

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de  
l'Univers  
Département de BIOLOGIE



## MÉMOIRE

Présenté par

**Chekaf Khedidja**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Science Alimentaire Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité

**Thème**

**Evaluation des propriétés biologiques des extraits sous  
reflux et ultrason d'*Artemisia campestris* L.**

Soutenu le 26/06/2023 , devant le jury composé de :

Présidente	Mme. Loukidi Bouchra	Pr.	Université de Tlemcen
Encadrant	Mr. Belyagoubi Larbi	MCA.	Université de Tlemcen
Examineur	Mme. Belyagoubi Benhammou Nabila	Pr.	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2022/2023**

## **REMERCIEMENTS**

*Tout d'abord je remercie le dieu de m'avoir donné la force et la patience tout au long de la durée de travail sur ce thème.*

*Je désire remercier Mr. Belyagoubi Larbi, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Tlemcen pour son encadrement, pour ses orientations et sa patience.*

*Mes vifs remerciements à Mme. Belyagoubi-Benhammou Nabila, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour son encouragement, ses précieux conseils, sa disponibilité, sa compétence et son engagement.*

*Mes plus sincères remerciements à Mme. Loukidi Bouchra, Professeur à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également mes vifs remerciements à la doctorante Boucif Ouarda pour ses encouragements, ses conseils et sa précieuse aide.*

*Mes remerciements à la doctorante Sherazade El Arbi pour son aide.*

*Sincères remerciements à la doctorante Nouria Meliani pour son aide précieuse.*

*Mes remerciements à tout le staff technique du laboratoire des Produits Naturels et les ingénieurs du laboratoire de Microbiologie 2.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mes parents pour leur patience, leurs encouragements et leurs sacrifices.*

*A mes frères Soufiane, Yassine et Anas.*

*A tous les enfants de la famille.*

*A Farah et son petit Anas, merci d'être toujours là.*

*A les familles Chekaf et Derni.*

*A Fatima, Amani et Kenza, merci pour le beau moment que nous avons partagé.*

*A Chahinez, Nora, Aya, Nour El Houda, Lidya.*

*A tous les camarades de classe depuis le premier jour d'école jusqu'à aujourd'hui.*

*A tous ceux qui ont laissé un bon impact dans ma vie.*

*A vous tous*

## المخلص

تنمي نبتة *Artemisia campestris* إلى عائلة الأستيراسيا. تتوزع في جميع العالم، خاصة في المناطق القاحلة و شبه قاحلة. و هي معروفة بخصائصها العلاجية و الطبية. تستعمل هذه النبتة في الجزائر لعلاج الاضطرابات الهضمية، ارتفاع السكر في الدم و ارتفاع ضغط الدم. في هذه الدراسة تم تحضير اربعة مستخلصات بطريقتين (الاستخلاص عن طريق الاسترجاع و الاستخلاص عن طريق الموجات الصوتية 35كهزمع الهكسان و مزيج المذيبات. تم القيام أيضا بالدراسة الفيتوكيميائية و دراسة القدرة المضادة للأكسدة و المضادة للميكروبات. أظهرت النتائج ثراءً في المركبات الفينولية ، ولا سيما الفلافونويد ، بحد أقصى  $93.35 \pm 10.69$  ملجم / مجم EC. ES. يتراوح إجمالي محتوى الفينول بين  $2.48 \pm 38.79$  إلى  $185.35 \pm 9.20$  مجم / مجم EAG. ES. أظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال الاختبارين (CAT و DPPH) أن مستخلص UMD35 يحتوي على أعلى تركيز لمركبات مضادات الأكسدة  $361.82 \pm 0.40$  مجم / مجم EAG و أظهر مستخلص UMS35 أنه أقوى من باقي المستخلصات في حبس الجذور الحرة بأقل قيمة  $EC_{50} = 1.90 \pm 0.26$  مجم / مل . (وجد أن التأثير المضاد للميكروبات فعال للغاية ضد الخميرة  $7.8 \pm 0.2$  مموثنشاطية ضد البكتيريا سالبة الجرام.

**الكلمات المفتاحية:** *Artemisia campestris*, الاستخراج ، قوة مضادات الأكسدة ، قوة مضادات الميكروبات.

## Résumé

*Artemisia campestris* est une plante de la famille des Astéracées, elle est distribuée partout dans le monde, en particulier dans les régions arides et semi-arides. Elle est connue pour ses propriétés thérapeutiques et médicinales. En Algérie, cette plante est utilisée pour traiter les troubles digestifs, l'hyperglycémie et l'hypertension artérielle. Dans cette étude, quatre extraits ont été préparés par deux méthodes d'extraction (souffle reflux et ultrason 35 KHz) avec l'hexane et un mélange de solvants. L'étude phytochimique et les pouvoirs antioxydant et antimicrobien sont investigués. Les résultats ont montré une richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes avec un maximum de  $93.35 \pm 10.69$  mg EQ/g ES. La teneur en phénols totaux varie entre  $38.79 \pm 2.48$  à  $185.35 \pm 9.20$  mg EAG/g ES. L'évaluation de l'activité antioxydante par les deux tests (CAT et DPPH) a montré que l'extrait UMD35 possède la concentration la plus élevée en composés antioxydants ( $361.82 \pm 0.40$  mg EAG/g ES) et l'extrait UMS35 a montré une capacité antiradicalaire plus élevée par rapport à la reste des extraits avec la valeur la plus faible  $EC_{50}$  ( $1.90 \pm 0.26$  mg/ml). L'effet antimicrobien révèle que l'extrait ERE montre une activité antifongique contre *Candida albicans* ( $7.8 \pm 0.2$  mm) et un pouvoir intéressant des extraits UMS35 et UMD35 avec les bactéries Gram négatif.

**Mots clés :** *Artemisia campestris*, Extractions, Pouvoir antioxydant, Pouvoir antimicrobien.

## **Abstract**

*Artemisia campestris* is a plant of the Asteraceae family, it is distributed all over the world, especially in arid and semi-arid regions. It is known for its therapeutic and medicinal properties. In Algeria, this plant is used to treat digestive disorders, hyperglycemia and high blood pressure. In this study, four extracts were prepared by two extraction methods (under reflux and 35 KHz ultrasound) with hexane and a mixture of solvents. The phytochemical study and the antioxidant and antimicrobial powers are investigated. The results showed a richness in phenolic compounds, in particular flavonoids, with a maximum of  $93.35 \pm 10.69$  mg QE/g DE. The total phenol content varies between  $38.79 \pm 2.48$  to  $185.35 \pm 9.20$  mg GAE/g DE. The evaluation of the antioxidant activity by the two tests (CAT and DPPH) showed that the UMD35 extract has the highest concentration of antioxidant compounds ( $361.82 \pm 0.40$  mg GAE / g DE) and the UMS35 extract showed a higher antiradical capacity compared to the rest of the extracts with the lowest  $EC_{50}$  value ( $1.90 \pm 0.26$  mg/mL). The antimicrobial effect reveals that the ERE extract shows an antifungal activity against *Candida albicans* ( $7.8 \pm 0.2$  mm) and an interesting power with Gram-negative bacteria.

**Keywords :** *Artemisia campestris*, Extractions, Antioxidant power, Antimicrobial power.

## Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	I
<b>Dédicace</b> .....	II
<b>Résumé</b> .....	III
<b>Liste des photos</b> .....	IV
<b>Liste des figures</b> .....	V
<b>Liste des tableaux</b> .....	VI
<b>Généralités</b> .....	1
<b>Matériel et Méthodes</b> .....	7
1. Matériel.....	8
1.1. Matériel végétale.....	8
2. Méthodes.....	8
2.1. Extraction.....	8
2.1.1. Extraction sous reflux.....	8
2.1.2. Extraction par ultrason couplé à la macération.....	9
2.1.3. Calcul du rendement.....	10
2.2. Analyses quantitatives des extraits.....	10
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	10
2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	10
2.2.3. Dosage des flavonols.....	11
2.2.4. Dosage des tanins condensés.....	11
2.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	11
2.3.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	11
2.3.2. Test du piégeage du radical libre (DPPH).....	12
2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	12
2.4.1. Souches testées.....	12

2.4.2. Conservation des souches.....	13
2.4.3. Milieux de culture.....	13
2.4.4. Les antibiotiques utilisés.....	13
2.4.5. Les antifongiques utilisés.....	13
2.4.6. Préparation de l'inoculum.....	13
2.4.7. Ensemencement.....	14
2.4.8. Application des disques d'antibiotiques.....	14
2.4.9. Lecture.....	14
2.4.10. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits d' <i>A. campestris</i> .....	15
2.4.10.1. Méthode de diffusion sur gélose.....	15
2.4.10.2. Détermination des concentrations inhibitrices (CMI et CMB).....	15
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>17</b>
1. Rendement d'extraction.....	18
2. Analyse quantitative.....	18
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	19
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	20
2.3. Dosage des flavonols.....	21
2.4. Dosage des tanins condensés.....	21
3.1. Activité antioxydante.....	22
3.1.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	22
3.1.2. Test de DPPH.....	23
3.2. Activité antimicrobienne.....	24
3.2.1. Méthode de diffusion sur gélose.....	24
3.2.2. Détermination des concentrations inhibitrices et bactéricide.....	26
<b>Relation structure activité.....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>28</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>30</b>

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection.

**DMSO** : Dimethyl sulfoxide.

**CAT** : Capacité antioxydante totale

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**EAG** : Équivalent d'acide gallique.

**EQ** : Équivalent de quercétine.

**EC** : Équivalent de catéchine.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CMB** : Concentration Minimale bactéricide.

**EC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice 50%.

## Liste des photos

<b>Photo 1</b> : La plante <i>A. campestris</i> .....	4
<b>Photo 2</b> : La partie aérienne d' <i>A. campestris</i> .....	7
<b>Photo 3</b> : Montage extraction sous reflux.....	8
<b>Photo 4</b> : Evaporateur rotatif.....	8

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Artémisinine et ses dérivés.....	2
<b>Figure 2:</b> Répartition géographique d' <i>A. campestris</i> .....	3

## Liste des tableaux

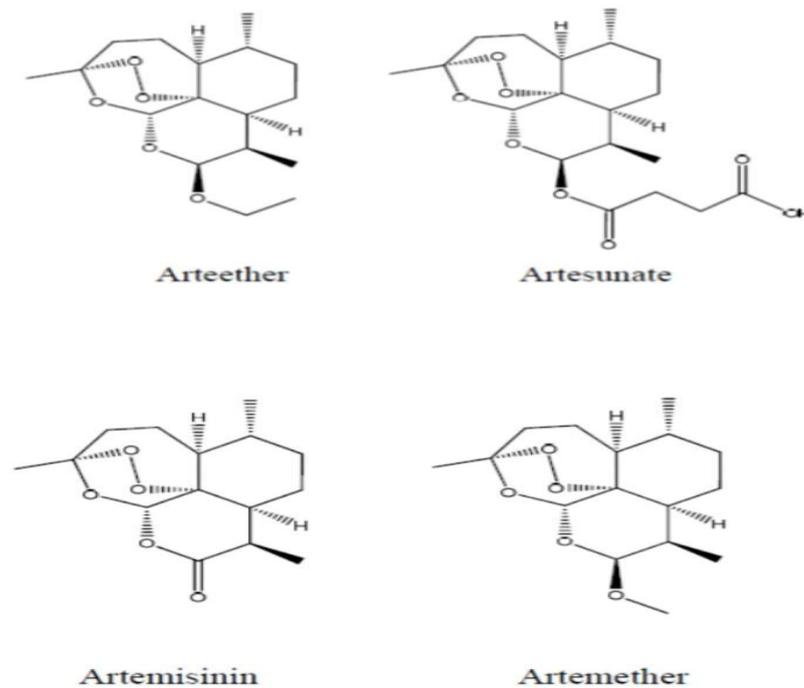
<b>Tableau 1</b> : Les souches microbiennes utilisées dans l'activité antimicrobienne.....	12
<b>Tableau 2</b> : Concentrations et masses des extraits dans les puits.....	15
<b>Tableau 3</b> : Rendement des extraits.....	17
<b>Tableau 4</b> : Teneurs en phénols totaux des extraits d' <i>A. campestris</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction et solvants.....	18
<b>Tableau 5</b> : Teneurs en flavonoïdes des extraits d' <i>A. campestris</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction et solvants.....	19
<b>Tableau 6</b> : Teneurs en flavonols des extraits d' <i>A. campestris</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction et solvants.....	20
<b>Tableau 7</b> : Teneurs en tanins condensés des extraits d' <i>A. campestris</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction et solvants.....	21
<b>Tableau 8</b> : :Capacité antioxydante totale des extraits d' <i>A. campestris</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction et solvants.....	22
<b>Tableau 9</b> : : Concentrations EC <sub>50</sub> du test de DPPH des 4 extraits d' <i>A. campestris</i> par rapport au contrôle positif (AA).....	23
<b>Tableau 10</b> : Diamètres des zones d'inhibition (mm).....	25
<b>Tableau 11</b> : Les valeurs des CMI et CMB.....	27

# ***Généralités***

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) a commencé depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours, et leur utilisation a évolué au fil du temps.

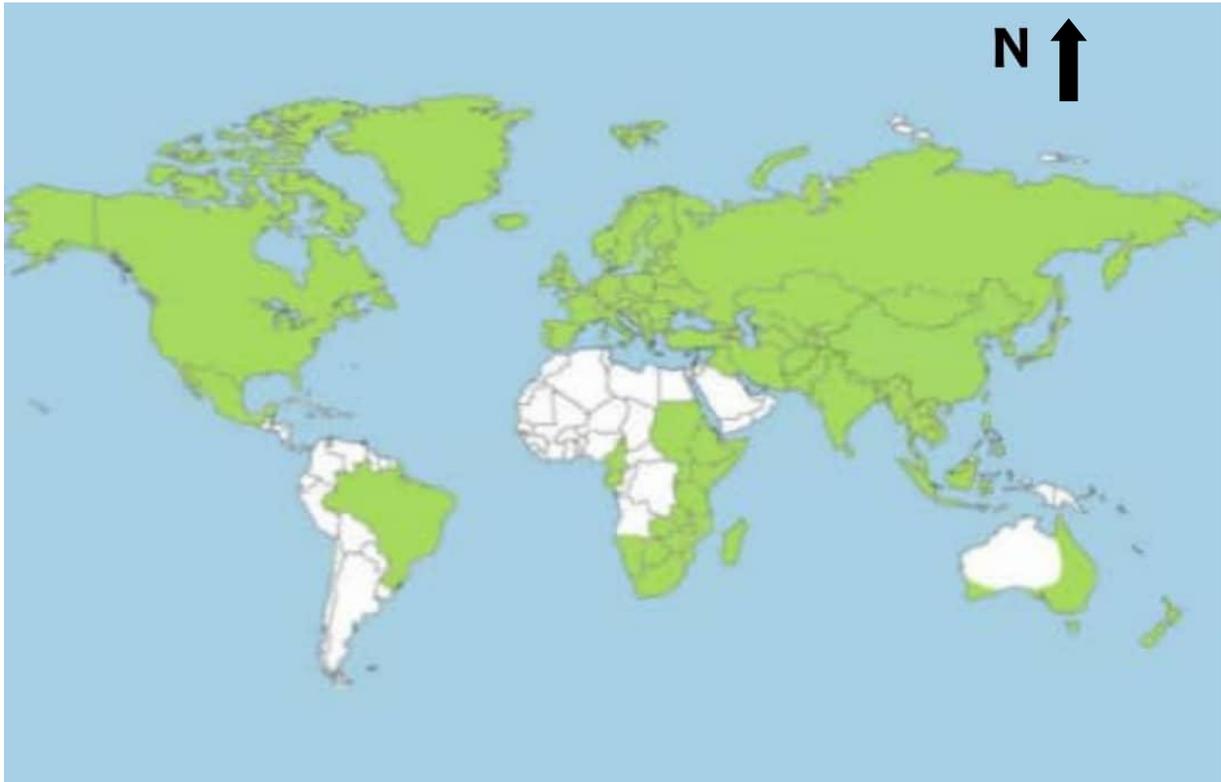
Aujourd'hui, les PAM sont utilisées dans les industries pharmaceutique, alimentaire, de la parfumerie et de la cosmétique, en raison des substances actives produites par les métabolites secondaires des plantes. Dans le monde, il existe environ 35 000 espèces de plantes, alors qu'en Algérie, il existe environ 3 510 espèces, et la répartition de ces espèces varie en fonction du climat et du sol de la région (Mouas et al., 2017).

Parmi ces plantes qui constituent un large intérêt pour la recherche scientifique et les industries pharmaceutiques et alimentaires figurent les plantes du genre *Artemisia*, surtout après que Tu Youyou a remporté le prix Nobel de médecine en 2015 après avoir utilisé l'artémisinine (Figure 1) pour traiter le paludisme (Xin-Zhuan et Louis., 2015).



**Figure 1** : Artémisinine et ses dérivés (Assogba, 2020).

Le genre *Artemisia* a été utilisé dans médecine populaire traditionnelle pour traiter le paludisme, l'asthme, les rhumatoïdes arthrite, l'hépatite, cancer, les inflammations, les infections fongiques, Bactérienne et virale (Boutemak et al., 2017). Il existe plus de 500 espèces appartenant au genre *Artemisia*, qui se répand en Amérique de Nord, en Europe et en Asie. La localisation de ces espèces varie entre les steppes, les zones arides sèches ou les zones côtières (Ivănescu et al., 2021).



● Les espèces d'*Artemisia* sont largement distribuées dans les régions tempérées d'Amérique du Nord (Mexique, USA, Canada), Méditerranée, Asie, Afrique et l'Australie.

**Figure 2:** Répartition géographique d'*A. campestris* (Koul et al., 2017).

Parmi les 11 plantes *Artemisia* qui appartiennent à la flore algérienne, on trouve *Artemisia campestris* qui se trouvent dans les régions semi-arides et arides aux climats secs (Boutemak et al., 2017). Cette plante appelée localement "dgouft" est une herbe aromatique appartenant à la famille des astéracées, atteint une longueur de 1 m. Elle est répandue en Afrique du Nord et dans certaines régions de la méditerranée (Ghliissi et al., 2016). En Algérie, les parties aériennes de cette plante sont largement utilisées en médecine traditionnelle comme antitoxine et anti-inflammatoire. Les feuilles sont préparées sous forme décoction ou d'infusion, ou réduites en poudre, et sont parfois ajoutées aux sauces alimentaires afin de réguler la circulation sanguine des femme enceintes (Boukhalfa et al., 2023).



**Photo 1 :** La plante *A. campestris* (Benchohra et al., 2022).

*A. campestris* est riche en minéraux tels que Ca, Fe, Mg, Fe, Na, Cd, Cr, Li, Mo, Ni, Pb (Zahnit et al., 2022) et en composés organiques flavonoïdes, alcaloïde, polyphénols, tanins, coumarine, terpènes, saponines (Benchohra et al., 2022).

Des études antérieures ont montré la capacité de la plante *A. campestris* à traiter les troubles digestifs, ainsi que la capacité antioxydante élevée de cette plante, son activité anticancéreuse en empêchant la multiplication des cellules cancéreuses, et sa capacité en tant qu'agent antimicrobienne puissant (Aloui et al., 2016).

Dans l'étude menée par Zahnit et al. (2022) sur *A. campestris* de la région de Tamanrasset-Algérie, cette plante possède une forte activité antioxydante et propriétés anti-enzymatiques (antidiabétique et anti-obésité) notable. Cette étude a prouvé que la plante a des propriétés médicales, alimentaires, nutritionnelles et pharmaceutiques.

Benchohra et al. (2022) ont prouvé la richesse des racines, des tiges et des feuilles d'*A. campestris* en substances phénoliques de la région d'El Bayadh et que les feuilles et les tiges détiennent un puissant effet antioxydant et anti-inflammatoire.

Une étude a été menée sur les résultats de l'utilisation des feuilles d'*A. campestris* pour traiter la bronchite aiguë, qu'elle soit causée par une bactérie ou un virus par deux manières, soit en buvant l'extrait de plante, soit en inhalant la poudre de feuilles pendant trois jours sur un groupe de patients. Les résultats enregistrés ont montré une diminution du niveau de la bronchite chez les patients (Ben-Nasr et al., 2022).

Dans une étude *in vivo* menée par Marghich et al. (2022) sur l'extrait hydro-éthanolique et l'extrait aqueux de la plante *A. campestris* d'Oujda au Maroc, les auteurs ont prouvé la

capacité des deux extraits à inhiber l'action de l'alpha-glucosides et l'alpha-amylase (enzymes digestives) et empêchent l'absorption du glucose, ce qui entraîne une baisse de la glycémie après les repas chez les rats testés. Les résultats de cette étude expliquent l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle pour traiter le diabète.

En 2017, **Saoudi et al.** ont conclu que l'huile essentielle d'*A. campestris* de la région de Kasserine Tunisie possède des propriétés antioxydantes à protéger et à traiter le tissu hépatique des rats traités à la deltaméthrine (substance toxique utilisée comme insecticide). Cette huile essentielle a augmenté l'activité des enzymes antioxydantes qui éliminent l'oxydation de la graisse du foie, ce qui a entraîné une diminution des dommages au tissu hépatique.

Dans une étude élaborée par **Baraket et al. (2015)** sur l'effet de methidathion sur les rats et la capacité de l'extrait aqueux d'*A. campestris* de la région de Tebessa à traiter l'effet de cette substance sur les reins des rats. Les chercheurs ont constaté que l'extrait d'*A. campestris* a la capacité de réduire la toxicité de cette substance en augmentant les enzymes antioxydantes.

L'étude de **Dib et al. (2017)** a démontré la présence du composé spathulenol dans l'huile essentielle de la plante *A. campestris* de l'est du Maroc. Ce composant agit pour réduire le pourcentage de calcium dans la cellule, ce qui empêche le rétrécissement des vaisseaux sanguins et leur permet de s'élargir. Ce composé possède des propriétés anticoagulantes, vasodilatatrices et antioxydantes.

D'autres travaux ont montré que l'huile essentielle d'*A. campestris* a des propriétés insecticides, en particulier pour les larves de moustiques (**Ammar et al., 2020**) et des activités antimicrobienne et antifongique remarquables contre les champignons qui provoquent des infections du tractus gastro-intestinal (**Boukhalfa et al., 2023**).

Notre travail porte sur l'étude de l'extraction des molécules bioactives issus de deux différentes méthodes d'extraction (sous reflux et ultrason couplé à macération). Le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins condensés) et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne ont été réalisés.

# ***Matériel et Méthodes***

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétale

La plante *A. campestris* a été récoltée au mois de Juillet dans la Wilaya de Tiaret (Le nord-ouest de l'Algérie). La plante a été identifiée au niveau du laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen).

La partie aérienne a été nettoyée, séchée et protégée à l'abri de la lumière et l'humidité.

Les feuilles d'*A. campestris* ont été bien broyées à l'aide d'un broyeur manuel pour obtenir une poudre pour utiliser dans l'extraction.



**Photo 2** : La partie aérienne de la plante *A. campestris*.

## 2. Méthodes

### 2.1. Extraction

Dans ce processus, deux différentes méthodes d'extraction ont été utilisées : l'extraction sous reflux et l'extraction par ultrasons couplé à la macération.

#### 2.1.1. Extraction sous reflux

Le principe d'extraction sous reflux permet d'accélérer la réaction par le chauffage et empêche la dégradation des principes actifs, volatils ou thermolabiles car le réfrigérant sert à condenser les vapeurs formés et les faire retomber dans le ballon rodé (Afri-Mehennaoui et al., 2007)

#### -Mode opératoire

5g de matière sèche ont été mélangés avec 50 ml d'hexane dans un ballon rodée. L'extraction a été effectuée à la température d'ébullition dans un extracteur à reflux. À la fin de l'extraction,

le mélange obtenu a été filtré puis évaporé en utilisant un évaporateur rotatif.



**Photo 3 :** Montage d'extraction sous reflux.



**Photo 4 :** Evaporateur rotatif.

### **2.1.2. Extraction par ultrason couplé à la macération**

Cette méthode est utilisée pour extraire les composés chimiques actifs en raison de son efficacité à obtenir des extraits de haute pureté. Cette méthode repose sur l'exposition de la matière végétale à des ultrasons à haute fréquence, ce qui aide à décomposer la membrane cellulaire et à libérer les composés chimiques actifs de la matière végétale.

#### **-Mode opératoire**

Trois extraits sont obtenus par cette méthode :

- 1 g de la matière sèche a été introduit dans un tube à essai contenant 15 mL du mélange de solvants acétonitrile/eau distillée/acide formique (49.5/49.5/1 : V/V/V). Ensuite, l'ensemble a été placé dans un bain ultrason à une fréquence de 35 KHz pendant 1 heure. Une fois l'extraction terminée, le mélange est laissé macérer durant 48 heures à l'abri de la lumière en agitant de temps en temps.

- 1 g de matière sèche a été introduit dans un tube à essai contenant 10 ml d'hexane. Ensuite, l'ensemble a été placé dans un bain ultrason à une fréquence de 35 KHz pendant 1 heure. Une fois l'extraction terminée, le mélange est laissé macérer durant 48 heures à l'abri de la lumière en agitant de temps en temps.
- 1 g de la matière sèche délipide a été introduit dans un tube à essai contenant 15 ml du mélange de solvants acétonitrile/eau distillée/acide formique (49.5/49.5/1 : V/V/V). Ensuite, l'ensemble a été placé dans un bain ultrason à une fréquence de 35 KHz pendant 1 heure. Une fois l'extraction terminée, le mélange est laissé macérer durant 48 heures à l'abri de la lumière en agitant de temps en temps. Après 48 heures, les mélanges des tubes sont filtrés sur papier filtre. Les filtrats obtenus sont évaporés.

### 2.1.3. Calcul du rendement

Les rendements des extraits ont été calculés selon la formule suivante :

$$R (\%) = (P_2 - P_1) / P_0 \times 100$$

Où :  $P_2$  : poids du ballon après évaporation ;  $P_1$  : poids du ballon à sec ;  $P_0$  : Masse de la matière végétale.

## 2.2. Analyses quantitatives des extraits

### 2.2.1. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de **Singleton et Rossi (1965)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Une quantité de 200  $\mu$ L de l'extrait dilué est mélangée avec 1000  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué), puis on a ajouté 800  $\mu$ L de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ; 7,5 %). Le mélange est incubé à l'ombre et à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats de teneur en phénols totaux sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/ g ES).

### 2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée en utilisant la méthode **Zhishen et al. (1999)**. Une quantité de 500  $\mu$ L de l'extrait brut diluée a été mélangée avec 1500  $\mu$ L d'eau distillée et par la suite avec 150  $\mu$ L d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$  ; 5%). Après 5 min, 150  $\mu$ L

d'une solution du trichlorure d'aluminium préparé ( $\text{AlCl}_3$  ; 10%) a été ajouté. Après 6 min, on a additionné 500  $\mu\text{L}$  d'une solution d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$  ; 4%), le mélange est agité bien à l'aide d'un vortex.

L'absorbance a été mesurée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la quercétine comme standard. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligramme équivalents de quercétine par gramme de l'extrait sec (mg EQ/ g ES).

### **2.2.3. Dosage des flavonols**

La teneur en flavonols a été déterminée par la méthode de **Kumaran et al. (2007)**. Un volume de 250  $\mu\text{L}$  de l'extrait dilué est mélangé avec 1500  $\mu\text{L}$  d'une solution d'acétate de sodium (50 mg/mL) et 250  $\mu\text{L}$  d'une solution de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (2 mg/ml). Le mélange est agité à l'aide d'un vortex puis incubé à l'ombre et à la température ambiante pendant 150 min. L'absorbance est mesurée à 440 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la quercétine comme standard.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents de la quercétine par gramme de l'extrait sec (mg EQ/ g ES).

### **2.2.4 Dosage des tanins condensés**

La quantification des teneurs en tanins condensés (proanthocyanidines) a été réalisée selon la méthode de vanilline décrite par **Julkunen-Tiitto (1985)**. Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200  $\mu\text{L}$  d'extrait dilué a été ajouté à 1500  $\mu\text{L}$  de la solution de vanilline/méthanol préparé (4%), ensuite mélangé à l'aide d'un agitateur. Puis, 750  $\mu\text{L}$  de l'acide chlorhydrique concentré a été additionné dans les tubes. Les mélanges sont incubés à l'ombre et à la température ambiante pendant 20 min.

L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents de la catéchine par gramme de l'extrait sec (mg EC/ g ES).

## **2.3. Evaluation de l'activité antioxydante**

### **2.3.1. Capacité antioxydante totale**

La capacité antioxydant totale (CAT) des extraits est déterminée par la méthode de **Prieto et al. (1999)**. Ce test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo(V) en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 300 µL de chaque extrait dilué a été ajouté à 3000 µL de la solution du réactif (acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 0.6 M, phosphate de sodium Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> à 28 mM et molybdate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 4H<sub>2</sub>O à 4 mM).

Les mélanges sont incubés à 95°C dans l'étuve pendant 90 min. L'absorbance est mesurée à 695 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats de la CAT sont exprimés en milligramme équivalents de l'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/ g ES).

### **2.3.2 Test du piégeage du radical libre (DPPH)**

Ce test a été réalisé avec la méthode de **Sanchez-Moreno et al (1998)**. Il est basé sur la capacité des antioxydants à réduire le radical DPPH sous sa forme non radicale (hydrazine) en captant un atome d'hydrogène.

Un volume de 50 µL de différentes concentrations d'extrait dilué a été versé dans des tubes à hémolyse en verre. Puis un volume de 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH (0.025 g/l) a été additionné dans les tubes. Dans les mêmes conditions, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange de chaque tube est incubé à l'ombre et à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle positif utilisé est celui de l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon la formule ci-dessous :

$$I \% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où : A<sub>C</sub> : l'absorbance du contrôle négatif ; A<sub>E</sub> : l'absorbance de l'échantillon.

La valeur EC<sub>50</sub> représente la concentration d'antioxydant pour réduire et inhiber 50% de DPPH. Elle a été déterminée graphiquement.

## **2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne**

### **2.4.1. Souches testées**

Pour la réalisation des tests de l'activité antimicrobienne, les souches de références utilisées sont mentionnées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** : Souches utilisées dans le test du pouvoir antimicrobien.

Microorganismes	Gram	Code	Laboratoire de conservation
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>Négatif</b>	ATCC 27853	LVR
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922	LVR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603	LAMAABE
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Positif</b>	ATCC 25923	LVR
<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633	LAMAABE
<i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC 29212	LVR
<i>Candida albicans</i>	<b>Levure</b>	ATCC 10231	LAPSAB

**LVR** : Laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen, **LAMAABE** : Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement, **LAPSAB** : Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie Synthèse et Activité Biologique.

#### 2.4.2. Conservation des souches

Elle a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée entubées à essais. Les cultures pures sont conservées à +4 °C à l'obscurité jusqu'à son utilisation. Pour une conservation à long terme, les isolats ont été stockés à -80 °C dans le bouillon Mueller Hinton (ou Sabouraud pour *Candida*) additionné de 30% (v/v) de glycérol.

#### 2.4.3. Milieux de culture

Bouillon Mueller Hinton (B.M.H).

Gélose Mueller-Hinton (G.M.H).

Bouillon Sabouraud (B.S).

Gélose Sabouraud pour la levure (G.S).

Gélose nutritive (G.N): elle est utilisée pour la conservation des souches.

#### 2.4.4. Antibiotiques utilisés

Trois antibiotiques sont utilisés contre les bactéries à savoir l'Ampicilline (AMP) (10 µg) (Biocare) Algérie, l'Amoxicilline (25 µg) et la Colistine (Col 10 µg).

Des disques de 6 mm de diamètre imbibés d'antibiotique à des charges bien définies sont employés selon **CLSI (2015)**.

#### 2.4.5. Antifongiques utilisés

Nystatine 100 µg (Sigma-Aldrich).

#### 2.4.6. Préparation de l'inoculum

Une pré-culture des souches microbiennes est préparée dans le bouillon B.M.H pour les bactéries et le bouillon B.S pour les levures afin d'obtenir une phase exponentielle de

croissance. Après 18-24 h d'incubation à 37°C pour les bactéries et 48 h d'incubation à 30 °C pour les levures, la turbidité est ensuite ajustée au standard Mc Ferland 0.5 avec un colorimètre, ce qui correspond à  $\approx 10^8$  UFC/mL pour les bactéries (D.O = 0.08 à 0.1 /  $\lambda$  625 nm) et  $\approx 10^6$  UFC /mL pour les levures (D.O = 0.08 à 0.1 /  $\lambda$  625 nm).

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien le milieu (B.M.H ou B.S) stérile s'il est trop chargé.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum **(Rahal et al., 2008 ; Vitali et al., 2016)**.

#### **2.4.7. Ensemencement**

Les boîtes de Pétri sont coulées à une épaisseur de 4 mm, car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition, ce qui peut donner un résultat erroné. Ensuite, Les boîtes sont introduites dans l'étuve à 37°C pendant 30 min avant l'ensemencement afin d'éliminer l'humidité.

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✓ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✓ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois **(Rahal et al., 2008)**.

#### **2.4.8. Application des disques d'antibiotiques**

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm entre les centres.

Un disque de 6 mm de diamètre d'antibiotique est déposé aseptiquement sur la surface du milieu ensemencé. Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application **(Ammari et al., 2005)**.

Ensuite, les boîtes sont placées à 4 °C pendant environ 2 h, ceci pour permettre une pré-diffusion des substances bioactives et aussi de ralentir la croissance microbienne **(Kitouni, 2007)**. Puis, on les place dans l'étuve pour une incubation de 24 h à 37°C  $\pm$  1 pour les bactéries et de 48 h à 30°C  $\pm$  1 pour les *Candida*.

### 2.4.9. Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés dans les deux directions perpendiculaires autour des disques à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte.

On compare les résultats à des valeurs critiques selon le diamètre d'inhibition, puis on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Résistance (CASFM, 2005, 2018).

### 2.4.10. Évaluation de l'activité antimicrobienne

#### 2.4.10.1. Méthode de diffusion sur gélose

Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave puis imprégnés de 10 µL de chaque extrait d'*A. campestris* avec des charges respectives de 0.5 mg/disque. Ces disques sont déposés à la surface de la gélose (G.M.H pour les bactéries et G.S pour les levures) préalablement ensemencée en surface avec la suspension microbienne. Après, les boîtes sont placées à 4°C pendant environ 2 h pour permettre une pré-diffusion des molécules bioactives contenant dans les extraits.

Des disques des antibiotique de référence : Ampicilline (AMP) 10 µg, Amoxicilline 25 µg, Colistine Col 10 µg pour les bactéries et Nystatin 100 µg pour la levure *C. albicans* et les disques des contrôles négatifs (imprégnés de DMSO) sont placés à la surface de ces boîtes.

L'incubation des boîtes est faite à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 30°C pendant 48 h pour les *Candida* (NCCLS, 1997 ; CLSI, 2015).

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition. Deux répétitions sont effectuées pour chaque charge.

#### 2.4.10.2. Détermination des concentrations inhibitrices (CMI et CMB)

La méthode de dilution en milieu liquide permet de déterminer les paramètres (CMI, CMB) d'inhibition de la croissance microbienne par les extraits. La concentration minimale bactéricide (ou fongicide) (CMB ou CMF) est définie comme étant la concentration minimale d'extrait ne laissant pas de microorganismes survivants de l'inoculum après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 h (Abedini, 2013).

La méthode de micro-dilution en bouillon a été utilisée pour déterminer la CMI selon le Comité National des Normes du Laboratoire Clinique (NCCLS, 2001). Tous les tests ont été effectués dans le bouillon B.M.H pour les bactéries et le bouillon B.S pour les levures.

Des dilutions en série sont préparées dans une microplaque à fond en U (plaque à microtitration) de 96 puits dans la gamme de concentration choisie (75 000 µg/mL à 0.143 µg/mL) (Tableau 2).

Tout d'abord, nous mettons 100  $\mu$ L de bouillon B.M.H (ou B.S) dans les puits. Ensuite, nous déposons 100  $\mu$ L de chaque extrait d'*A. campestris* dans le puits 2, ensuite le puits 3 et puis effectuons les dilutions successives (100  $\mu$ L de puits 3 dans puits 4 et ainsi de suite). De plus, on met 100  $\mu$ L de la suspension bactérienne (ou fongique) dans les puits 1 puis 3 à 22 pour obtenir un volume final de 200  $\mu$ L avec une concentration finale de microorganismes de  $\approx 5 \times 10^5$  UFC/mL. Il faut impérativement désinfecter la micropipette à l'alcool pour éviter les problèmes de contaminations et il est important d'homogénéiser le tube contenant la souche en le passant au vortex avant de l'ajouter dans les puits (Abedini, 2013). Les microplaques des bactéries et des *C. albicans* ont été incubées respectivement pendant 24 h à 37°C et pendant 48 à 30°C. Après incubation la lecture est faite visuellement.

La CMI est définie comme la plus faible concentration inhibitrice de l'extrait par laquelle le microorganisme ne démontre pas une croissance visible.

Pour déterminer la CMB, on prélève 10  $\mu$ L des puits contenant la CMI et les concentrations supérieures de la CMI, qu'on ensemence sur des milieux de culture solide (G.M.H ou G.S) et on incube les boîtes à 37°C  $\pm$  1 pendant 24 h. Le lendemain, on peut déterminer grâce à cette culture la CMB.

**Tableau 2:** Concentrations et masses des extraits dans les puits.

Numéro	1	2	3	4	5	6	..	22
Concentration dans les puits ( $\mu$ g/mL)	TC	TCE	75000	37500	18750	9375	..	0.143
Masse de l'extrait sec ( $\mu$ g)/ puits	/	/	7500	3750	1875	937.5	..	0.0143

TC : Témoin de culture ; TCE : Témoin de la couleur des extraits.

## ***Conclusion et perspectives***

Dans cette étude, nous avons obtenu quatre extraits de la plante *A. campestris* avec différentes méthodes et solvants. Ces extraits sont utilisés pour la quantification des teneurs en composés phénoliques et l'évaluation des pouvoirs antioxydant et antimicrobien. Le rendement le plus élevé était le rendement de l'extrait obtenu par la méthode ultrasons et le mélange des solvants. L'étude phytochimique a prouvé une grande richesse de ces extraits en composés phénoliques particulièrement avec l'extrait ultrasonique en utilisant le mélange des solvants. L'étude du pouvoir antioxydant a montré une activité considérable dans tous les extraits. A propos du pouvoir antimicrobien, les résultats ont montré que la plante a une activité faible et intéressante avec les bactéries Gram négatif.

En perspective, nous suggestions pour une étude plus précise sur cette plante les points suivants :

- ✓ Utiliser d'autres méthodes d'extraction et expérimenter avec un grand nombre de solvants de polarité différente.
- ✓ Étudier l'effet toxique de cette plante et connaître les produits chimiques présents dans les extraits et les purifier pour découvrir les substances actives.
- ✓ Étude des activités biologiques *in vivo* et *in vitro*, telles que l'activité anti-inflammatoire, l'activité antidiabétique et l'activité antihypertensive.
- ✓ Tester les fractions actives contre *Helicobacter pylori*, qui joue un rôle majeur dans le développement de l'ulcère gastroduodéal.

## **Références bibliographiques**

- Abedini, A. (2013). Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat, Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, France.
- Afri-Mehennaoui, F., Mehennaoui, S. (2007). Extraction of two flavonols aglycons from the leaves of *Acacia raddiana*. Sciences et Technologie, (N21) : 29-38.
- Ahmed-Laloui, H., Zaak, H., Rahmani, A., Kashi, I., Chemat, S., Miara, M. D., Derdour., M. (2022). Assessment of artemisinin and antioxidant activities of three wild *Artemisia* species of Algeria. Natural Product Research, 36(24), 6344-6352.
- Aloui Z, Messaoud C, Haoues M, Neffati N, Bassoumi Jamoussi I, Essafi-Benkhadir K, Boussaid M, Guizani I, Karoui H. (2016). Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* Essential Oils Trigger Apoptosis and Cell Cycle Arrest in *Leishmania infantum* Promastigotes. Evid Based Complement Alternat Med. 2016 :9147096. doi: 10.1155/2016/9147096.
- Assogba, M. (2020). Usage traditionnel d'*Artemisia annua* : intérêt et limites dans le traitement du paludisme. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne, France.
- Barkat, L., Boumendjel, A., Saoudi, M., El Feki, A., Messarah, M. (2015). *Artemisia campestris* Leaf aqueous extract alleviates methidathion-induced nephrotoxicity in rats. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res, 32(2): 200-209.
- Bakchiche, B., Gherib, A., Bronze, M.R., Ghareeb, M.A. (2019). Identification, quantification, and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Artemisia campestris* from Algeria. Turk J Pharm Sci, 16(2) : 234-239.
- Boudjouref, M. (2020). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*. Thèse de doctorat en science biologique, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.
- Boudjouref M., Belhattab, R., Bouteghrine, S. (2014). Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia campestris* from Two Regions of Algeria. World Journal of Environmental Biosciences, (7): 61–66.
- Boukhalifa, D., Mehennaoui, S., Nabti, B., Belghoul, M. (2023). Phytochemical analysis and biological activity of the essential oil of field mugwort: *Artemisia campestris* L. subsp. *glutinosa* from the Algerian Sahara. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 23 (01): 023–032.

- Benchaachoua, A., Bessam, H., Saidi, I. (2018). Effects of Different Extraction Methods and Solvents on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of *Silybum Marianum* Leaves Extracts. *International Journal of Medical Science and Clinical Invention*,16 (5) :3641-3647.
- Benchohra, H., Dif Mustapha, M., Benchohra, F., Tounsi, M., Medjaher, H. (2022). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Artemisia campestris L.* *Physiology and Molecular Biology*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*,14 (1): 489-497.
- Ben-Nas, Hmed., Badraoui, Riadh. (2022). Approach of utilizing *Artemisia* herbs to treat covid-19. *Braz. J. Pharm. Sci*, 2022 (58) : e20345.
- Bourgou, S., Serairi Beji, R., Medini, F., Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*, 28(12) : 1649-1655.
- Boutemak K, Benali N, Moulai-Mostefa N. (2017) Optimization of combination of steam distillation and solvent extraction of *Artemisia campestris* essential oil using RSM. *Int Res J Public Environ Health* ,2017 (4) : 259–269.
- CASFM. (2018). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Paris : Société Française de Microbiologie. Disponible sur le lien <http://www.sfm-microbiologie.org>.
- CLSI. (2015). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard-Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques*. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier. p 476.
- Kitouni, M. (2007). *Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées*. Thèse doctorat : Microbiologie : Université Mentouri- Constantine.
- Dib I, Fauconnier M, Sindic M, Belmekki F, Assaidi A, Berrabah M. (2017). Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris L.* from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2017; 17: 1–15.

- Eloff, J. N. (2019). Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1): 1-8.
- Gheffour, K., Boucherit, K., Boucherit, Z. (2015). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5) : 311-317.
- Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., and Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare L.* *Phytothérapie*, 12(1) :15-24.
- Ghlissi, Z., Sayari, N., Kallel, R., Bougateg, A., Sahnoun, Z. (2016). Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol (84): 115–122.
- Hendel, N., Djamel, S., Madani, S., Selloum, M., Boussakra, F., & Driche, O. (2016). Screening for in vitro antioxidant activity and antifungal effect of *Artemisia campestris L.* *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(3): 251-259.
- Haddouchi, F., Zerhouni, k., Yekhelef, A., Chaouche, T. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, (85) : 152 - 159.
- Ivănescu, B., Burlec, A.F., Crivoi, F., Ros C., Corciovă, A. (2021). Secondary Metabolites from an *Artemisia* Genus as Biopesticides and Innovative Nano-Based Application Strategies. *Molecules*, 2021(26) : 30 -61.
- Jidel, S. (2015). Évaluation de la teneur en phénols et de l'effet antioxydant des extraits de plantes *Artemisia campestris L.* *Pistacia lentiscus L.* *Argania spinosa L.* Thèse de Doctorat en Science Biologique, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of *Northern willows*: methods for analyzing certain phenolics. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 33(2): 213-217.
- Koul, B., Taak, P., Kumar, A., Khatri, T., Sanyal, I. (2017). The *Artemisia* Genus: A Review on Traditional Uses, Phytochemical Constituents, Pharmacological Properties and Germplasm Conservation. *J Glycomics Lipidomics*, 7 (1): 142.
- Kumaran, A., Karunakaran, R. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*, (40): 344-352.
- Marghich, M., Daoudi, NE., Mamri, S., Amrani, O., Mekhfi, H., Ziyat, A. (2022). Antiulcer activity of Moroccan *Artemisia campestris L. subsp. glutinosa* against an ethanol-

- induced gastric ulcer in Mice. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, (8): 20– 39.
- Megdiche, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Mejdji, S., Barbria, R., Tebourbi, O., Riadh, Ksouri. (2015). *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Industrial Crops and Products*, (63):104 -113.
- Naili, M., Alghazeer, R., Saleh, N., Al-Najjar, A. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Asteraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, (3): 79–84.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, PA, USA, M27-A.
- NCCLS “National Committee for Clinical Laboratory Standards”. (2001). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M100- S11, Wayne, PA, USA.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269 (2): 337-341.
- Rahal, K. (2008). Standardisation de l’Antibiogramme en Médecine Humaine à l’Échelle Nationale selon les recommandations de l’OMS, 5<sup>ème</sup> Edition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Algérie.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, JA., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric*, (76): 270-276.
- Saoudi, M., Ncir, M., Ben Ali, M., Grati, M., Jamoussi, K., Allouche, N., & El Feki, A. (2017). Chemical components, antioxidant potential and hepatoprotective effects of *Artemisia campestris* essential oil against deltamethrin-induced genotoxicity and oxidative damage in rats. *Gen. Physiol. Biophys*, (3): 331-342.
- Sassoui, A., Hendel, N., Sarri, D., Sarri, M., Filippo, M., Maurizio, B., Donato, R., Angelo, C., Roman, P., Giovanni, Benelli. (2020). Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(21): 26594-26604.

- Singleton, V.L., Rossi, J.R. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic*, (16):144- 158.
- Vitali, L.A., Beghelli, D., BiapaNya, P.C. (2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian J Chem*, 9(6):775-786.
- Xin-Zhuan, S., Louis, H. (2015). The discovery of artemisinin and the Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Science China Life Sciences*, 58(11): 1175–1179.
- Zahnit, W., Smara, O., Bechki, L., Bensouici, C., Messaoudi, M., Benchikha, N., Larkem, I., Awuchi, C.G., Sawicka, B., Simal-Gandara, J. (2022). Phytochemical Profiling, Mineral Elements, and Biological Activities of *Artemisia campestris L.* Grown in Algeria. *Horticulturae*, 8 (914): 1- 22.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in *mulberry* and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, (64) :555-559.

## الملخص

تنتمي نبتة *Artemisia campestris* إلى عائلة الأستيراسيا. تتوزع في جميع العالم، خاصة في المناطق القاحلة و شبه قاحلة. و هي معروفة بخصائصها العلاجية و الطبية. تستعمل هذه النبتة في الجزائر لعلاج الاضطرابات الهضمية، ارتفاع السكر في الدم و ارتفاع ضغط الدم. في هذه الدراسة تم تحضير اربعة مستخلصات بطريقتين (الاستخلاص عن طريق الاسترجاع و الاستخلاص عن طريق الموجات الصوتية 35 كهرمع الهكسان و مزيج المذيبات. تم القيام أيضا بالدراسة الفيتوكيميائية و دراسة القدرة المضادة للأكسدة و المضادة للميكروبات. أظهرت النتائج ثراء في المركبات الفينولية ، ولا سيما الفلافونويد ، بحد أقصى  $93.35 \pm 10.69$  ملجم / EC جم ES. يتراوح إجمالي محتوى الفينول بين  $38.79 \pm 2.48$  إلى  $185.35 \pm 9.20$  ملجم / EAG جم ES. أظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال الاختبارين (CAT) و DPPH أن مستخلص UMD35 يحتوي على أعلى تركيز لمركبات مضادات الأكسدة  $361.82 \pm 0.40$  ملجم / EAG جم ES وأظهر مستخلص UMS35 أنه أقوى من باقي المستخلصات في حبس الجذور الحرة بأقل قيمة  $EC_{50} = 1.90 \pm 0.26$  ملجم / مل. ووجد أن التأثير المضاد للميكروبات فعال للغاية ضد الخميرة  $7.8 \pm 0.2$  ملمونشاطية ضد البكتيريا سالبة الجرام.

**الكلمات المفتاحية:** *Artemisia campestris*, الاستخراج ، قوة مضادات الأكسدة ، قوة مضادات الميكروبات.

## Résumé

*Artemisia campestris* est une plante de la famille des Astéracées, elle est distribuée partout dans le monde, en particulier dans les régions arides et semi-arides. Elle est connue pour ses propriétés thérapeutiques et médicinales. En Algérie, cette plante est utilisée pour traiter les troubles digestifs, l'hyperglycémie et l'hypertension artérielle. Dans cette étude, quatre extraits ont été préparés par deux méthodes d'extraction (sou reflux et ultrason 35 Khz) avec l'hexane et un mélange de solvants. L'étude phytochimique et les pouvoirs antioxydant et antimicrobien sont investigués. Les résultats ont montré une richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes avec un maximale  $93.35 \pm 10.69$  mg EC/g ES. La teneur en phénols totaux varie entre  $38.79 \pm 2.48$  à  $185.35 \pm 9.20$  mg EAG/g ES. L'évaluation de l'activité antioxydante par les deux tests (CAT et DPPH) a montré que l'extrait UMD35 possède la concentration la plus élevée en composés antioxydants ( $361.82 \pm 0.40$  mg EAG/g ES) et l'extrait UMS35 a montré une capacité antiradicalaire plus élevée par rapport à le reste des extraits avec la valeur la plus faible  $EC_{50} (1.90 \pm 0.26$  mg/mL). L'effet antimicrobien révèle que l'extrait ERE montre une activité antifongique contre *Candida albicans* ( $7.8 \pm 0.2$  mm) et un pouvoir intéressant des extraits UMS35 et UMD35 avec les bactéries Gram négatif.

**Mots clés :** *Artemisia campestris*, Extractions, Pouvoir antioxydant, Pouvoir antimicrobien.

## Abstract

*Artemisia campestris* is a plant of the Asteraceae family, it is distributed all over the world, especially in arid and semi-arid regions. It is known for its therapeutic and medicinal properties. In Algeria, this plant is used to treat digestive disorders, hyperglycemia and high blood pressure. In this study, four extracts were prepared by two extraction methods (under reflux and 35 Khz ultrasound) with hexane and a mixture of solvents. The phytochemical study and the antioxidant and antimicrobial powers are investigated. The results showed a richness in phenolic compounds, in particular flavonoids, with a maximum of  $93.35 \pm 10.69$  mg EC/g ES. The total phenol content varies between  $38.79 \pm 2.48$  to  $185.35 \pm 9.20$  mg EAG/g ES. The evaluation of the antioxidant activity by the two tests (CAT and DPPH) showed that the UMD35 extract has the highest concentration of antioxidant compounds ( $361.82 \pm 0.40$  mg EAG / g ES) and the UMS35 extract showed a higher antiradical capacity compared to the rest of the extracts with the lowest  $EC_{50}$  value ( $1.90 \pm 0.26$  mg/mL). The antimicrobial effect reveals that the ERE extract shows an antifungal activity against *Candida albicans* ( $7.8 \pm 0.2$  mm) and an interesting power with Gram-negative bacteria.

**Keywords :** *Artemisia campestris*, Extractions, Antioxidant power, Antimicrobial power.