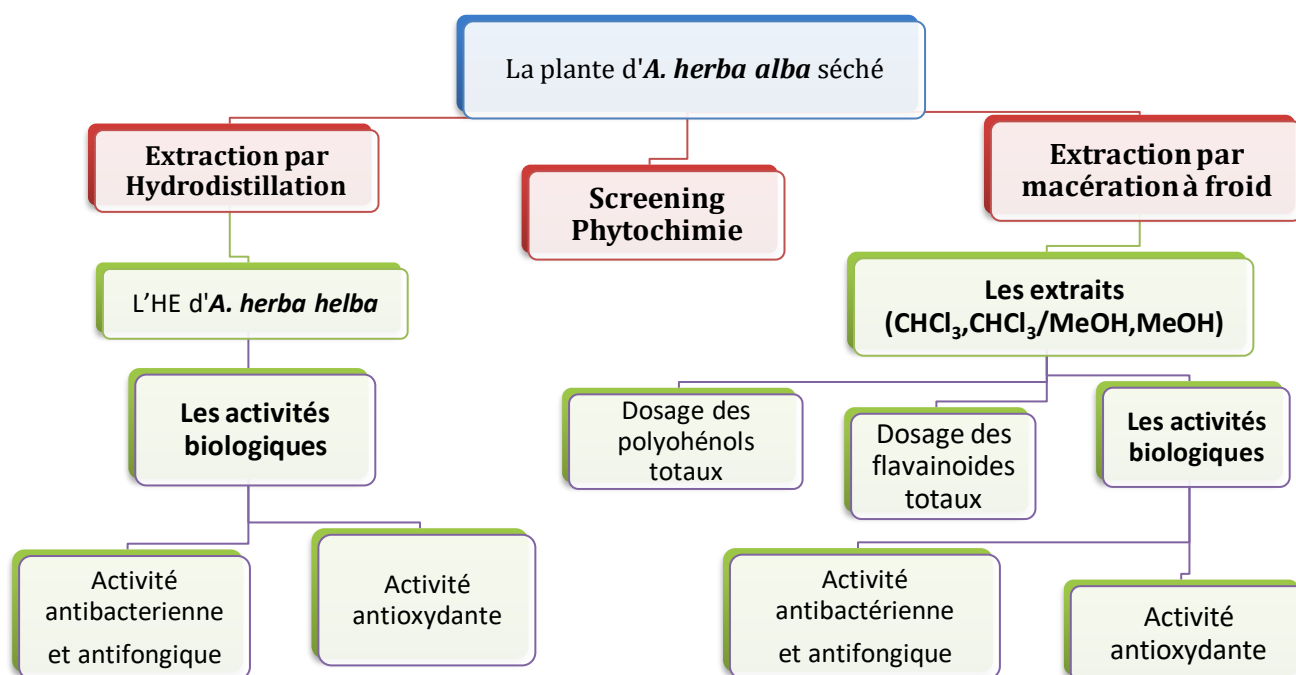


Figure II.1. Diagramme général de la procédure expérimentale

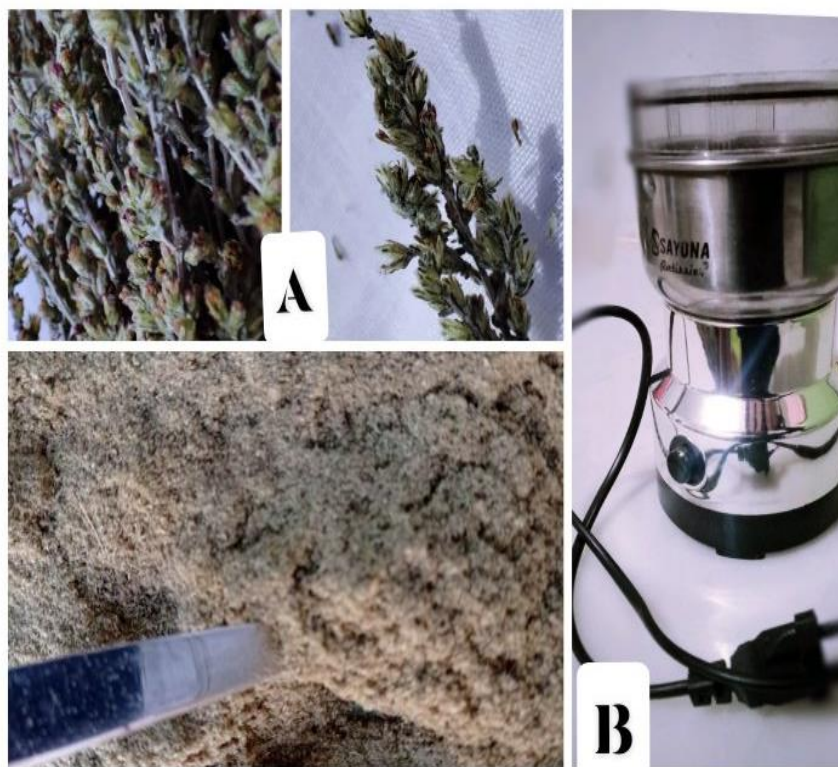
### II .1. Echantillonnage

#### - Récolte de l'*A. herba alba*

Le choix du matériel végétal dépend de la disponibilité de la plante dans le pays, de ses propriétés mentionnées dans la littérature et du nombre de travaux étudiés sur elle. Les échantillons d'*A. herba alba* ont été récoltés durant le mois de Février dans la région de Djelfa. L'identification de l'échantillon de l'*A. herba alba* a été réalisée au laboratoire de chimie de la faculté des sciences de l'université Saad Dahlab de Blida.

#### - Préparation de la matière végétale

L'échantillon fraîchement cueilli février 2023 est préalablement séché à l'air libre pendant quelques jours. La plante est broyée jusqu'à l'obtention d'une poudre moins fine à l'aide d'un petit broyeur à hélices de marque SZJ-1306 basic, puis conservée dans des flacons en verre à l'abri de la lumière. Tel qu'il est montré sur la figure suivante:



**Figure II.2.** Séchage et broyage de la plante d'*A. herba alba*

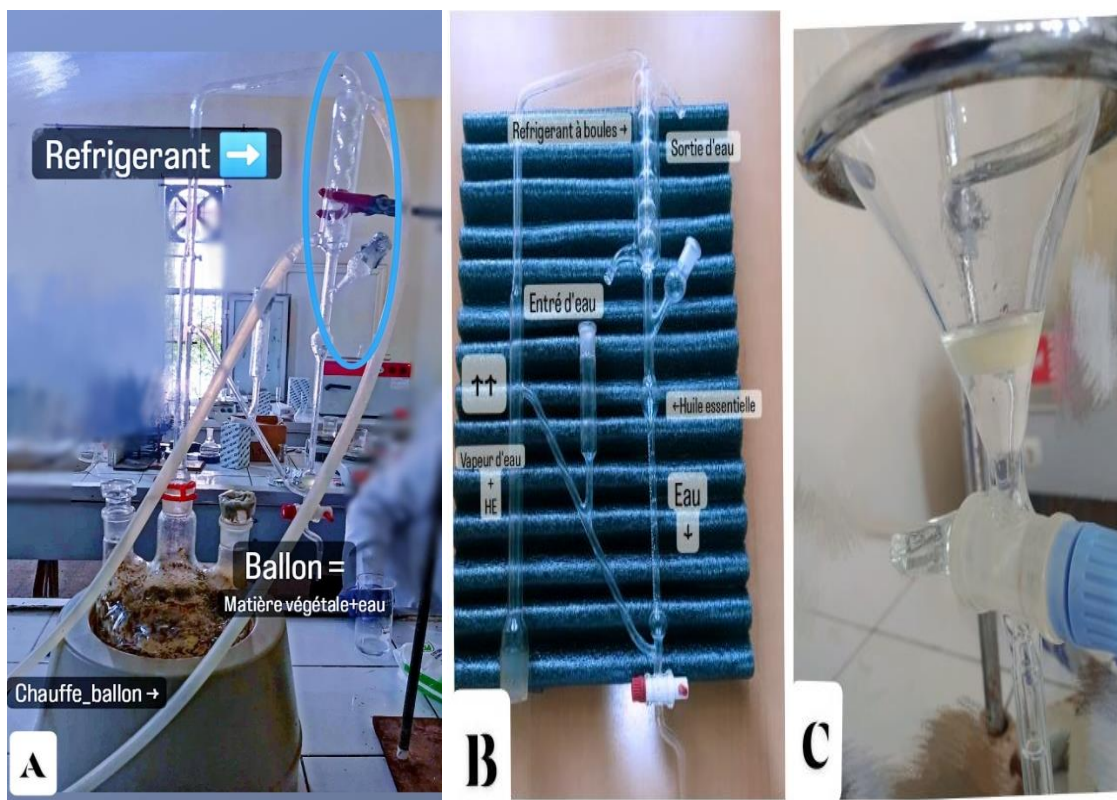
**A.:** Séchage et broyage de la plante d'*A. herba alba* ;

**B :** Broyeur à hélices de marque SZJ-1306 ;

### **II.1.1. Extraction des HE**

#### **-Méthode d'extraction (Hydrodistillation)**

L'extraction de l'HE a été effectuée par hydro distillation classique sur un appareil de type Clevenger modifié [1]. Les extractions ont été réalisées par ébullition de 547,42 g où pendant 3 fois ou chaque fois en prendre un poids correspond à matériel végétal dans un ballon de deux litres rempli d'eau 2/3 du volume du ballon pendant 2 H. Les vapeurs formées montent au long de la colonne en entraînant avec elles les HE. Ces vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, le condensât (eau + HE) est récupéré dans une ampoule à décanter. L'HE obtenue par une simple décantation est séparée minutieusement de la partie aqueuse, et récupère l'HE par une micropipette pour éviter la perte de la matière, la phase aqueuse est récupérée aussi et mélanger avec le distillat d'une autre extraction afin d'obtenir une grande quantité d'HE (figure II.3). Les HE obtenues fluides, de couleur jaune pâle et dégagent une très forte odeur, fraîche et agréable sont conservées dans des flacons ombrés hermétiques à basse température (4°C) et à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation, la perte de son activité biologique et la toxicité.



**Figure II.3.** Hydrodistillation classique de *l'A. herba alba*

**A :** L'extraction d'HE d'*A. Herba alba* par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger ;

**B :** L'appareil de Clevenger ;

**C :** Extraction d'HE par une ampoule à décanté.

### **-Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après l'évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante décrite par Diana [2]:

$$R \% = m_{(ext)} / m_{(éch)} \times 100\%$$

**R :** est le rendement en % ;

**m<sub>ext</sub> :** est la masse de l'extrait après évaporation en g ;

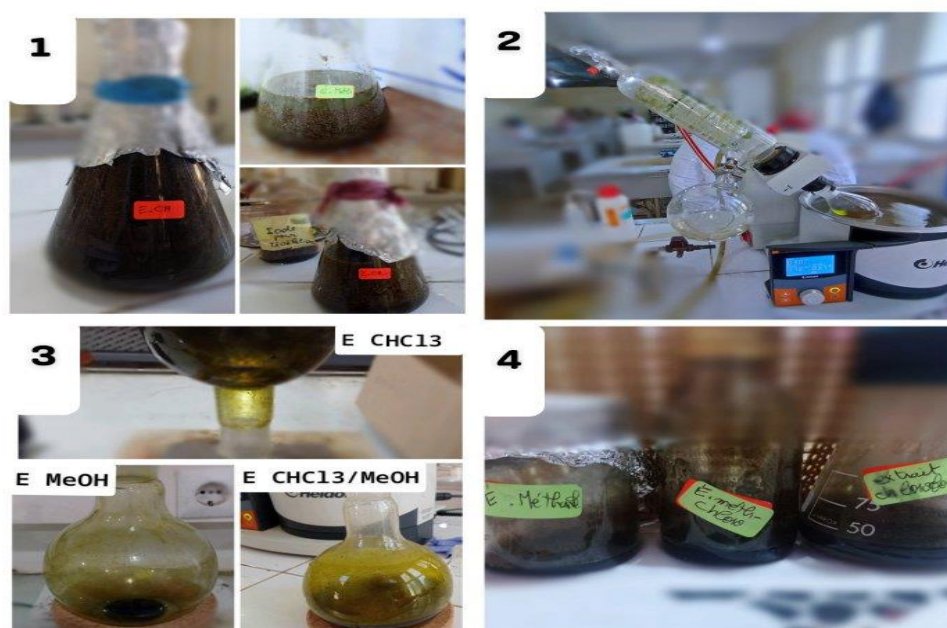
**m<sub>éch</sub> :** est la masse de la matière sèche végétale en g

### **II.1.2. Extraction des polyphénols**

L'extraction liquide-liquide est une méthode de séparation qu'elle consiste à faire passer un produit ou le soluté dissous dans une phase liquide, un solvant organique (CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH et MeOH) est utilisé pour les extraies.

## -Méthode d'extraction (Macération à froid)

D'après la recherche biographique cette méthode a été utilisée pour la première fois sur cette plante. Le principe consiste à épuiser la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) au contact avec le solvant. Le poids de 100g du matériel végétal séchés et broyés ont été laissés au contact dans l'ordre du solvant suivant :  $\text{CHCl}_3$  dans un erlenmeyer de telle façon que le solvant couvre totalement le matériel végétal pendant 48 h, un mélange ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ . 50 :50 , v :v) pendant 48 h ,et finalement MeOH pendant 24 h .Après filtration répéter , le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite à 35-40 C° par un évaporateur rotatif pour éliminer les solvants du filtrats. Ainsi d'obtenir les extraits secs bruts : **E. $\text{CHCl}_3$** , **E. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$** ,et **E.MeOH**. Les étapes d'extraction sont réalisées dans la figure II.4 :



**Figure II.4.** La macération à froid d'*A. herba-alba*

- 1 : Macération à froid de notre plante ;
- 2 : Evaporation par évaporateur rotatif ;
- 3 et 4 : Résidu d'extraits obtenus ( $\text{CHCl}_3$ , MeOH et  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ).

### II.1.3. Intérêts des solvants utilisés

- La phase  $\text{CHCl}_3$  sépare les produits très apolaires tels que les acides gras, les stérols et les caroténoïdes.
- La phase  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  sépare les produits moyennement polaires tels que les mono glycosides, les saponines, les alcaloïdes ...

La phase de MeOH sépare les produits les plus polaires comprenant les oses et osides, les hétérosides, les acides aminés, les acides phénoliques et les tanins.

Les étapes d'extraction sont réalisées dans la figure (II.5) suivante :

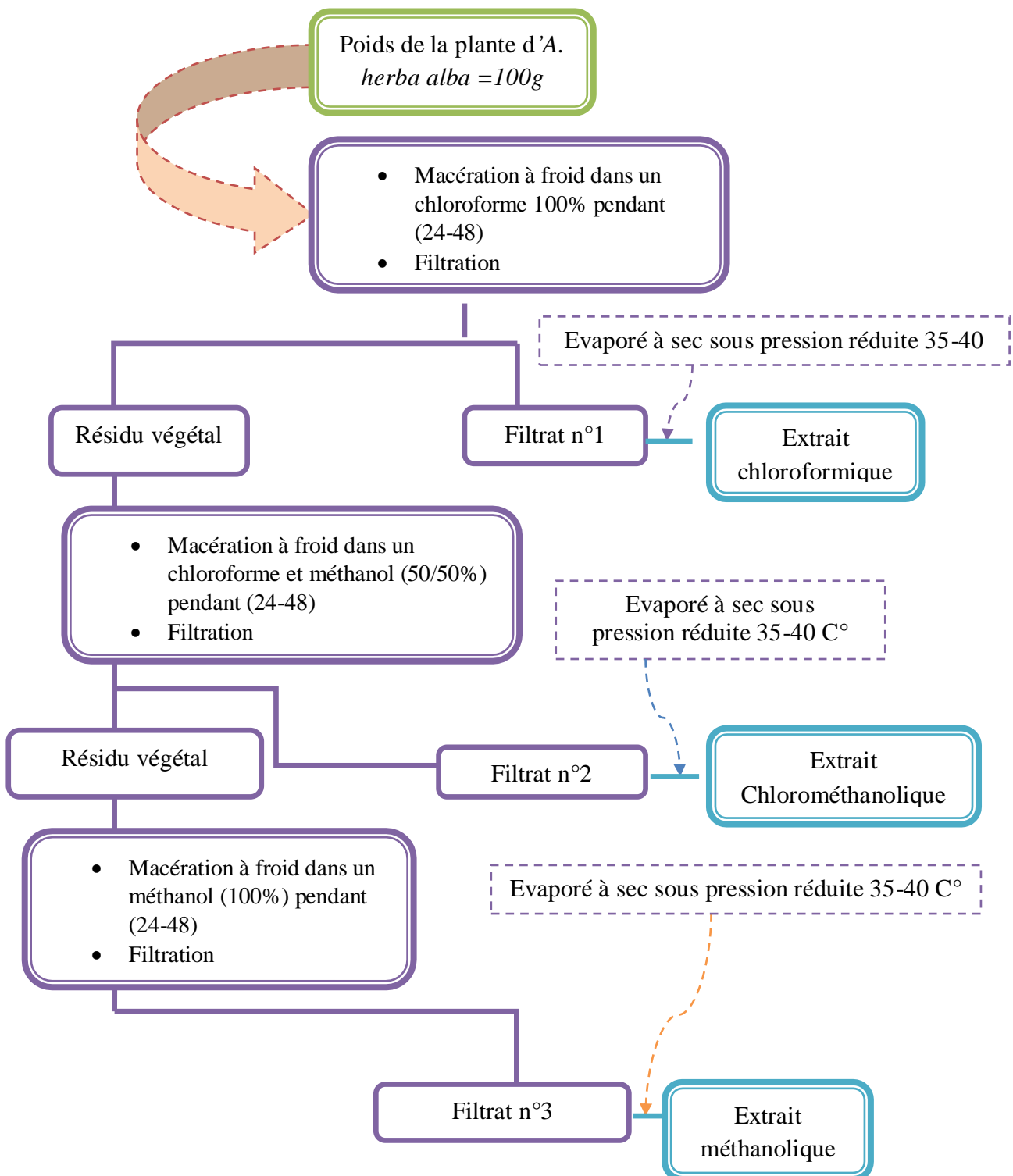


Figure II.5. Protocol d'extraction d'A. herba alba

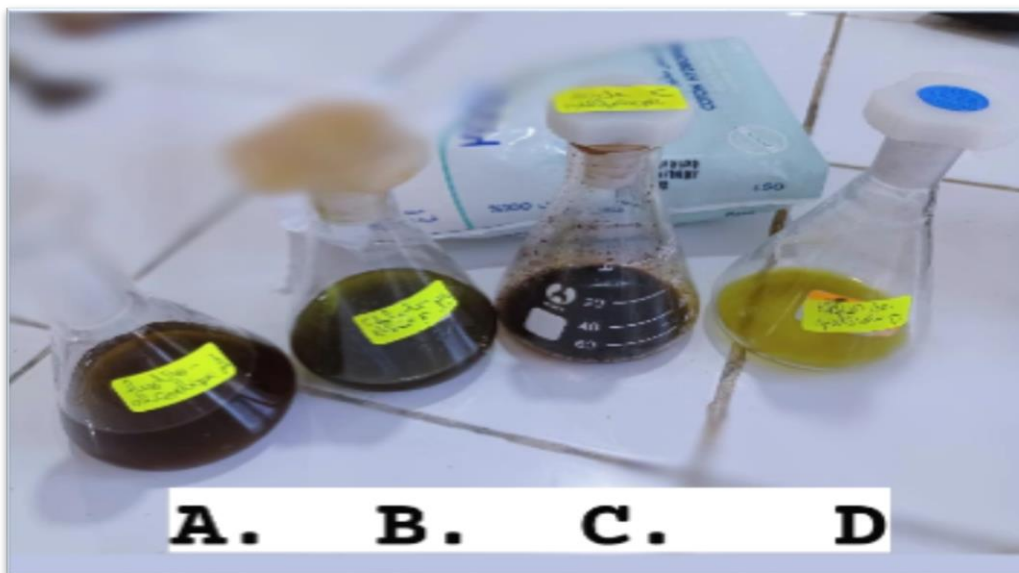
## II.2. Screening phytochimique

Appelé aussi chimie des végétaux, c'est l'étude de la structure, le métabolisme et la fonction des composés phytochimique, ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction

appliquées à ces substances. Et traiter des matières premières et des substances à potentialité médicamenteuse d'origine biologique. Dans notre étude, on a les grands groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les stérols, les terpènes et les quinines de chaque variété ont été déterminés par une approche basée sur des tests de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation selon les méthodes décrites dans la littérature spécialisée.

### II.2.1. Préparation des extraits

- ♣ **Extrait végétal hydro- alcoolique (A)** 07 g de la matière végétale ont été mises à macérer dans 100 ml de mélange MeOH + eau distillé (70/30) ml .Après agitation, laisser le pendant 24 h à température ambiante, filtration et récupéré le filtrat.
- ♣ **Extrait étherique (B)** Dans un erlenmeyer, on met 07 g de la matière végétale avec 30 ml d'éther de pétrole. Le mélange est laissé au repos pendant 24 h avant d'être filtrer à l'aide d'un coton et récupéré le filtrat.
- ♣ **Extrait chloroformique (C)** Introduire 04 g de matière végétale dans un erlenmeyer et ajouter 50 ml de chloroforme et l'éther de pétrole (40/10) ml, laissé le pendant 24 h .Après filtration, récupérer le filtrat.
- ♣ **Extrait végétal de l'acide sulfurique (D)** Dans un erlenmeyer, 0,2 g du matériel végétal (broyés) sont mises en contact avec 10 ml d'acide sulfurique. Après une agitation pendant 24 h, le mélange est filtré et récupérer le filtrat .Tel qu'il est montré sur la figure II.5 ci-dessous.



**Figure II.6.** Les extraits d'*A. herba-alba*

A : Extrait hydro alcoolique  
B : Extrait éthylique  
C : Extrait chloroformique  
D : Extrait d'acide sulfurique

## II.2.2. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes

### 1. Screening phytochimique des flavonoïdes

#### ✓ Test de Bate-Smith (test de Flavan-3, 4-diols)

Dans deux tubes, on met 2 ml d'extrait (A) dont : Le 1<sup>er</sup> tube témoin et le 2<sup>ème</sup> tube est additionné à 0,5 ml de HCl concentré, puis les mettre au bain marie pendant 30 min.

- On note l'apparition d'une coloration rouge dénotée et la présence de Leucoanthocyanes, dérivés de Flavan -3,4- diols [3].

#### ✓ Test de Wilstater (test de Flavonols et Flavonones)

Dans deux tubes, on met 2ml de l'extrait (A) dont : Le 1<sup>er</sup> tube témoin et le 2<sup>ème</sup> tube est additionné à 0,5 ml de HCl concentré puis on ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium et on laisse agir sous la hotte. On note l'apparition d'une couleur qui vire vers le rouge pourpre (Flavonols) ou le rouge violacé (Flavonones ou Flavonols), ce qui confirme l'existence des flavonoïdes [3].

### 2. Screening phytochimique des tannins

On met dans 03 tubes 2 ml d'extrait (A) dont : le 1<sup>er</sup> tube témoin, le 2<sup>ème</sup> tube est additionné à 5 gouttes de gélatine à 1% et le 3<sup>ème</sup> tube est additionné 4 à 5 gouttes de FeCl<sub>3</sub> (en solution méthanolique).

- La couleur vire au bleu noir en présence des tannins galliques et au brun verdâtre en présence des tannins catéchiques avec une précipitation dans le cas des tests de gélatine [4].

### 3. Screening phytochimique des quinones

Les quinones constituent une série de diènes plutôt que des composés aromatiques comportant un noyau de benzène sur lequel deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygène formant deux liaisons carbonyles (dicétones éthyléniques conjuguées cycliques).

-Dans 02 tubes, on met 2 ml d'extrait (B) dont : le 1<sup>er</sup> tube témoin et dans le 2<sup>ème</sup> tube, on ajoute 10% de NaOH.

- Après agitation, on note l'apparition d'une coloration qui vire au jaune, rouge ou violet de la phase aqueuse, ce qui confirme la présence des quinones.

### 4. Screening phytochimique des coumarines

Les coumarines sont des dérivés de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- $\alpha$ -pyrone [5] et tous sont substitués en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [6].



-Agiter 1g de la poudre végétale avec 20 ml d'extrait (B) et laisser macérer pendant 24 h. Filtrer et rajouter 20 ml d'eau distillée. Après évaporer la solution à l'air libre jusqu'à l'obtention du 5 ml, compléter avec 2 ml d'eau distillée puis la solution est partagée dans 02 tubes à essai : le 1<sup>er</sup> tube témoin et le 2<sup>ème</sup> tube avec 0,5 ml d'ammoniaque (25% NH<sub>4</sub> OH).

- On note l'apparition d'une Fluorescence intense dans le 2<sup>ème</sup> tube sous les lumières UV à 365 nm, ceci indique la présence des coumarines.

### 5. Screening phytochimique des anthraquinones

Les anthraquinones sont des dérivés de l'anthracène. Du point de vue structural, les anthraquinones sont des composés naturels dont le squelette carboné de base en C14 présente un enchainement de type C6-C2-C6 [7].

-Dans deux tubes, on met 2 ml d'extrait (C) dont : Le 1<sup>er</sup> tube témoin et dans le 2<sup>ème</sup> tube on ajoute KOH 10%.

- Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par le virage de la phase aqueuse en rouge.

### 6. Screening phytochimique des alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [8-9].

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer:

#### Réactif de Mayer

Composition : Iodure de potassium (KI) 25g, Chlorure mercurique (HgCl<sub>2</sub>) 6.8 g, l'eau distillée (100 ml).

-On met dans les 04 tubes 2,0 ml de l'extrait (D) dont : le 1<sup>er</sup> tube témoin et dans le 2<sup>ème</sup> tube on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer.

- La présence des alcaloïdes est constatée suite à des réactions de précipitation avec les révélateurs généraux : blanc jaunâtre dans le 2<sup>ème</sup> tube.

### 7. Screening phytochimique des terpènes

#### ✓ Test des terpènes et des stérols insaturés

La majorité des stéroïdes sont des alcools, on les appelle stérols [10-11]. Les stérols sont des stéroïdes dérivant des triterpènes et formant ainsi tout un groupe d'alcools solides [12]. Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle. Pratiquement tous les stéroïdes végétaux sont hydroxylés en C-3 et sont en fait des

stérols [13]. La présence des stérols insaturés et terpènes est mise en évidence à l'aide de  $H_2SO_4$  et les étapes à suivre sont :

- Agiter un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20) et additionner à une quantité de la poudre végétale.
- Filtration et concentration non à sec, on ajoute 50ml d'éther de pétrole à la solution obtenue et on laisse décanter.
- Après séparation des deux phases, on procède à l'évaporation à sec de la phase étherée et l'extrait obtenu est additionné 15ml de CHCl<sub>3</sub>.

-La solution chloroformique est versée dans trois tubes à essai en quantités égales : Le 1<sup>er</sup> tube utilisé comme témoin, dans le 2<sup>ème</sup> tube on ajoute 3 ml d'anhydride acétique, le changement rapide de couleur indique la présence de terpènes et dans le 3<sup>ème</sup> tube on ajoute 3 gouttes d'acide acétique.

- L'apparition de la couleur rouge cerise confirme la présence des stérols insaturés.

### **8. Test des triterpènes**

Les terpènes constituent une large famille d'alcènes d'origine naturelle très diversifiée comprenant des molécules linéaires, cycliques ou bien polycycliques et pouvant présenter des fonctions alcools, aldéhydes, cétones [14]. La mise en évidence des terpènes est fondée selon la réaction de Lieberman-Burchard. Les étapes à réaliser sont [15]:

- Une agitation d'un mélange de MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20) qu'il est additionné à une quantité de la poudre végétale.
- Après filtration et évaporation à sec, le résidu obtenu est dissout dans 1ml d'anhydride acétique, puis dans 1 ml de chloroforme.
- Diviser la solution entre deux tubes à essai dont l'un sert de témoin et placer 1ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube sans agiter.
- La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone du contact des deux liquides révèle la présence des triterpènes (réaction de Liebermann-bouchard).

### **9. Screening phytochimique des Saponosides**

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal [16]. (Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique)[17].

- On prend une quantité de 5 g de la plante qu'on immerge dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes.

- On note l'apparition d'une mousse dans le milieu. Ceci prouve la présence des saponosides [18].

### II.3. Quantification des composés phénoliques

C'est une méthode permet la détermination de la quantité des polyphénols et des flavonoïdes présenter dans un extrait préparé à partir de notre plante *A. herba-alba*.

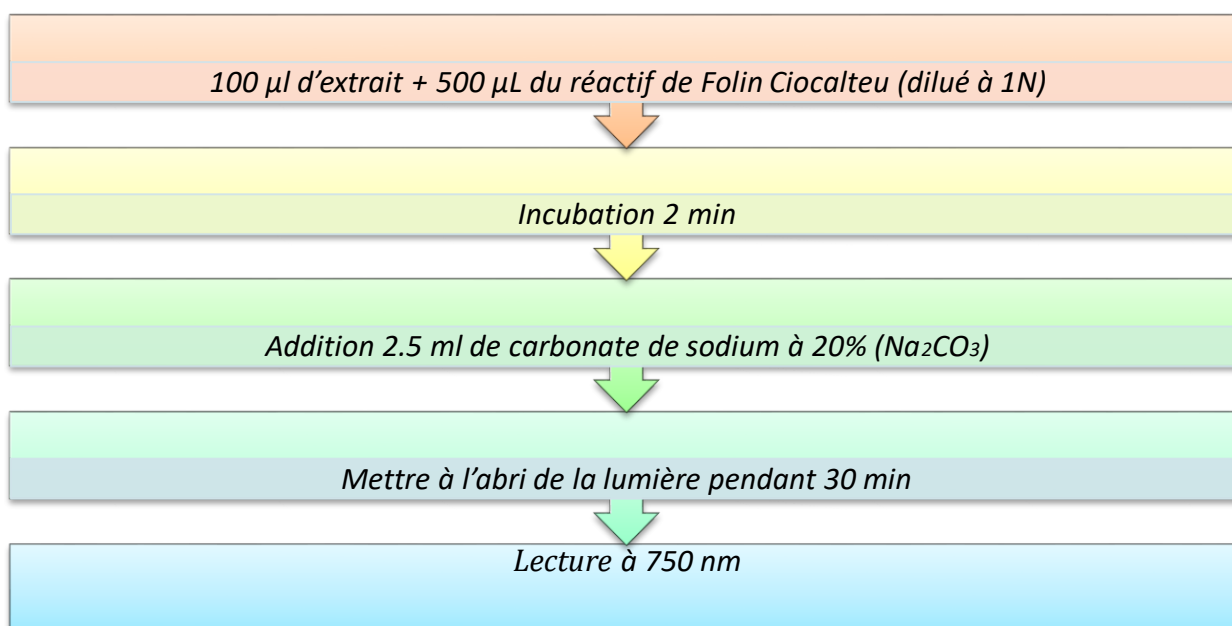
#### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

**Principe:** Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMoO_{12}O_{40}$ ) du réactif du Folin-Ciocalteu dans un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{28}$ ) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques contenus dans l'extrait [19]. La coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765 nm.

#### ✚ Mode opératoire

- Préparation du blanc (control négatif) : les mêmes étapes en remplaçant l'extrait par l'éthanol.
- Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant **l'acide gallique** avec des différentes concentrations comme standard et exprimées en microgramme de chaque extrait est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec **l'acide gallique**.

Le protocole expérimental utilisé dans la figure (II.7):



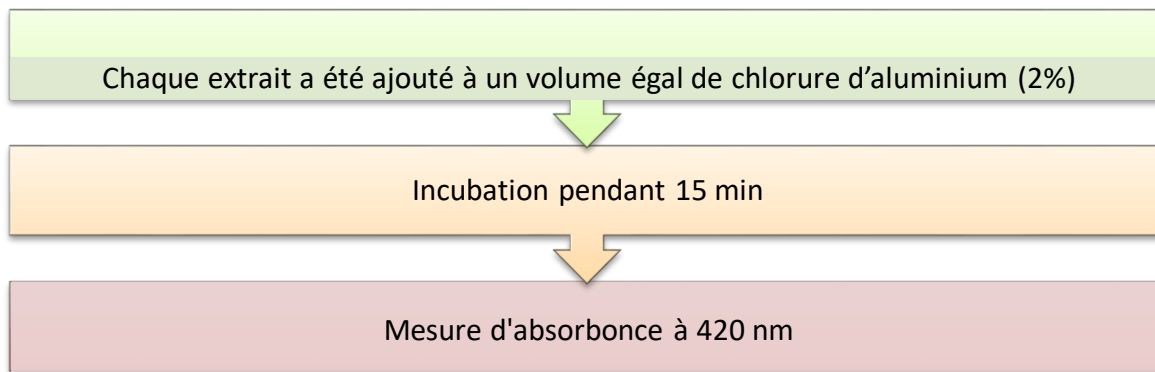
**Figure II.7.** Le protocole de dosage des polyphénols [6]

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

**Principe:** La méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des phénols flavonoïdes capables de donner un complexe en présence d'aluminium (chlorure d'aluminium) [20].

#### ✚ Mode opératoire:

- Le blanc (contrôle négatif) : mêmes conditions en remplaçant l'extrait par l'éthanol.
- Courbe d'étalonnage : une courbe d'étalonnage réalisée par la quercitrine à différentes, pratiquée dans les mêmes conditions opératoires.



**Figure II.8.** Le protocole de dosage des flavonoïdes [21]

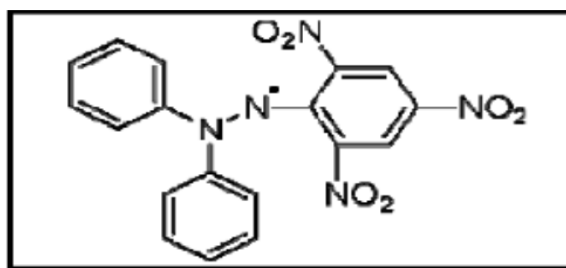
## II.4. Etude des activités biologiques

### II.4.1. Etude de l'activité antioxydante

Les antioxydants naturels ont des propriétés thérapeutiques, c'est pourquoi la recherche scientifique a été développée dans diverses disciplines pour extraire, identifier et quantifier ces composés à partir de nombreuses substances naturelles, à savoir les plantes médicinales et les produits alimentaires [20, 22, 23]. L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'activité antioxydante des quatre extraits (chloroforme, chlorométhanol et méthanol et aussi notre HE) de l'*Artemisia herba alba*. In vitro, en utilisant la méthode de : **le piégeage du radical libre DPPH.**

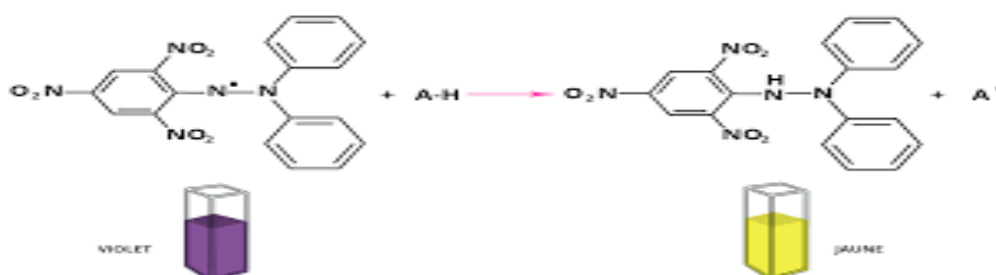
#### -Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH

**Principe:** Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense [24]. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti oxydantes, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune [25].



**Figure II.9.** Structure chimique du radical DPPH.

Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents [26]. La réaction peut se résumer de la façon suivante :

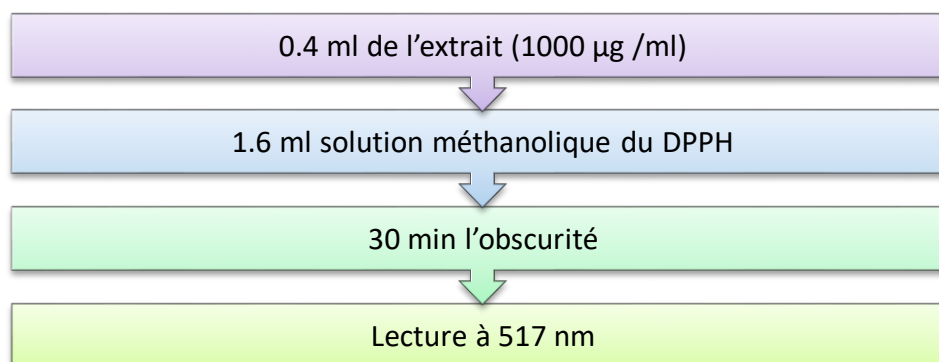


**Figure II.10.** La réaction de radiale DPPH [26]

**Mode opératoire :**

- Préparation de DPPH : dans une fiole de 100 ml, on prend 3mg DPPH qu'il a complété par 100ml de méthanol absolu sous agitation à température ambiante et incubation pendant 30min. Après conservé à l'abri de la lumière. L'absorbance est 517nm dans le spectrophotomètre.
- Préparation de la solution de DPPH avec l'extrait : 1,6 ml de DPPH + 0,4 ml de l'extrait puis incubation pendant 30min.

Le schéma suivant résume le protocole de l'activité du radical DPPH :



**Figure II.11.** Protocole d'étude de l'activité anti radicalaire par la méthode de DPPH [27]

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{\text{Témoins}} - A_{\text{Échantillon}}) / A_{\text{Témoins}}] \times 100$$

**A<sub>Témoins</sub>** : absorbance du témoin (1 ml méthanol).

**A<sub>Échantillon</sub>** : absorbance de l'extrait (1 ml extrait+1.6 ml DPPH).

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme antioxydants standards. Dans ce test on définit la concentration inhibitrice à 50% « IC<sub>50</sub> ». Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé [28].

#### II.4.2. Etude des activités antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des quatre (03) extraits : CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, MeOH, et HE des parties aériennes de l'espèce *A. herba alba* a été testé, in vitro, par « **la méthode de diffusion des disques** » [29] en milieu solide milieu MH pour l'activité antibactérienne et milieu GSD pour l'activité antifongique. Chacun des disques de papier Wattman stérile N°3 et de diamètre 6 mm est imprégné par 20 µl de chaque extrait égal à une concentration de 100 mg /ml, et d'HE égal à une concentration de (1000,1500) µg/ml est placé à la surface du milieu de la boîte de pétri en présence des disques imbibés par une solution aqueuse DMSO comme témoin négatif. Des disques de **Gentamicine10** commercialisée (à 10µg/ disque) comme témoins positifs, et des disques de **Econazole** (10µg/ disque) qui ont été pris comme antifongique pour les témoins positifs. Les boîtes ont été ensuite incubées 2h à 4°C puis à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les champignons. La mesure des diamètres des zones d'inhibition entourant les disques contenant les échantillons à tester a été réalisée. Cette étude de l'activité antibactérienne est réalisée au laboratoire d'hygiène au niveau de l'établissement hospitalier public **Ferroudja** à Blida.

##### ➤ **Les souches bactériennes et fongiques étudiées**

Le choix des microorganismes a été porté sur sept souches fréquentes en pathologie humaine, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries : les bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*) et les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*). En plus de deux moisissures (*Aspergillus Niger*, *Candida albicans*). Ces bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'homme.

##### **Mode opératoire**

#### **1. Revivification des souches**

Dans le milieu gélose nutritive MH pendant 24h pour les bactéries et dans le milieu GDS pour les champignons pendant 48h.

## 2. Préparation des disques

On utilise dans cette méthode, des disques en papier Wattman circulaires environ de 6 mm de diamètre, afin d'obtenir une zone d'inhibition facile à mesurer.

## 3. Stérilisation du matériel

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans un four pasteur, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) la gélose nutritive et le milieu Sabouraud ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15-20 minutes.

## 4. Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : MH et GDS. 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 et entrouvertes les devant la flamme jusqu'à complète solidification.

Pour les solvants nous avons utilisé :

- L'eau physiologique stérile : NaCl (9g/L), pour préparer et diluer les suspensions bactériennes.
- DMSO : pour solubiliser les extraits et un témoin négatif pour l'activité antimicrobienne.
- L'eau distillée stérile.
- Econazole : un témoin positif pour l'activité antifongique.
- Gentamicine 10 : un témoin positif pour l'activité antibactérienne.



**Figure II.12.** Les milieux et les témoins de cultures de l'activité antimicrobienne

## 5. Préparation des dilutions d'HE de la plante

L'HE de la plante obtenu a été dissout dans 1 ml du (DMSO), pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère d'HE pur est du 1500 µg/ml.

## 6. Préparation des solutions d'extraits CHCl<sub>3</sub>, MeOH et CHCl<sub>3</sub>/ MeOH

Les solutions ont été préparées par solubilisation de 100 mg de l'extrait dans 1 ml de DMSO.

## 7. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose MH, les tous incubées à 37°C pendant 24 h. Et les souches de champignons sont ensemencées dans la gélose GDS et le tout incubées à 25°C pendant 48 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10ml d'eau distillée stérile, la suspension bactérienne est bien homogénéisée. L'inoculum est ajusté en ajoutant de l'eau physiologique stérile puisque il est trop fort.

## 8. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boites de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile les disques (trois disques par boîte), imprégnés des extraits végétaux(CHCl<sub>3</sub>, MeOH et CHCl<sub>3</sub>/ MeOH),et les disques (quatre disques par boîte), imprégnés des dilutions d'HE sur la surface de milieu de culture .De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés. Finalement, les boites de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37 °C pour les souches bactériennes et de 48 heures à 25°C pour les souches de champignons. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition qui a été obtenue par les différents extraits autour des disques avec une règle.

## 9. Lecture

La lecture des résultats est faite de 24 à 72 h après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active. Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées [30] :

- **Non sensible (-) ou résistante** : diamètre moins de 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre plus de 20 mm



## Références bibliographiques

- [1] Miguel C, Bermudez de Castro F, Rodriguez-barrueco C 1976 A study of the capacity of soils to induce nodules in *Alnus glutinosa* (L.) Gaerten and *Myrica gale* L, with special reference to the specificity of the endophytes, *Annales de microbiologie* 127(2):307-315.
- [2] Diana M sobieraj 2013 *Pharmacotherapy: The journal of human pharmacology and drug therapy*.
- [3] Malec L S and Pamilio A 2003 Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromuspictus*. *Mol. Med. Chem*, 1 : 30-38.
- [4] N'Guessan K et al Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), 2009, *Sciences& Nature*.
- [5] Jutiviboonsuk A, Zhang H, Tan T G, Ma C, Van Hung N, Cuong N M , Bunyapraphatsara N, Soejarto D D, Fong H H S 2005 Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* ,66 :2745 – 2751.
- [6] Koudougou K, Etude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *biohyptis purpurascens* (L.) Klotzsch (Oxalidaceae), Université de Ouagadougou-Dea, 2000 ,16.
- [7] Boussaha S 2015 Pollution phosphatée des hydro systèmes du bassin versant de l'Oued Bounamoussa (Nord-est Algérien): origine, quantification et impact environnemental Thèse Doctorat, 9.
- [8] Bruneton J 1999 *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Editions Tec & Doc, 3ème Edition, 783-785.
- [9] Zenk M H, Juenger M 2007 Evolution and current status of the phyto chemistry of nitrogenous compounds ,*Phytochemistry Review*, 2007, 68, 2757 – 2772.
- [10] Marc F, Davin A, Deglène B L, Ferrand C, Michel B, Pierre F 2004 Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation, *Medicine Sciences*, 20: 458-463.
- [11] Huang D, Ou B, Prior R L 2005 The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 1841-1856.
- [12] Fehér J, C Somos, G Vereckei 1987 the chemistry of free radical reactions, *Free radical reactions in Medicine*, Berlin Heidelberg, 2-10.
- [13] Kris-Etherton P M, Hecker K D, Bonanome A, Coval S M, 2002 Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med*, 113: 71–88.

- [14] SheelR, Nisha K, And Kumar J 2014 preliminary phytochemical screening of methanolic extract of clerodendron in for tunatum. Iosr journal of applied chemistry,7(1):10-3.
- [15] Breitmaier E 2006 Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones, John Wiley and Sons.
- [16] Vincken J-P, Heng L, De Groot A, Gruppen H 2007 Saponines, classification and occurrence in the plant kingdom, *Phytochemistry*, 68:275-297.
- [17] Hostettmann K and Marston A 1995Saponins Cambridge University Press.
- [18] Parejo I FV, Jaume B, Alfredo RR 2002 Comparison between the radical scavenging activity of six distilled and nodistilled Mediterranean Herbs aromatic plants. *Agricultural and Food Chemistry*.50: 6882-6890.
- [19] Ribéreau-Gayon P 1982 The anthocyanins of grapes and wines, *Anthocyanins as food colors*, 6:214-215.
- [20] Sánchez–Moreno C 2002 Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *Food science and technology international*, 8(3):121-137.
- [21] Topçu G, Ay A, Billici A, Sarihurkucu C, Ozturk M and Ulbelen A 2007 *Food chemistry*, 103:816-822.
- [22] Perla S M, Anne-Marie R, Chhristian E, Frédéric D, Julien A, Cécile V, 2004 *Biochemical and biophysical research communications*.
- [23] Sanja Ć, Franci K, Milka M 2009 Synthesis and antioxidant activity of selected 4-methylcoumarins, *Food chemistry*, 117(1):135-142.
- [24] Astrid V G, Elizabeth J, Chris F H 1997 Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other Plant phenols of rooibos, alpha-Tocopherol, BHT and BHA *Journal of agricultural and food chemistry*,45(3):632-638
- [25] Es-Safi N E, Ghidouche S, Paul H D 2007 Flavonoids: hemi synthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity, *Molecules*, 12(9):2228-2258.
- [26] Antonius H C, Widajaniti W, Aditya P, Bayu A 2015 Synthesis, characterization and anti- oxydative properties of propolis-like compound prepared from prenylation of indonesia's cinnamon(*Cinnamomumburmannii*) esseential oil using, *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 7(1):715-719.
- [27] Molynaux P 2004 The use of stable free radical DI phenylpicrylhydrazyl ( DPPH) for estimating antioxidant activity songklanakarin *J.Sci.Technol.*, 26(2):211-219.

- [28] Miguel AT, Jonathan DG Jones, Jeffery L Dangel 2006 Reactive oxygen species signaling in response to pathogens ,Plant physiology,141(2):373-378.
- [29] Jose-Luis R, Maria Carmen R 2005 Medicinal plants and antimicrobial activity, Journal of ethno pharmacology, 100(1-2):80-84.
- [30] AG Ponce, R Fritz, C Del Valle, SI Roura, 2003 LWT-Food Science and Technology, Antimicrobial activity of essential oils on the native micro flora of organic Swiss chard36(7): 679-684.

## **CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSIONS**

### III. Etude phytochimique

#### III.1. Détermination du rendement d'extraction

##### III. 1.1. Le rendement de l'HE d'*A. herba alba* (hydrodistillation)

Par la méthode d'extraction avec hydrodistillation, où la durée d'extraction est le temps nécessaire pour la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale [1] Le rendement en HE figure III.1a été exprimé en gramme par rapport à 547.42 g de matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante étudiée ou en pourcentage représenté dans le tableau (III.1).



Figure III.1. L'HE d'*A. herba alba* extraite

Tableau III.1. Rendement d'extraction d'HE

La matière végétale ( g)	Poids HE( g)	Le rendement %	Echantillon	Aspect	Couleur	
M totale	172.46	1.430	0.83	R totale		
547.42	200.00	2.21	1.11	0.86	HE d'A <i>herba alba.</i>	Huileuse Jaune pale
	174.96	1.10	0.63			

Au vu de ces résultats de l'HE d'*A. herba alba* 0.86 %, il apparaît que le rendement moyen en HE obtenu par hydrodistillation est important, et compris dans l'intervalle (0.2 % à 0.95 %) de différentes régions en Algérie. Cités dans la bibliographie [2-3].

Les mêmes variations du rendement d'HE de *A. herba alba* ont été notées en Espagne (0,41 % à 2,30 %) [4] ; en Tunisie (0.68 % à 1.93 %) [5] et en Jordanie (1.3 %) [6]. Il semble donc que le rendement d'extraction d'HE de l'*A. herba alba* varie suivant l'origine géographique de la plante.

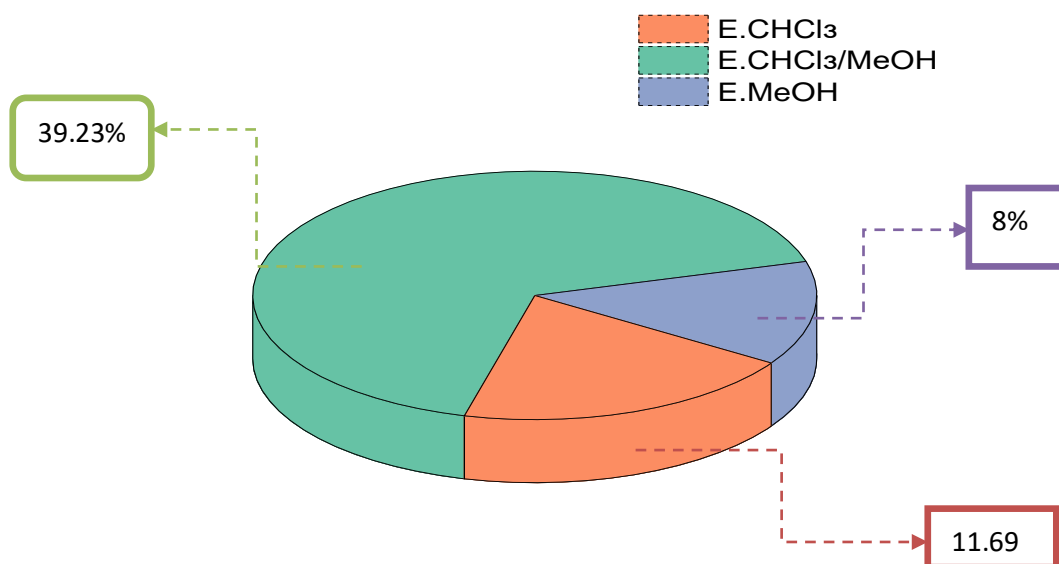
### III.1.2. Le rendement de l'extraction des polyphénols

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation) a été déterminé par rapport à 100 g de la matière végétale. Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après l'évaporation) et le poids du ballon vide (avant l'évaporation). Le rendement des trois extraits ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , et  $\text{MeOH}$ ), l'aspect et le solvant de solubilité de différents modes d'extraction ont été présentés dans le tableau (III.2) suivant :

**Tableau III.2.** Rendement d'extraction des extraits

Matière végétale	Extraits	Aspects	Couleurs	Masses	Les rendements
100 g	$\text{CHCl}_3$	Solide	Marron vers le vert foncé	11.69 g	11.69%
	$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	Visqueuse	Vert foncé	39.23 g	39.23%
	$\text{MeOH}$	Visqueuse	Vert foncé	08.00 g	8%

Les rendements sont présentés par ordre d'extraction figure (III.2) : par la méthode d'extraction avec macération à froid, le rendement le plus élevé a été obtenu par  $\text{E.CHCl}_3/\text{MeOH}$ , avec une moyenne de 39.23 % suivie par l' $\text{E.CHCl}_3$  avec une moyenne de 11.69 % et enfin par l' $\text{E.MeOH}$  avec une moyenne de 8 %.



**Figure III.2.** Histogramme schématique des résultats obtenus pour l'extraction

### III.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Les résultats du screening phytochimique sont regroupés dans le tableau (III.3) suivant :

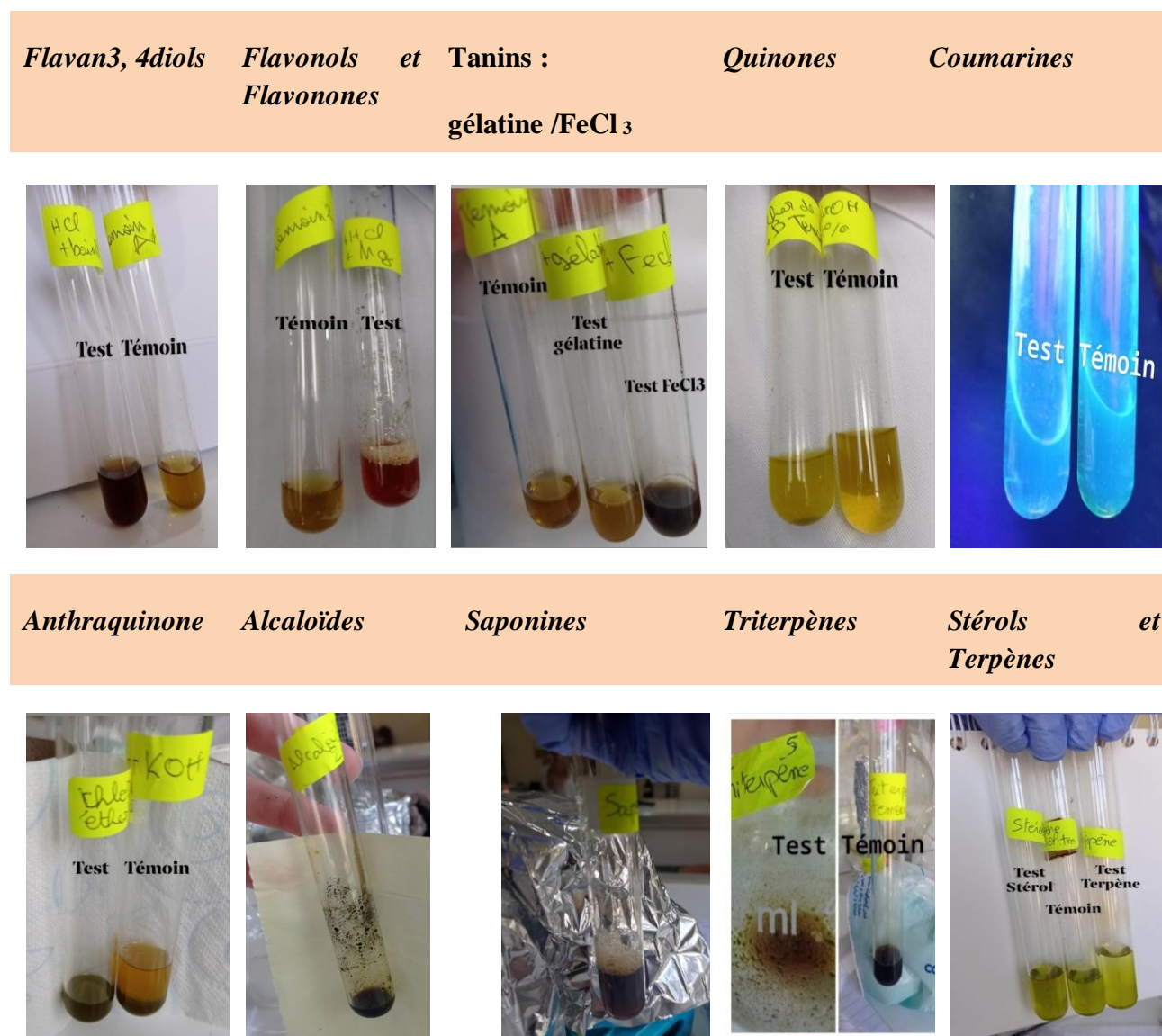
**Tableau III.3.** Résultats de criblage phytochimique d'*A. herba alba*

Composés recherchés	Absence / présence	Colorations
<i>Flavan3, 4diols</i>	+++	Rouge denote
<i>Flavonols et Flavonones</i>	+++	Rouge pourpre
<i>Tannins :gélatin ; fecl3</i>	+++	Brun verdâtre ; Bleu noir
Quinones	+++	Jaune (phase aqueuse)
Coumarines	-	Pas de influence intense
<i>Anthraquinones</i>	++	La phase aqueuse en rouge.
<i>Alcaloïdes (Mayer)</i>	-	Pas de changement de couleur
<i>Saponosides</i>	++	L'apparition d'une mousse
<i>Triterpènes</i>	+	Il y'a un changement de couleur vers le rouge
<i>Terpène &amp; Stérols</i>	+	Il y'a un changement de couleur

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

Les résultats de screening phytochimique enregistrés dans le tableau (III.3) et la figure (III.3).indiquent la présence des flavonoïdes, des tanins (gélatine /FeCl<sub>3</sub>), des quinones,

anthraquinones, des saponines, des terpènes, des triterpènes et des stérols ainsi que l'absence totale des alcaloïdes, et des coumarines.



**Figure III.3.** Résultats du screening phytochimie de l'*A. Herba alba*

Au vu de ces résultats, nous ne déduisons que la plante *A. Herba alba* de la région de Djelfa, comme d'autres espèces de la famille *Artemisia*, est très riche en divers métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes. D'autre part, ce qui explique l'intérêt et l'attention portée par les habitants de la région à travers l'usage traditionnelle de cette plante.

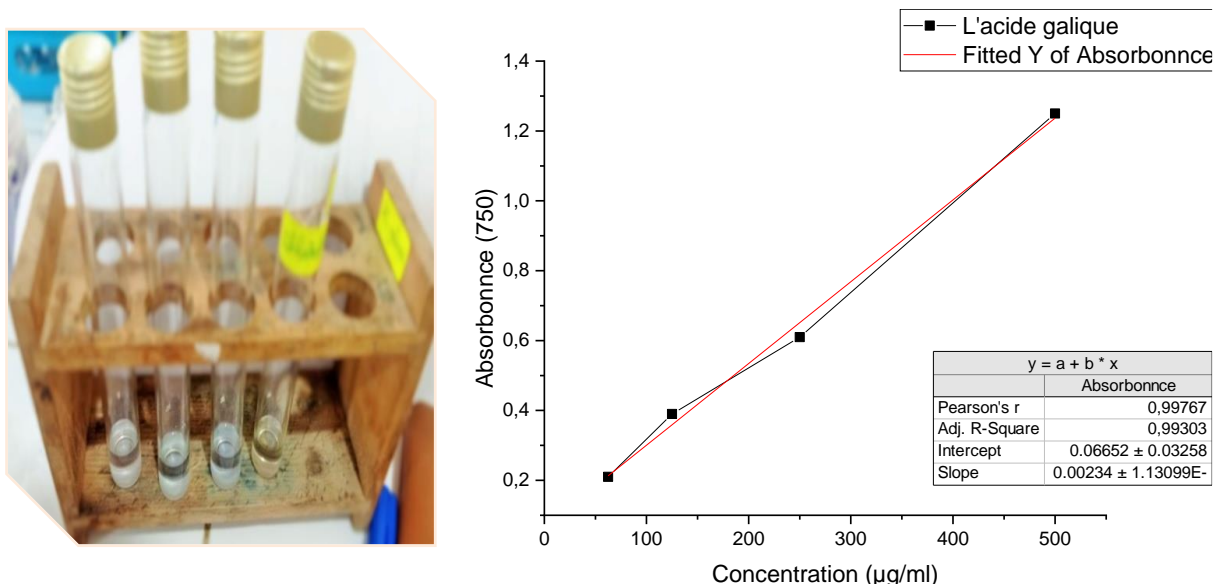
### III.3. Résultats de l'étude quantitative :

#### III.3.1. Dosage des polyphénols totaux :



La teneur en polyphénols des trois extraits (MeOH, CHCl<sub>3</sub>/ MeOH et CHCl<sub>3</sub>) est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'AC gallique (ayant l'équation :  $Y = 0.00234x - 0,06652 / R^2 = 0,99$

Et elle est exprimée en microgramme d'équivalent de l'AC gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/ml d'extrait sec). Les absorbances de courbe d'étalonnage en fonction de leur concentration sont rapportées sur la figure ci-dessous figure (III.4).



**Figure III.4.** Représentation de la gamme d'AC gallique et la courbe d'étalonnage.

Le tableau ci-dessous montre les résultats de la teneur en polyphénols des extraits ont été exprimées en µg EAG/mg d'extrait sec.

**Tableau III.4.** Taux des polyphénols dans les extraits de notre plante

EXTRAITS	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	MeOH
La teneur en polyphénols EAG µg/mg PS	37.51 ± 1.376	44 ± 0.651	26.90 ± 0.43

**AG** : acide gallique, **EAG** : équivalent d'acide gallique, **PS** : poids sèche de l'extrait.

Les valeurs sont les moyennes de trois répétitions plus ou moins l'écart-type :

$$T_{pt} = CV/M$$

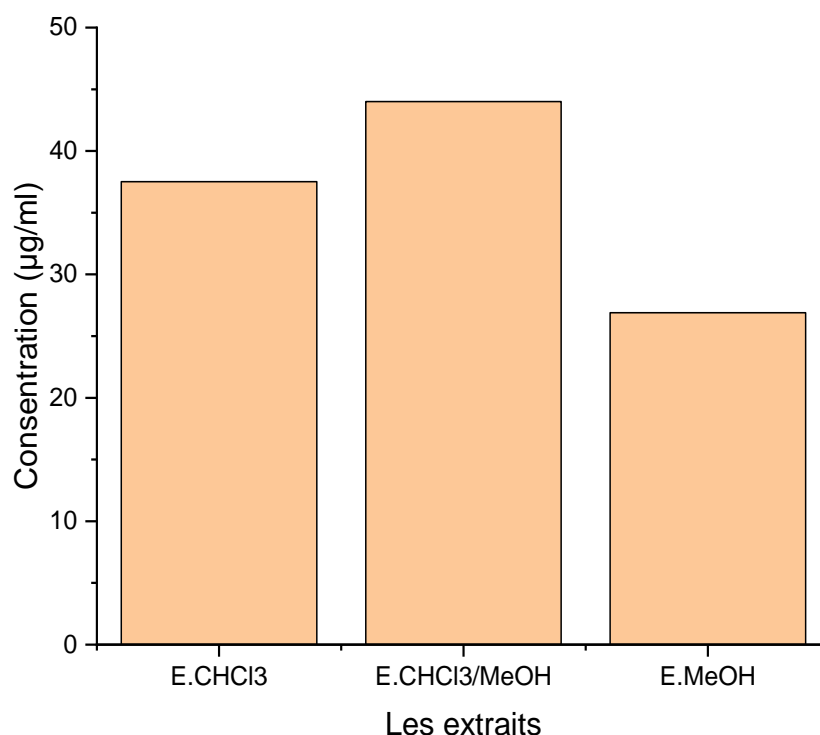
**T<sub>pt</sub>** : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait sec de la plante).

**C** : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (µg/ml),

**V** : Volume de l'extrait (ml),

**M** : Poids sec de l'extrait de la plante (mg).

D'après les résultats présentés dans le tableau (III.4) le test a indiqué la présence des polyphénols dans tous les extraits. Nous remarquons que l'Ext CHCl<sub>3</sub>/MeOH présente la teneur la plus élevée dont la valeur est de  $44 \pm 0.651$  µg EAG/mg PS, suivi par l'Exp CHCl<sub>3</sub> de l'ordre de  $37.51 \pm 1.376$  µg EAG/mg PS, puis l'Exp MeOH avec une teneur de  $26.90 \pm 0.43$  µg EAG/mg PS. Ce résultat, est en accord avec beaucoup d'autres études, qui montrent que la plus grande proportion des composés phénoliques se trouve dans les extraits moyennement polaires. Les résultats sont résumés dans la figure (III.5) suivante:

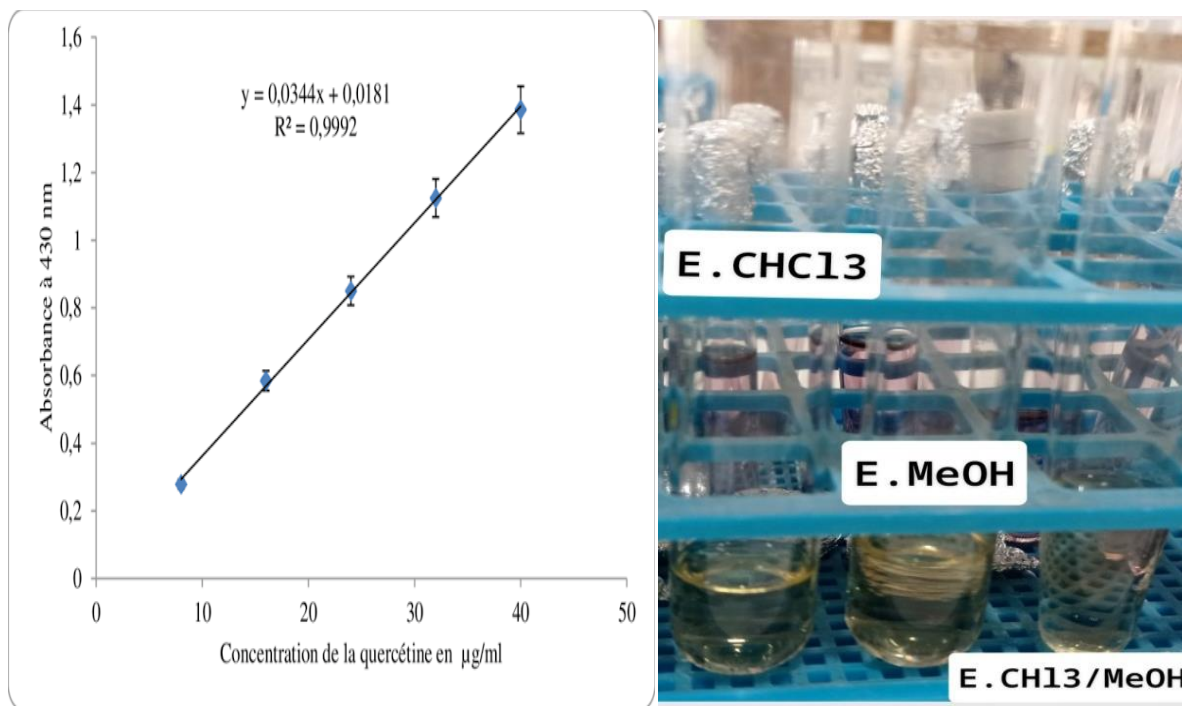


**Figure III.5.** Les histogrammes de la quantité en (µg EAG/mg) des polyphénols dans les trois extraits.

### III.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) qui révèle les flavonoïdes en jaune [7] La quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage figure (III.6), ayant L'équation :  $Y = 0.0344 x + 0.0181 / R^2 = 0,999$

Les analyses quantitatives des flavonoïdes, est déterminé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en µg équivalent quercitine. Les valeurs moyennes de la concentration en flavonoïdes de la partie aérienne sèche de la plante sont représentées dans le tableau (III .5) calculées à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde de 430 nm.



**Figure III.6.** Courbe d'étalonnage de quercétine et dosage des flavonoïdes totaux

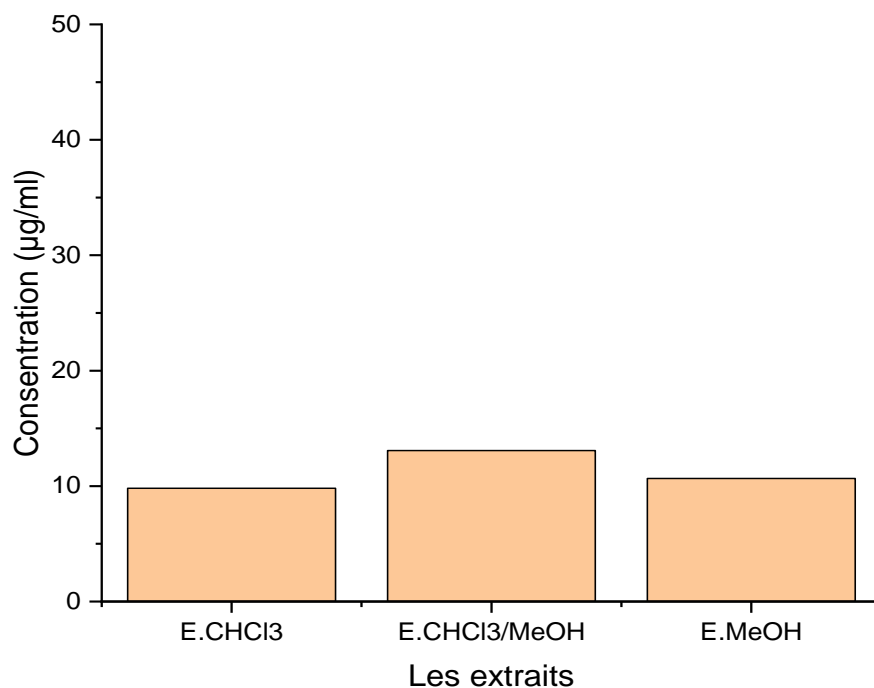
Le tableau III.5 ci-dessous montre les résultats de la teneur en flavonoïdes des extraits :

**Tableau III.5.** Taux des flavonoïdes dans les différents extraits

EXTRAITS	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	MeOH
La teneur en flavonoïdes EQ µg/mg PS	9.82 ± 0.13	13.08 ± 0.61	10.66 ± 0.06

**Q :** Quercétine, **EQ :** équivalent de quercétine, **PS :** Poids sec de l'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions ± SD. Les résultats de la quantification des flavonoïdes comme indique le tableau III.5, tous les extraits montrent la présence de flavonoïdes avec des teneurs varient entre 9.82 ± 0.13 et 13.08 ± 0.61 µg EQ/mg PS le taux le plus élevé a été détecté dans l'E.CHCl<sub>3</sub>/MeOH ce qui indique la richesse des flavonoïdes avec une teneur de 13.08 ± 0.61 µg EQ/mg PS, puis l'E.MeOH avec une teneur de l'ordre de 10.66 ± 0.06 µg EQ/mg PS. Tandis que l'E.CHCl<sub>3</sub> a enregistré une teneur de 9.82 ± 0.13 µg EQ/mg PS. D'après ces résultats, le Chlorométhanolique est le meilleur solvant d'extraction qui a permis d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïdes par apport aux solvants méthanolique et chloroformique. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés sous forme d'histogramme dans la figure (III.7) :



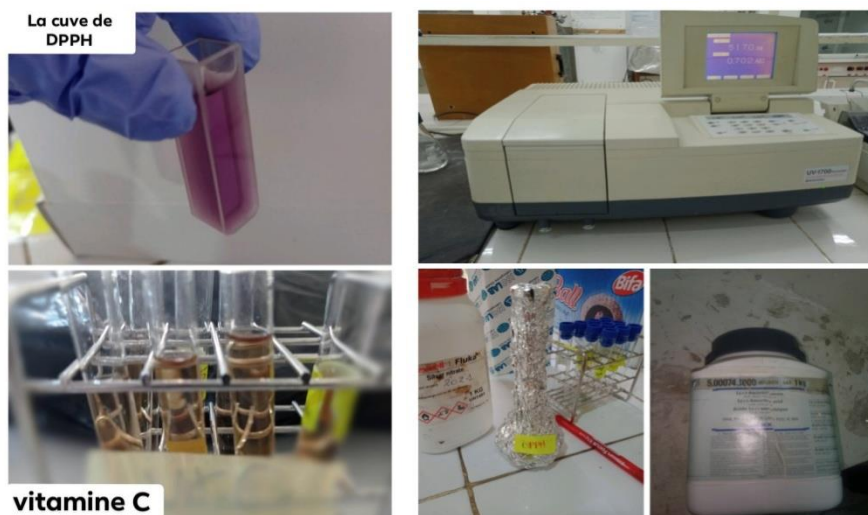
**Figure III.7.** Histogramme représenté les résultats du dosage des flavonoïdes

Les variations observées dans les taux de composés phénoliques et flavonoïdes, dans les différents extraits, pourraient être associées à la quantité de composés présents dans les extraits bruts. De nombreux facteurs pourraient affecter la quantité des contenus phénoliques et flavonoïdes, y compris la période et la zone de récolte du matériel végétal, la procédure d'extraction et l'efficacité des solvants d'extraction. Selon [8] l'utilisation des solvants moyennement polaires pour extraire les composés phénoliques et les antioxydants est préférable à celle des solvants polaires et apolaires, en accord avec les résultats de notre étude [8]. Les composés phénoliques sont des antioxydants naturels qui possèdent des propriétés redox. Ils sont très réactifs et ont la capacité de neutraliser les radicaux libres par des réactions de piégeage et/ou de chélation. La quantification des composés phénoliques dans les extraits bruts pourrait prédire le pouvoir de l'activité antioxydante.

### III.4. Activités biologiques

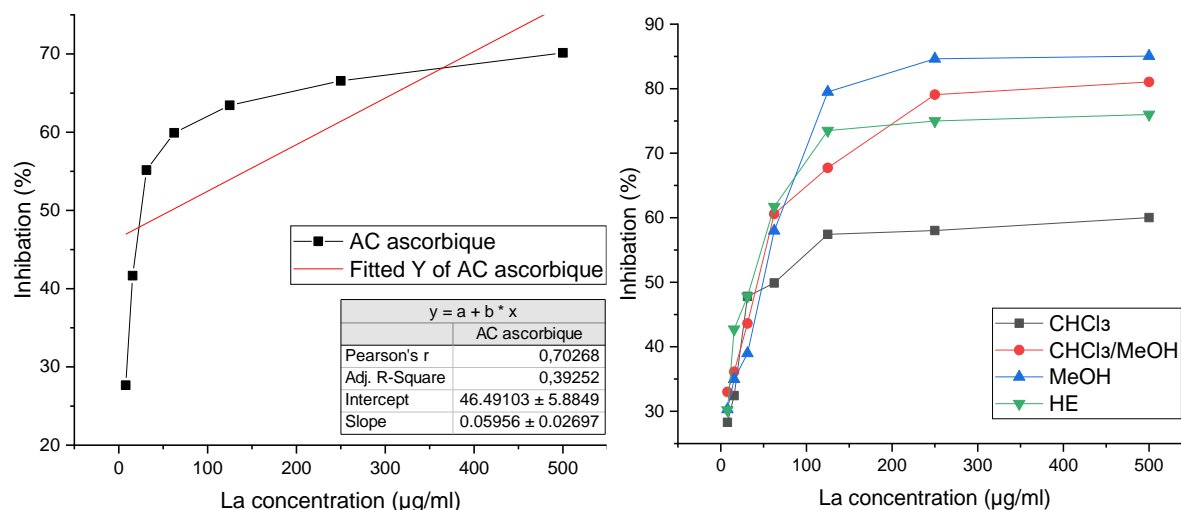
#### III.4.1. Activité antioxydante

Évaluation de pouvoir anti radicalaire par le DPPH des extraits ( $\text{CHCl}_3$ ), ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ), ( $\text{MeOH}$ ) et l'HE de l'*A. herba-alba*. Les activités anti radicalaires des extraits d'*Artemisia* et du témoin positif l'acide ascorbique (vitamine C) ont été déterminées par la méthode au DPPH. On remarque un changement de couleur du violet au jaune pour les trois extraits en augmentant leur concentration, cela veut dire que le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est réduit en présence d'une substance réductrice qui existe dans les extraits.



**Figure III.8.** Activité anti radicalaire (DPPH)

Les résultats obtenus, à une longueur d'onde de 517 nm par spectrophotomètre, ont permis de tracer les graphes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour les différents extraits et l'HE de l'espèce *Artemisia*. Ces courbes montrent que tous les extraits et l'HE ainsi que le standard (vitamine C) figure (III.9) réduisent de manière dosé dépendante le radical DPPH, C'est-à-dire, le pourcentage de réduction augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et l'HE jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration.



**Figure III.9.** Représentation de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH par standard testé en fonction de la concentration et les courbes du pouvoir réducteur de différents extraits et l'HE d'autre coté

Ces résultats ont permis également de déterminer la valeur de l'IC<sub>50</sub> (la valeur qui correspond à 50% d'inhibition) afin de pouvoir évaluer l'activité des extraits et l'HE vis-à-vis du standard tableau( III.6).

**Tableau III.6.** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits et l'HE d'*A.herba alba*

Les extraits	E.CHCl <sub>3</sub>	E.CHCl <sub>3</sub> /MeOH	E.MeOH	HE	Vitamine C
IC <sub>50</sub> (mg/ml)	187.93	62.88	61.014	33.744	59.49

D'après les résultats des valeurs de IC<sub>50</sub> mentionnés dans l'extrait méthanolique a montré un pouvoir antioxydant puissant leur IC<sub>50</sub> est 61.014 µg/ml comparativement à la IC<sub>50</sub> de la solution standard de l'acide ascorbique qui est de 59.49 µg/ml. Puis l'extrait Chlorométhanolique qui présente une activité antioxydante moyenne avec une IC<sub>50</sub>=62.88 µg/ml mais relativement faible que celle de l'acide ascorbique. L'extrait chloroformique a montré un pourcentage d'inhibition le plus faible avec IC<sub>50</sub>=187.93 µg/ml. Pour l'HE d'*A.herba alba*, elle a montré un pouvoir antioxydant où leur IC<sub>50</sub> est 33.744 µg/ml comparativement à la IC<sub>50</sub> de la solution standard de l'acide ascorbique =59.49 µg/ml. Ce qui provoque que l'HE de notre plante est le plus préférable qui possède des propriétés redox par rapport aux extraits. Les résultats de pourcentage d'inhibition du DPPH par différents extraits et l'HE sont résumés dans la figure (III.9). D'autre part, ce résultat est en bon accord avec les données du dosage des polyphénols totaux qui montrent une richesse remarquable de l'extrait Chlorométhanolique.

### III.4.2. L'activité antimicrobienne

#### III.4.2.1. L'activité antibactérienne et antifongique

Après incubation de 24h à 37°C, les boîtes pétries ont été récupérées afin de mesurer les diamètres des zones d'inhibition des extraits (CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, et MeOH) et d'HE sur les cinq souches bactériennes testées. Et après incubation de 48h-72h heures à 25°C, les boîtes pétries ont été récupérées afin de mesurer les diamètres des zones d'inhibition des extraits sur les deux champignons testés. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau (III.7) et le tableau (III.8).

**Tableau III.7** Résultats de l'antibiogramme des extraits d'*A. herba-alba*

Les extraits		E.CHCl <sub>3</sub>		E.CHCl <sub>3</sub> /MeOH		E.MeOH		Témoin +		Témoin -	
Les souches		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
<b>M H</b>	<i>E. coli</i>	15	+	12	+	11	+	24	++	/	-
	<i>S. enterica</i>	9	+	9	+	11	+	24	++	/	-
	<i>P. aeuruginosa</i>	10	+	10	+	12	+	20	++	/	-
	<i>S. aureus</i>	14	+	12	+	10	+	26	++	/	-
	<i>B. cereus</i>	12	+	11	+	9	+	22	++	/	-
<b>G D S</b>	<i>C. albicans</i>	13	+	11	+	14	+	13	+	/	-
	<i>A. niger</i>	11	+	9	+	13	+	20	++	/	-

**Tableau III.8.** Résultats de l'antibiogramme d'HE d'*A. herba-alba*

HE dilué		E <sub>1</sub> pur		E <sub>2</sub>		E <sub>3</sub>		E <sub>4</sub>		Témoin (+)		Témoin (-)	
		100%		50%		25%		12.5%					
Les souches		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
MH	<i>E. coli</i>	12	+	9	+	10	+	11	+	24	++	/	-
	<i>S. enterica</i>	13	+	9	+	9	+	12	+	24	++	/	-
	<i>P. aeuruginosa</i>	15	+	13	+	9	+	12	+	20	++	/	-
	<i>S. aureus</i>	13	+	12	+	9	+	8	+	26	++	/	-
	<i>B. cereus</i>	13	+	12	+	9	+	14	+	22	++	/	-
GDS	<i>C. albicans</i>	7	-	12	+	9	+	14	+	13	+	/	-
	<i>A. niger</i>	9	+	17	++	13	+	12	+	20	++	/	-

**DMSO** : Contrôle négatif ; **C** : concentration ; **D** : diamètre de la zone d'inhibition ;

**S** : Sensibilité ; - : Résistante ; + : Sensible ; ++ : Très Sensible.

Les résultats de l'activité antibactérienne dans le tableau (III.7) et le tableau (III.8) montrent que les réponses sont très variables en fonction de la souche testée, du type d'extrait plus d'HE et de la concentration utilisée. Le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en millimètre [9], est mesuré à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse pour les différentes concentrations des trois extraits et HE autour des disques. On définit la sensibilité d'un germe comme étant nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 le germe est très sensible [9].

➤ L'extrait chloroforme montre une bonne activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 15 mm, 14 mm et une activité moyenne avec le reste des souches bactériennes et les champignons.

➤ L'extrait Chlorométhanolique ayant une activité antibactérienne modéré contre les cinq souches bactériennes et les champignons avec un diamètre d'inhibition de 12, 9, 10, 12, 11, 11 et 9 mm respectivement selon le tableau (III.7).

➤ L'extrait méthanolique a montré une bonne activité antibactérienne contre *C. albicans* et *A. niger* avec des diamètres d'inhibition de 14 mm et 13 mm respectivement. Le même extrait montre une réponse moyenne contre les cinq souches bactériennes avec des diamètres d'inhibition de 11, 11, 12, 10, 9 mm respectivement selon le tableau (III.7).

➤ Et pour l'HE pur selon le tableau III.8 on observe qu'E1 donne une bonne activité antibactérienne sur *P. aeuruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 15 mm, elle ne donne

aucune activité sur le champignon *C.albicans* mais elle donne une activité modérée avec le reste des souches.

- Pour la dilution 50% (E<sub>2</sub>), elle donne une bonne activité antibactérienne sur le champignon *A.niger* avec un diamètre d'inhibition de 17 mm et une activité modérée sur le reste des souches.

- Pour la dilution 25%, (E<sub>3</sub>), elle donne une activité antibactérienne modérée avec tous les champignons et les souches.

- Pour la dilution 12.5% (E<sub>4</sub>), elle donne une bonne activité antibactérienne sur *B.cereus* et *C.albicans* avec le même diamètre d'inhibition 14 mm, et elle donne pour le reste une activité antibactérienne modérée.

En ce qui concerne l'antibiotique qui a fait l'objet de notre étude **Gentamicine10** il a donné des bonnes résultats sur la majorité des souches étudiées et particulièrement sur la souche avec *S.aureus* avec une zone d'inhibition de 26 mm Gram (+), et pour l'antibiotique des champignons **Econazole**, il donne de bons résultats sur *A.niger* avec un diamètre d'inhibition de 20 mm le tableau (III.9) et le tableau (III.10).

**Tableau III.9.** Les résultats de l'activité antifongique





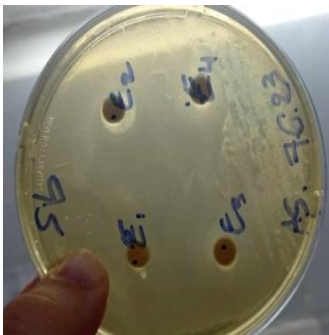



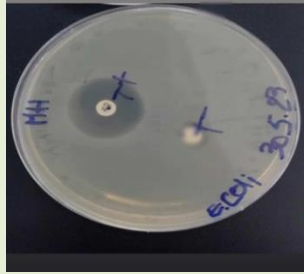





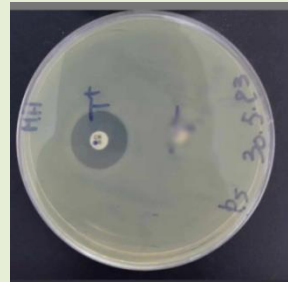






Les champignons	Les extraits	L'HE	Témoin
<i>C.albicans</i>			
<i>A.niger</i>			



Tableau III.10. Les résultats de l'activité antibactérienne

Bactéries	Les extraits	L'HE	Témoin
<i>E. coli</i>			
<i>S. enterica</i>			
<i>P. aeruginosa</i>			
<i>S. aureus</i>			
<i>B. cereus</i>			

D'après les résultats mentionnés dans les tableaux (III.7) et (III.8) précédents, on peut tirer les points suivants:

✓ Les champignons *C.albicans*, *A.niger* sont sensibles à une concentration de 100 µg/ml pour l'extrait méthanol donc il ya une activité antifongique, et les souches *E. coli* et *S.aureus* sont sensibles à la même concentration pour l'extrait chloroformique, il ya une activité antimicrobienne.

✓ Pour l'extrait Chlorométhanolique toutes les souches et les champignons donnent une sensibilité moyenne à une concentration de 100 µg/ml.

✓ Pour les résultats d'huile essentielle, *P.aeuruginosa* est sensible et *C.albicans* est résistante à une concentration 1500 µg/ml pour l'huile pure, il ya une activité antimicrobienne.

✓ *A.niger* est sensible à une concentration 750 µg/ml pour la dilution de 50%, il ya une activité antifongique.

✓ Toutes les souches et les champignons donnent une sensibilité moyenne a une concentration de 375 µg /ml pour la dilution de 25%, donc il y a une activité antimicrobienne et antifongique moyenne.

✓ *B.cereus* et *C.albicans* sont sensibles à une concentration 187,5 µg/ml pour la dilution de 12,5% donc il ya une activité antimicrobienne et antifongique.

## Références bibliographiques:

- [1] Bouzidi, 2016 Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche «*Artemisia herba alba* Asso » Université Mustapha Stambouli de MASCARA.
- [2] Bezza L, Mannarino A, Fattarsi K, Mikail C, Abou L, Hadji-Minaglou F, and Kaloustian J. 2010. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phyto thérapie*. 8(5):277-281.
- [3] Rachid B, Loubna r, Jose B, Luis G P, A Cristina F 2014 Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assesement and comparaison with updated literature survey. *Arabian journal of chemistry*, 7(2):243-251.
- [4] Sofia S, Luis R V, Joaquín A, Manuel N, Aldolfo S, Eusebio C 2004 Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain .*Biochemical systematic and ecology*.32(3) :265-277.
- [5] Mohsen H et Ali F 2009 Essential oil composition of *Artemisia herb-alba* from southern Tunisia, *Molecules* 14(4):1585-1594.
- [6] Hudaib M.H et Aburjai T.A. 2006. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan.*Journal of essential oil research*, 18(3):301-304.
- [7] Ribéreau G, P.,1968 Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, ed., Paris.
- [8] Abdenassar H 2012, Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L*, Département de biochimie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas.
- [9] Durafford C.,D'Hervicourt L.,Lapraz J .C 1990 Cahiers de phytothérapie clinique,Examen de laboratoire galénique,Elément thérapeutiques synergiques, 2ème Ed Masson , Paris,v :78.

## Conclusion et prescriptives

Dans ce mémoire, l'étude quantitative et qualitative de la plante *A.herba alba*, une flore algérienne. Cette plante fait partie de la famille Asteraceae, qui est célèbre pour sa richesse en composés phénoliques tels que les flavonoïdes qui possèdent plusieurs activités biologiques. Deux parties expérimentales distinctes composent notre étude sur la plante médicinale *A.herba alba* : l'étude phytochimique et biologique.

- ❖ L'extraction de l'HE d'*A.herba alba* a été effectuée par hydrodistillation, on utilise l'appareil de « Clevenger », et elle a mené un rendement égal à 0.86%.
- ❖ L'extraction de la plante d'*A.herba alba* sèche par la macération à froid à partir de trois extraits (CHCl<sub>3</sub>, MeOH, et CHCl<sub>3</sub>/MeOH) qui donne des rendements correspondants à la polarité des solvants utilisés où on remarque un bon rendement (39.23%) pour l'extrait Chlorométhanolique, et le reste d'extraits a donné des rendements acceptables égale à (11.69 %) et ( 8%) successivement.
- ❖ Le screening phytochimique réalisé sur les différents extraits a montré la présence des flavonoïdes, des tanins galliques, des quinones, des triterpènes, des saponines et des terpènes et des stérols et des anthraquinones ainsi que l'absence totale des tannins catéchique des coumarines et des alcaloïdes.
- ❖ La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les trois extraits, indique que l'extrait Chlorométhanolique et chloroformique de la plante étudiée sont les plus riches en composés phénoliques, alors que les teneurs en flavonoïdes, l'extrait Chlorométhanolique révélé la teneur plus élevée par rapport à l'extrait méthanolique et chloroformique.
- ❖ Pour l'activité antioxydante de différents extraits et de l'HE a été évaluée par la méthode du : test de réduction du radical libre DPPH. Les résultats ont montré que pour le test de réduction du radical libre DPPH, l'activité anti radicalaire est élevée dans l'extrait plus polaire , par contre elle est faible pour les deux autres extraits .En effet, la capacité antioxydante la plus élevée a été observée dans l'HE d'*A.herba alba* après l'extraits plus polaires de Chlorométhanolique avec l'extrait méthanolique qu'ils sont très proche, par contre l'activité d' extraits chloroformique est trop loin .
- ❖ Pour l'activité antimicrobienne, pour les extraits il est observé une bonne activité antifongique pour l'extrait méthanol et une bonne activité antibactérienne pour l'extrait chloroformique, et pour l'extrait Chlorométhanolique on note une activité antibactérienne et antifongique moyenne. Pour notre HE, dans le cas d'HE pure (1500µg/ml) on observe une très bonne activité antibactérienne, dans une concentration de 750 µg/ml il y a une activité antifongique, il y a une activité antibactérienne et antifongique moyenne a une concentration de 375 µg/ml et une activité antifongique et antibactérienne dans une concentration de 87,5µg/ml.

Il est possible de considérer plusieurs projets dans le cadre des travaux déjà terminés.

- Recherches supplémentaires sur la plante pour déterminer sa toxicité, ses effets indésirables, etc.

- Des tests biologiques supplémentaires seront nécessaires pour confirmer les activités nouvelles et utiles de cette plante.
- Faire des études précliniques in vivo pour confirmer les résultats in vitro.
- La purification, la caractérisation structurelle et la détermination de l'effet bioactif des composés isolés sont nécessaires car nous traitons un extrait plutôt qu'un composé pur.