



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

**Comparaison de trois méthodes d'extraction
des composés phénoliques et des flavonoïdes à
partir de la plante médicinale : *Artemisia herba
alba Asso***

Présenté et soutenu par :

Le : 23/06/2015

LEHOUT ROUMEISSA

LAIB MAYA

Jury d'évaluation :

Président : N. BOUTEGHANE MC-A Université de frère Mentouri Constantine

Rapporteur : B. BOUSEBA MC-B Université de frère Mentouri Constantine

Examineur : A. YAOU MA-A Université de frère Mentouri Constantine

*Année universitaire
2014 - 2015*



Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur « **BOUSEBA Bachir** » maître de conférence (classe B) à la faculté SNV, Université Frères Mentouri - Constantine, d'avoir accepté de nous encadrer, nous le remercions pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement Mme « **BOUTEGHANE Naima** » maître de conférence (classe A) à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des frères Mentouri – Constantine, d'avoir accepté de présider le jury*

*Nous exprimons mes vifs remerciements à monsieur « **A. YAOU** » maître Assistant (classe A) à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des frères Mentouri –Constantine, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*Nous remercions vivement le Professeur **A. ZERTAL** et le Professeur **A. BOULKAMH**, pour nous avoir accueillies au sein du laboratoire des Techniques Innovantes de Préservation de l'Environnement (LTIPE) - Université Frères Mentouri.*

*Nous tenons également à remercier Monsieur **Nabil** et Mme **Zahra**, pour leur gentillesse et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.*

Un grand merci aux membres des Labo Biochimie (faculté SNV) et LTIPE, ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace

Je dédie mon travail à :

Les plus chères dans ma vie mes parents

*Mes sœurs Rayen, Dalal, Loubna et leurs fils
Youssef et Aymen .*

*Mes frères Ahmed, Noureddine , Mahmoud et
Surtout Ammar pour leur soutien moralement et
matériellement.*

*Toutes mes amies surtout : Randa, Khacoula,
Hassina, Meriem , Alima ...et tous mes collègues
de la promotion de M2 BMS 2014.*

Je dédie mon travail aussi à :

*Monsieur A. hedadji pour leur soutien et leur
encouragement aussi bien pour sa patience jusqu'à la
fin de ce modeste travail et un grand merci pour vous.*

Mon binôme Reumeissa LEHOUJ.

Maya

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents pour leur amour inestimable,

leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices

et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Mes sœurs ainsi pour leur tendresse, leurs complicités

et leur présence, qu'à mon beau frère j'espère que la vie

lui réserve le meilleur.

Ma seule tante, pour leurs précieux encouragements

Mes Oncles et leurs filles surtout, Pour se tenir à côté de moi

jusqu'à la fin de ce travail, ainsi qu'à Tous mes proches de la famille.

Tous mes chers amis Pour leur soutien et leur amitié aussi

mes collègues pour leur aide et l'ambiance

Chaleureuse qui nous a réuni dans ce travail.

Mon chère binôme qui partagé avec moi

les

moments difficiles de ce travail .

Roumeissa

SOMMAIRE

INTRODUCTION	03
Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	05
I. les plantes médicinales.....	05
I.1. La phytothérapie	05
I. 2. Les plantes médicinales.....	05
I-2. 1-définition	05
I.2.2 – partie de plantes médicinales utilisées.....	06
I.2.3- Conseils et préparation des plantes médicinales.....	07
I. 2. 3. 1- La récolte des plantes.....	07
I. 2. 3. 2- Séchage et conservation des plantes	08
• Séchage.....	08
• Conservation	09
I. 2. 3. 3- Les différentes modes de préparation des plantes.....	09
• Infusion	09
• Décoction.....	09
• Macération.....	09
II- Armoise blanche (<i>Artemisia herb alba</i>).....	12
II. 1 –Introduction	12
II. 2 – Description botanique	12
II. 2.1 –systématique.....	13
II - 2.2. composition chimique.....	14
II -2.3. utilisation thérapeutique	16
II -2.4. Activité antibactérienne.....	17
III. Les métabolites secondaires.....	18
III.1 - Les composés phénoliques.....	20
III.1.1 - Biosynthèse des composés phénoliques.....	22
III. 2 - Les flavonoïdes.....	23
III. 2. 1 - Définition des flavonoïdes	23
III. 2. 2- Structure et biosynthèse des flavonoïdes	24
Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel végétal et Échantillonnage	27
II- Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	
II.1 - Extraction par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide).	28
II. 2- Extraction avec de l'eau chaude (extraction solide/liquide).....	29
II. 3- Extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction)...	29
II. 4- Evaporation.....	30
II. 5- Détermination du rendement.....	31
III. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes	32
III. 1 - Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl ₃)	33
III. 2 - Mise en évidence des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine)	33
VI. Extraction des flavonoïdes (extraction liquide/liquide)	33
VI. 1 - Affrontement par l'éther de pétrole	33
VI. 2 - Extraction des flavonoïdes.....	34
VI. 2. 1 - Affrontement par l'éther diéthylique.....	34
VI. 2. 2 - Affrontement par l'acétate d'éthyle.....	35
VI. 2. 3 - Affrontement par le n-butanol.....	35
V- Chromatographie sur couche mince (CCM)	36
V. 1 - Les principaux éléments du CCM.....	36
V. 2 - Développement du Chromatogramme.....	37
V. 3 - Révélation et calcul du rapport frontal (Rf).....	37
VI- Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes	38
VI. 1 - Souche bactérienne et conditions de culture	
VI. 2 - Test de l'activité inhibitrice.....	38
• Préparation d'inoculum.....	38
• Préparation des disques.....	38
• Test d'activité antibactérienne.....	39
• Lecture des résultats.....	39
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	
I-Test phytochimique	40
II. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	40
II. 1– Détermination du rendement.....	41
II. 2– Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes	42
II. 2. 1– Mise en évidence des différents types des flavonoïdes.....	42

Table des matières

II. 2. 2– Extraction des flavonoïdes.....	43
II. 2. 3– Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes	44
II. 3– Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes.....	48
CONCLUSION	51
RESUME	
REFERENCES BIBLIOGRAPHYQ	

LISTE D'ABREVIATION

- °C : Degré Celsius
- % : Pourcentage
- AcOEt** : Acétate d'éthyle
- A.herba alba*** *Artémisia herba alba*
- BuOH** : Butanol
- BAW** : Butanol -Acétate d'ethyle- Eau
- C**: Carbone
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- E.coli*** : *Esherichia coli*
- EtOH** : Éthanol
- FeCl₃**: Chlorure de fer
- h** : Heure
- H₂O**: Eau
- Hcl**: Acide chlorhydrique
- MeOH** : Méthanol
- mg** : Milligramme
- ml** : Millilitre
- min** Minutes
- mm** Millimètre
- N** : Nord
- N°** : Numéro
- R**: Vitesse de rotation
- Rf** : Rapport frontal
- T°** : Température
- Tol** : Toluène
- UV** : Ultraviolet
- v/v** : Volume/ Volume

LISTE DES FIGURES

Figure 1: rendement des extraits d'alcaloïdes totaux en fonction de la température de séchage.....	08
Figure 2 : Rendement d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par décoction.....	10
Figure 3: Rendement d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par macération.....	10
Figure 4: Polyphénols du thé obtenus par différentes méthodes d'extraction.....	11
Figure 5 : Photo de la plante <i>Artemisia herba alba</i> Région Oule Khelouf (Wilaya de Mila)...	13
Figure 6: Eudesmanolides isolés à partir de la plante <i>Artemisia herba-alba</i> marocaine.....	14
Figure 7: Certains mono-terpènes présents dans l'huile essentielle de l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>	16
Figure 8: Effet du stress salin sur la concentration des flavonoïdes au niveau des feuilles du carthame	18
Figure 9: Effet de la température sur le rendement d'extraction des métabolites secondaires.....	22
Figure 10: Effet du temps d'extraction sur le rendement d'extraction des métabolites secondaires	22
Figure 11: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine	23
Figure 12: Voies de la biosynthèse des flavonoïdes	26
Figure 13: Site d'échantillonnage.....	27
Figure 14: Séchage des feuilles d' <i>Artemisia herba-alba</i> (Chih).....	28
Figure 15: Organigramme d'extraction et d'évaporation.....	31
Figure 16 : Evaporateur rotatif	32
Figure 17: Etapes d'extraction des flavonoïdes	35
Figure 18 : Résultat de la CCM des Quatre phases : Méthanolique, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.....	46
Figure 19 : Zone d'inhibition autour des disques contenant le méthanol (témoin) à tester vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i>	48
Figure20 le pouvoir antibactérien des extraits des quatre phases : Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.....	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification de la plante <i>Artemisia herba-alba</i>	13
Tableau 2 : Les flavonoïdes isolés à partir des feuilles de l' <i>Artemisia herba-alba</i>	15
Tableau 3: Composés extraits des végétaux et des champignons régénérés à partir de cellules ou de tissus végétaux.....	19
Tableau 4 : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes.....	21
Tableau 5: Les différentes classes de flavonoïdes et leurs substitutions.....	24
Tableau6: Systèmes solvants utilisés pour la CCM.....	36
Tableau 7 : Mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes dans la matière végétale broyée d' <i>Artemisia herba alba</i>	40
Tableau 8 : Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante <i>Artemisia herba alba</i>	41
Tableau 9 : Mise en évidences des flavonoïdes présents dans les différentes phases d'extraction.....	42
Tableau 10 : Rendement des trois phases :Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.....	44
Tableau 11 : Résultat de la CCM des Quatre phases : Méthanolique, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.....	45
Tableau 12 : Activité antibactérienne des quatre phases :Aqueuse, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.....	49

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

1. Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (**Tyihák et al., 2007**). Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimique (**Sofowora, 2010**). Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants.

L'*Artemisia herba alba* est une plante médicinale largement utilisée par la population algérienne, notamment dans la médecine traditionnelle.

La valeur thérapeutique de cette plante est due à ses métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques. La concentration de ces molécules peut varier d'un organe à l'autre de la même plante.

Les composés phénoliques (principalement flavonoïdes, acides phénoliques et tannins) constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (**Nkhili, 2009**). L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification (**Mahmoudi et al., 2013**).

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (**Nkhili, 2009**). Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par macération dans le méthanol aqueux et l'extraction par décoction ou avec de l'eau chaude. L'extraction par décoction ou avec de l'eau chaude est un procédé très utilisé traditionnellement par la population algérienne, soit dans la préparation des boissons les plus populaires comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales.

Le travail effectué et présenté dans ce mémoire se situe dans ce contexte. L'objectif visé est une étude comparative de ces trois techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans une plante médicinale, l'*Artemisia herba alba*. La comparaison porte plus précisément sur le rendement d'extraction des métabolites visés et l'efficacité antibactérienne des extraits obtenus.

Nous avons choisi d'effectuer nos extractions sur 10 g de poids sec, ce qui représente la dose moyenne utilisée traditionnellement par la population algérienne.

Nous avons adopté un plan classique pour la présentation de notre travail :

- ❖ Chapitre I : Synthèse bibliographique sur la matière végétale étudiée et ses métabolites secondaires, en particulier les composés phénoliques et flavonoïdes.
- ❖ Chapitre II : partie expérimentale, qui consiste à présenter les techniques expérimentales (i) d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes, (ii) de la mise en évidence des flavonoïdes par la chromatographie sur couche mince et enfin (iii) du test antimicrobien des composés extraits.
- ❖ Chapitre III : Résultats et discussion
- ❖ Conclusion et perspectives.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. les plantes médicinales

I. 1- La phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » ([www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé_au_naturel/thérapies)). C'est un traitement ou prévention des maladies par l'usage de certaines parties de plantes médicinales telles que les racines, les tiges ou les feuilles. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Zeghad, 2008)

D'après (Zeghad, 2008) il y'a différents types de phytothérapie :

- **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plantes (essences et ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- **Gemmothérapie** : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, bourgeons et les radicules.
- **Herboristerie** : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantes médicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.
- **Homéopathie** : elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminés par la maladie elle-même.
(<http://sante.lefigaro.fr/sante/specialite/homeopathie/quest-ce-que-cest> consulter le 11/04/2015).
- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Après transformation chimique, les plantes sont vendues sous forme de tisanes, de liquide, de sachets, ou de gélules ([www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé_au_naturel/thérapies))

I. 2 - Les plantes médicinales

I. 2. 1-Définition

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication (HALBERSTEIN, 2005)

Actuellement grâce au progrès scientifique considérables enregistrés depuis la fin du XIX^{ème} siècle (technique d'analyse et extraction... etc.) les plantes médicinales constituent des ressources inestimables qui ont été utilisées pour trouver de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Gurib-Fakim, 2006 ; Harrar, 2012**).

D'après **Odile et Daniel (2007)**, environ plus de 30% des médicaments contiennent des principes actifs d'origine naturelle.

I. 2. 2 - Parties de plantes médicinales utilisées

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont celles qui ont été décrites par **Gurib-Fakim, 2006** :

Racine: Les racines peuvent être fibreuses, solides ou charnues

Rhizome: Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.

Bulbe : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.

Tubercule: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse.

Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille *Hypoxidaceae*) est un exemple bien connu.

Écorce: L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp., Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).

Bois: Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae.

Feuilles : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple : *Ginkgo biloba* de la famille Ginkgoaceae

Gommes : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains. Exemple (*Acacia Senegal*; *Terminalia bentzoe*).

Huiles essentielles : Exemple (*Mentha x piperita*; *Cananga odorata*).

Les parties aériennes: Toutes les parties de la plante qui se trouvent au dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : *Hypericum perforatum* de la famille Hypericaceae.

Fleurs : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.

Fruits : Exemple (*Punica granatum* ; *Citrus sp*).

Graines : Exemple (*Ricinus communis*; *Foeniculum vulgare*).

I. 2. 3 - Conseils et préparation des plantes médicinales

I. 2. 3. 1- La récolte des plantes

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle. Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs.

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les auteurs de cette référence (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) ont proposés quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer.
- Dans la nature, un sac à dos (évitez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- Récolter uniquement des plantes saines.

- Récolter les plantes par temps sec, plutôt par une matinée bien ensoleillée,

I. 2. 3. 2- Séchage et conservation des plantes

Séchage

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes.

Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (**Berton, 2001**).

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) (**Boulemtafes, 2011**).

Kémajou et al., 2012 ont évalué l'influence de la température de séchage sur les principes actifs (alcaloïdes totaux) de la plante médicinale *Alstonia boonei* WILD, plante antipaludéenne. Ils ont trouvé que la teneur en alcaloïdes totaux est diminuée progressivement en fonction de la température de séchage des écorces (**figure 1**). Cette diminution du rendement est en moyenne de 0,00091% par degré Celsius.

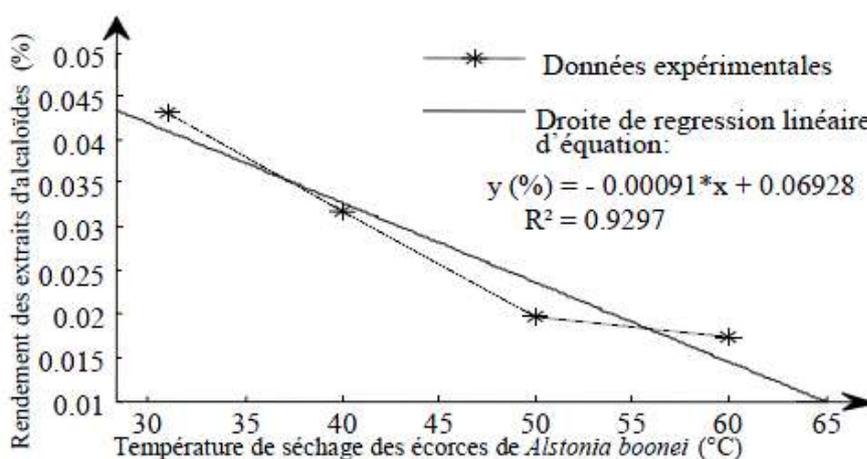


Figure 1 : Rendement des extraits d'alcaloïdes totaux en fonction de la température de séchage

Conservation

Il existe diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'air ou au four (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les plantes séchées sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papier, à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites (**Berton, 2001**).

Les plantes séchées peuvent être conservés pendant une année dans de bonnes conditions. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue sensiblement et l'action thérapeutique disparaît. C'est pourquoi il faudra renouveler le stock de plants chaque année (**Berton, 2001**).

Il existe également d'autres méthodes pour la conservation des propriétés médicinales des plantes (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) telles que l'aspiration de l'humidité des plantes par un déshumidificateur ou la congélation dans des sacs en plastique.

I. 2. 3. 3- Les différentes modes de préparation des plantes

Le mode de préparation d'une plante médicinale est la méthode d'extraction des principes actifs responsables d'action guérisatrice. Il peut avoir un effet sur la quantité ces produits chimiques présents.

Les modes de préparation les plus courants sont : l'infusion, la décoction et la macération.

Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (**Sofowora, 2010**).

Décoction

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (**Pierre et Lis, 2007**).

Macération

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre.

Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (**Pierre et Lis, 2007**).

Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (Pierre et Lis, 2007).

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche KONKON et al., 2006 afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion).

Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés d'artichaut, MAHMOUDI et al., 2013 ont utilisés deux méthodes d'extraction à savoir la décoction et la macération et quatre solvants (eau, méthanol, éthanol et acétone). Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la décoction soit une moyenne de 17,34 % versus 15,64 % pour la macération (Figure 2 et 3).

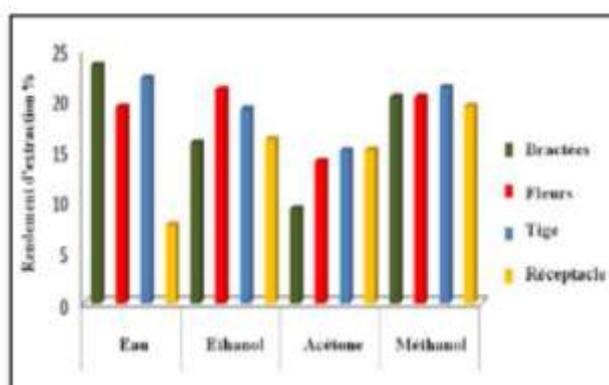


Figure 2 : Rendement d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par décoction (MAHMOUDI et al., 2013)

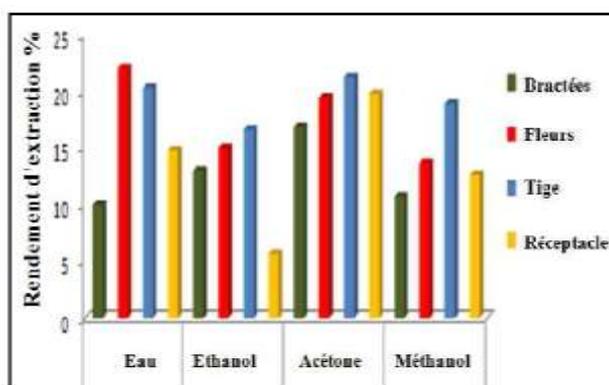


Figure 3 : Rendement d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par macération (MAHMOUDI et al., 2013)

La méthode par décoction a été comparée avec une nouvelle technologie d'extraction qui utilise les micro-ondes et les ultrasons (Nshimiyimana et He, 2010). Le résultat de cette étude démontre que la nouvelle technologie d'extraction présente une efficacité plus importante que celle de la décoction (Figure 4)

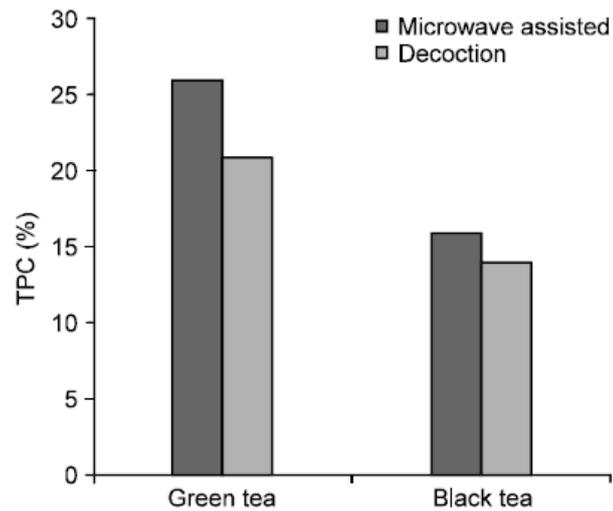


Figure 4 : Polyphénols du thé obtenus par différentes méthodes d'extraction (Nshimiyimana et He, 2010)

II - Armoise blanche (*Artemisia herba alba*)

II. 1 - Introduction

L'*Artemisia* est un genre très vaste et très diversifié, avec entre 200 et 400 espèces de plantes de la famille des *Asteraceae* (Yaniv et al., 2011).

Selon Vallès and McArthur (2001) les différentes espèces du genre *Artemisia* sont trouvées dans de nombreux écosystèmes : Dans le désert (*A. santolina*, désert d'Ouzbékistan et d'Iran) et les environnements humides (*A. molinieri*, Sud de la France, *A. cana* ssp. *Bolanderi*, Oregon des Etats-Unis) ; Dans les zones situées à peine plus haut que le niveau de la mer (*A. caerulescens*, Marais salants marins européens) et les sommets des hautes montagnes, à près de 4000 m (*A. melanolepin* Iran et *A. pattersonii*, Nord Américain) ; Certaines espèces sont rudérale (*A. vulgaris*).

Certaines plantes du genre *Artemisia* (*Asteraceae*) ont été utilisées comme plantes médicinales dans la médecine populaire depuis les périodes antiques (Proksch, 2005 (voir **artemisia ebook**); Messai, 2011). Parmi ces plantes se trouve l'*Artemisia herba alba* (Armoise blanche en français, Chih en arabe), elle a été également employée traditionnellement par la population algérienne.

En Algérie, les steppes d'armoise (*Artemisia herba-alba*) recouvrent 3 millions d'hectares et sont situées dans les étages aride et semi-aride frais, avec des précipitations variant de 100 à 300 mm (Djebaili S. et al., 1989).

II. 2 - Description botanique

L'*Artemisia herba alba* est caractérisée par les critères morphologiques suivants (Proksch, 2005 ; Gharabi et al, 2008 ; Bouldjadj, 2009 ; Bezza et al, 2010).

- Plante herbacée vivace (**figure 5**), caractérisée par une odeur de thymol,
- Plante chamaephyte (plante basse dont les bourgeons se situent près du sol)
- Tiges ligneuses, de 20 à 40 cm, rigides, érigées, ramifiées et très feuillées.
- Feuilles divisées en languettes fines, blanches et laineuses,
- Fleures groupées en grappes à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3mm de diamètre de couleur jaune à rougeâtre,

Fleuraison commence en juin et développé en septembre à décembre, fin d'été.



Figure 5 : Photo de la plante *Artemisia herba alba*
Région Oule Khelouf (Wilaya de Mila)

II. 2. 2 - Systématique

La classification classique de l'espèce *Artemisia herba-alba* est représentée dans le **tableau 1**.

Tableau 1: Classification de la plante *Artemisia herba-alba*
(Vallès et Mc Arthur, 2001 ; Mohamed *et al.*, 2010)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Superdivision	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous-famille	<i>Asteroideae</i>
la tribu	<i>Anthemideae</i>
Sous-tribu	<i>Artemisiinae</i>
Genre	<i>Artemisia L.</i>
sous-genre	<i>Seriphidium</i>
Espèces	<i>Artemisia herba-alba Asso</i>

II. 2. 3 - Composition chimique

L'*Artemisia* est l'un des genres les plus grands et les plus répons dans la tribu *Anthemideae* de la famille des *Astéracées*. Il a une valeur thérapeutique très importante en raison de leurs métabolites secondaires notamment les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes.

Divers métabolites secondaires ont été isolés à partir de l'*Artemisia herba-alba*, peut-être les plus importants étant les lactones et les sesquiterpéniques qui se produisent avec une grande diversité structurale (**Proksch, 2005**). D'autres études ont porté sur les flavonoïdes et huiles essentielles.

La **figure 6** représente certains eudesmanolides (lactones sesquiterpéniques) isolés à partir d'*Artemisia herba-alba* marocaine (**Borik et al, 1996 ; Proksch, 2005**).

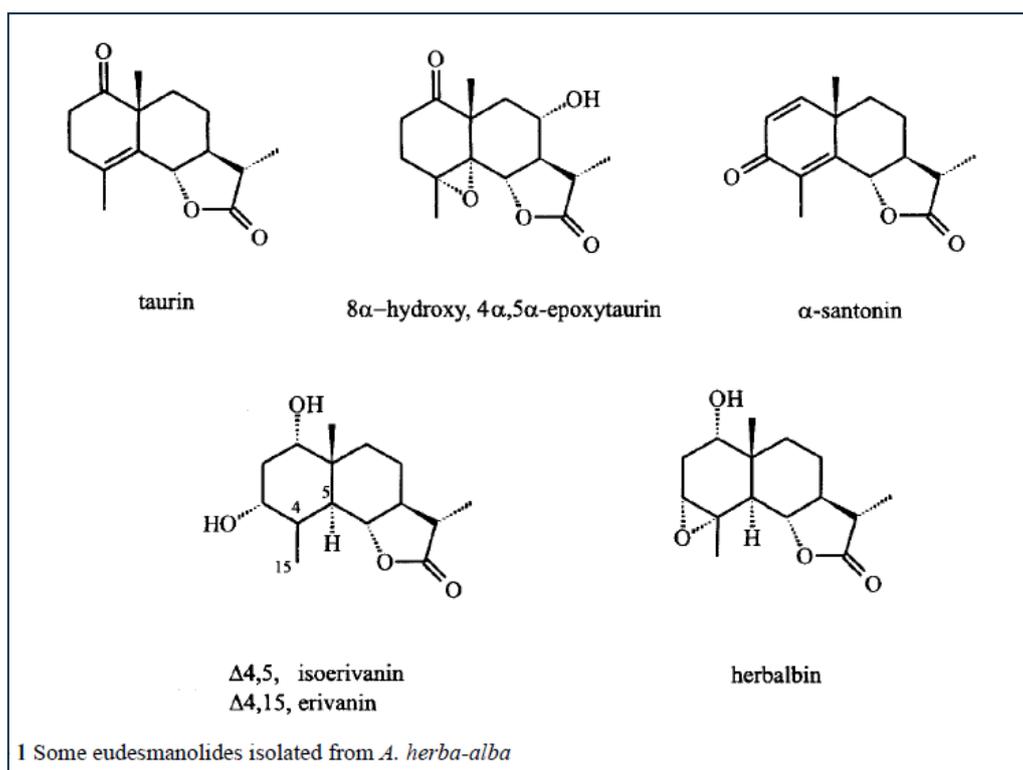


Figure 6 : Eudesmanolides isolés à partir de la plante *Artemisia herba-alba* marocaine

Selon **Saleh et al., (1987)** l'espèce *Artemisia herba-alba* contient également des flavonoïdes, mais avec une diversité structurale considérable (**tableau 2**)

Tableau 2 : Les flavonoïdes isolés à partir des feuilles de l'*Artemisia herba-alba* (**Saleh et al., (1987)**)

Composé	Quantité relative
Quercetin 3-glucoside	+
Quercetin 3-rutinoside	+
Patuletin 3-glucoside	+
Patuletin 3-rutinoside	+++
Isovitexin	+
Schaftoside	+
Isoschaftoside	+
apigenin	+
hispidulin	+
cirsimaritin	++
luteolin	+
jaceosidin	+
cirsilineol	++

Les mono-terpènes et les sesquiterpènes, molécules volatiles, sont présents dans les huiles essentielles et sont ceux qui donnent les fortes odeurs aromatiques pour les plantes (**Mucciarelli et Maffei, 2005**).

Certains mono-terpènes, présents dans les huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba-alba*, sont représentés dans la **figure 7**.

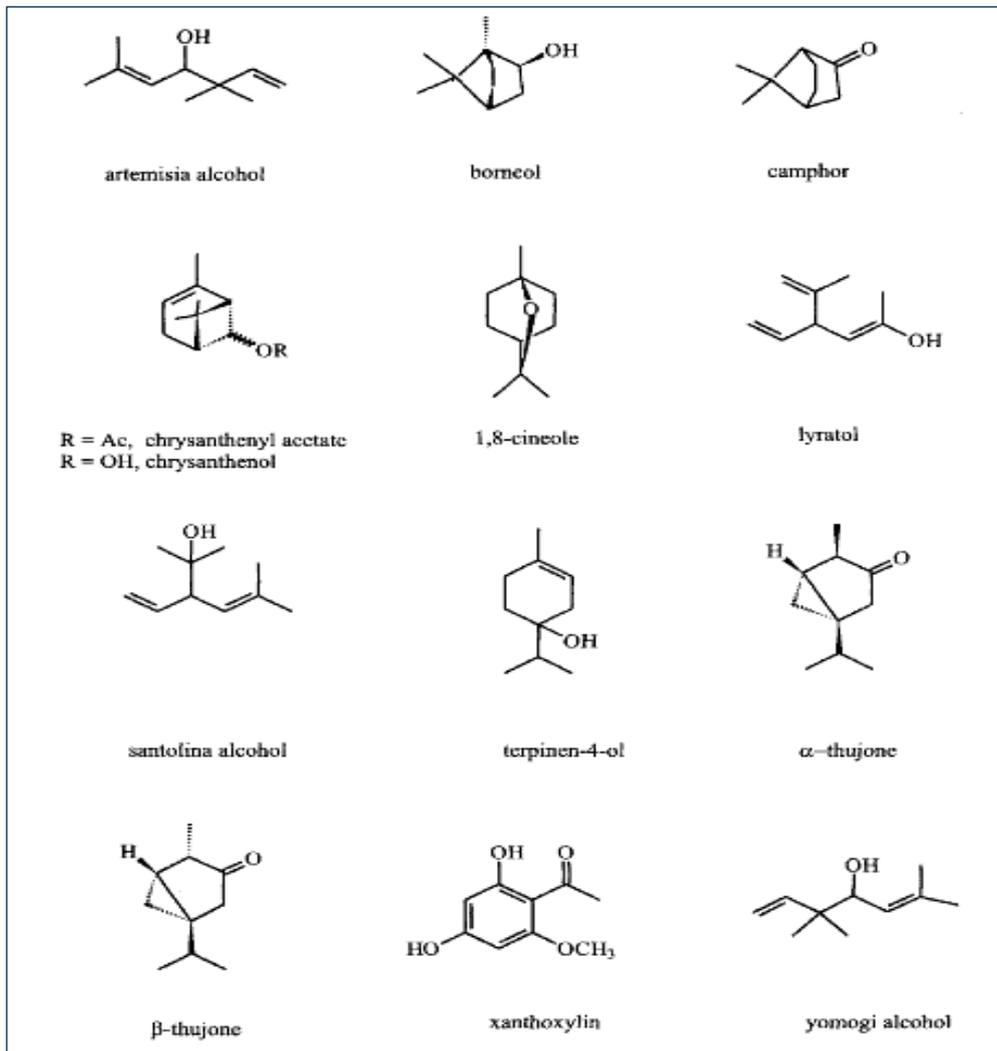


Figure 7: Certains mono-terpènes présents dans l'huile essentielle de l'espèce *Artemisia herba-alba* (Proksch, 2002)

II. 2. 4 - Utilisation thérapeutique

En générale, le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies telles que les infections urinaires (Bencheqroun et al., 2012), le diabète (Bouldjadj, 2009), l'hypertension artériel (Mohamed et al., 2010), les trouble gastrique tels que la diarrhée et les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies externes (Seddik, 2010), la bronchite, l'abcès et comme vermifuge (Gharabi et al., 2008).

II. 2. 5 - Activité antibactérienne

Les plantes médicinales sont toujours une source de remèdes sous forme de préparation traditionnelles ou principes actifs purs (**Farnworth et al., 1986**).

Le criblage biologique est une étape très importante dans l'étude de ces plantes ou dans l'isolement et la caractérisation de leurs principes actifs. Il s'agit d'appliquer certains tests biologiques tels que : l'activité antibactérienne, l'activité antioxydante, l'activité antifongique,...etc.

L'activité antibactérienne des agents naturels, telles que les huiles végétales, ont été reconnue et utilisée depuis des siècles, notamment dans la conservation des aliments (**Tajkarimi et al., 2010**).

Selon la même référence, les agents naturels antimicrobiens sont utilisés dans les aliments pour deux raisons principales: (1) pour contrôler les processus d'altération naturelles (conservation des aliments), et (2) pour prévenir / contrôler la croissance des micro-organismes, y compris les micro-organismes pathogènes (sécurité alimentaire).

Mighri et al., 2010 ont observés que tous les types d'huiles essentielles extraites de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba*, ont une importante activité antimicrobienne vis-à-vis les souches testées.

Une autre étude réalisée sur quatre populations de cette espèce (*Artemisia herba-alba*), a montré que toutes les huiles ont également une activité antibactérienne dans un *intervalle* de concentration de 1-2 mg / ml (**Yashphe et al., 1979**).

D'après **Seddik et al., 2010**, les extraits de la partie aérienne de l'*Artemisia herba-alba* présentent une activité antibactérienne très pauvre vis-à-vis des souches testés, y compris l'*Escherichia coli*. En revanche, les composés phénoliques, en particulier les acides phénoliques (acide gallique, l'acide caféique et l'acide tannique) ont montré une activité inhibitrice contre le *Staphylococcus aureus*, mais pas contre les autres bactéries.

III. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (**Harrar ,2011 ; Ramakrishna et Ravishankar, 2011**).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Merghem, 2009**).

La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**). A titre d'exemple, **Gengmao et al., 2015** ont observé que l'effet du stress salin est hautement significatif sur la concentration des flavonoïdes (métabolites secondaires) au niveau des feuilles du carthame (**figure 8**).

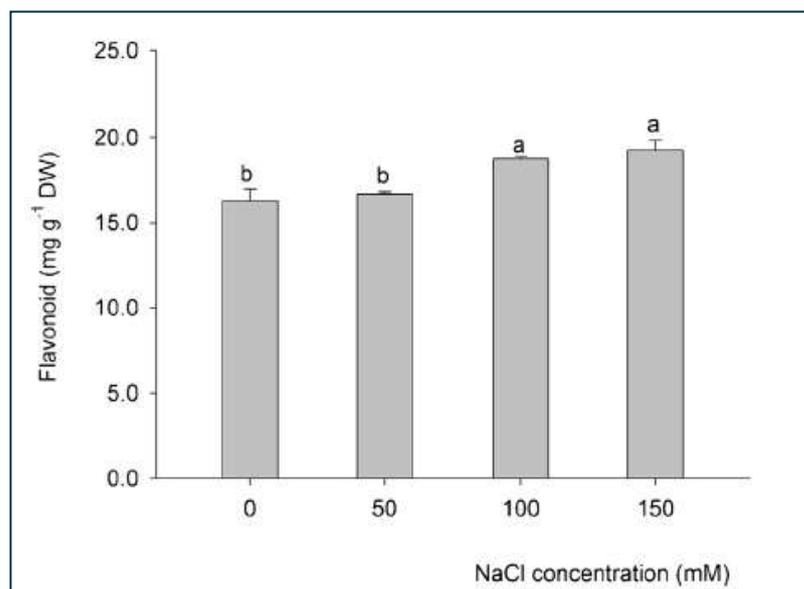


Figure 8 : Effet du stress salin sur la concentration des flavonoïdes au niveau des feuilles du carthame (**MAHMOUDI et al., 2013**)

En raison de l'importance des métabolites secondaires, de nombreuses études de recherche ont été menées afin d'améliorer la croissance des végétaux et d'augmenter la production de ces molécules.

La culture *in vitro* de cellules et/ou tissus végétaux est considéré comme l'un des meilleurs moyens utilisés actuellement pour la production de plusieurs principes actifs efficaces.

Le **tableau 3** présente plusieurs composés à pouvoir colorant extraits des végétaux et des champignons qui ont été régénérés à partir de cellules ou de tissus végétaux (**Martin et al., 2012**).

Tableau 3 : Composés extraits des végétaux et des champignons régénérés à partir de cellules ou de tissus végétaux (**Martin et al., 2012**)

Pigments	Famille chimique	Sources naturelle		Couleur
Lutéoline Apigénine	Flavonoïdes	Reseda luteola	Résédacée	Jaune
Apioside Kaempférol	Flavonoïdes	Serratula tinctoria	Composée	Jaune citron
Quercétine	Flavonoïdes	Quercus tinctoria	Fagacée	Jaune doré
Morine	Flavonoïdes	Morus tinctoria	Moracée	Jaune doré
Myricétol Quercétine	Flavonoïdes	Myrica gale	Myriacée	Jaune intense
Rhamnétol Xanthorhamnoside	Flavonoïdes	Rhamnus lycioides	Rhamnacée	Jaune-orangé
Berbérine	Alcaloïdes	Berberis vulgaris	Berbéracées	Jaune-orangé
Croceine	Caroténoïdes	Crocus sativus	Iridacée	Jaune-orangé
Curcumine	Lignine	Curcuma domestica	Zingibéracées	Jaune-orangé
Emodol chrysophanol	anthraquinones	Rumex obtusifolius Rheum rhubarbatum	Polygonacées	Jaune-orangé
Morindone	Anthraquinones	Morinda citrifolia	Rubiacées	Orange
Lawson	Naphtoquinones	Lawsonia inermis	Lythracée	Orange
Bixine	Caroténoïdes	Bixa orellana	Bixacée	Rouge-orangé
Alizarine	anthraquinones	Rubia tinctorium	Rubiacées	Rouge
Alkannine	Naphtoquinones	Alkanna tinctoria	Borraginacée	Rouge
Juglone	Naphtoquinones	Juglans regia	Juglandacée	Rouge foncé
Sanguinarine	Alcaloïdes	Papaver somniferum	Papavéracée	Rouge foncé
Cyanidol Pélagonidol	Anthocyanes	Sorghum vulgare Papaver rhoeas	Graminée Papavéracée	Rouge violacé
Malvidol Pétunidol	Anthocyanes	Vaccinium myrtillus	Ericacée	Rouge violacé
Cynodontine	Anthraquinones	Curvularia lunata	Champignon	Bleu
Flavioline	Naphtoquinones	Verticullium dahliae	Champignon	Violet

Les classes majeures de métabolites secondaires incluent les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, appelés aussi composés phénoliques (**Wuyts, 2006**).

III. 1 - Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Naczk et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun *et al.*, 2011).

Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (Naczk et Shahidi, 2003).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun *et al.*, 2011).

Le terme "composés phénoliques végétaux" englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007). Les principales classes de ces composés sont représentées dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003)

Les classes	n de carbones	squelette de base de carbone	exemples
1- phénols simples	6	C6	le catechol, l'hydroquinone phloroglucinol
2- acétophénone Phénylacétique	8	C6-C2	4-hydroxyacétophénone p-hydroxyphénylacétate caféique, férulique
3-hydroxycinnamates Isocoumarines Chromons	9 9 9	C6-C4 C3 C6-C3	umbellifénone aesculétine bergénine eugenin
4-hydroxybenzoates	7	C6-C1	salicylique, gallique
5-Naphtoquinones	10	C6-C3	juglone, plumbagine
6-xanthones	13	C6-C1- C6	mangiférine
7-stilbènes anthraquinones	14 14	C6- C2-- C6 C6- C2-- C6	resvératrol émodine
8-flavonoïdes isoflavonoïdes	15 15	C6-C3- C6 C6- C3- C6	cyanidin génistéine
9-lignanes	18	(C6-C 3)2	pinorésinol
10-bioflavonoïdes	30	(C6-C 3- C6)2	amentoflavone
11-11-hydrolysable tanins	n	(C6-C 1)n : GLc	gallotannins
12-tanins condensés	n	(C6-C 3- C6)n	les polymères de catéchine
13-lignines	n	(C6-C 3)n	lignines guaiacyle
14- mélanines catéchol		(C6) n	

L'extraction des polyphénols de plantes médicinales est l'une des principales étapes de nombreuses études biologiques et thérapeutiques. Le rendement de cette extraction est également affecté significativement par plusieurs paramètres, tels que la température et le temps d'extraction.

Quan V. Vuong, 2013, ont observé que le rendement d'extraction de ces molécules à partir des feuilles de papaye (*Carica papaya*) augmente lorsque la température d'extraction a augmenté de

50 à 70 °C et diminue à 100 °C (**figure 9**), un résultat qui peut être lié à une décomposition induite thermiquement.

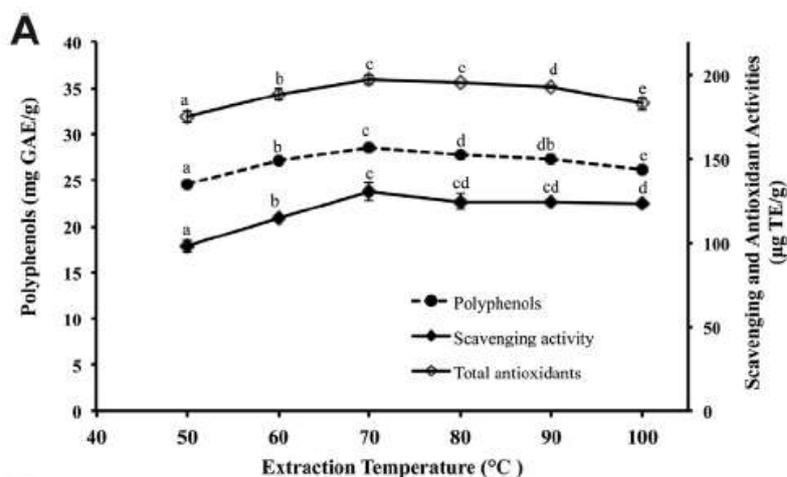


Figure 9 : Effet de la température et de l'activité antioxydant sur le rendement d'extraction des polyphénols (**Quan V. Vuong, 2013**).

Selon la même référence, le temps d'extraction affecte également l'extractibilité de ces molécules (**figure 10**). Les rendements sont augmentés lorsque le temps d'extraction est augmenté de 5 à 20 min.

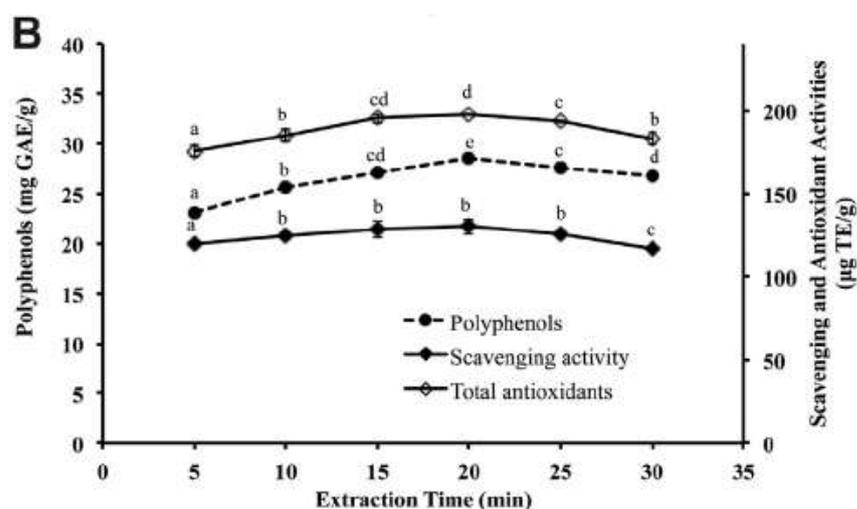


Figure 10 : Effet du temps d'extraction et de l'activité antioxydant sur le rendement d'extraction des polyphénols (**Quan V. Vuong, 2013**).

III. 1. 1 –Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques des végétaux sont biosynthétisés par trois voies différentes (**Thayumanavan et Sadasivam, 2003**) : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate.

La **figure 11** représente la voie métabolique de la production de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine.

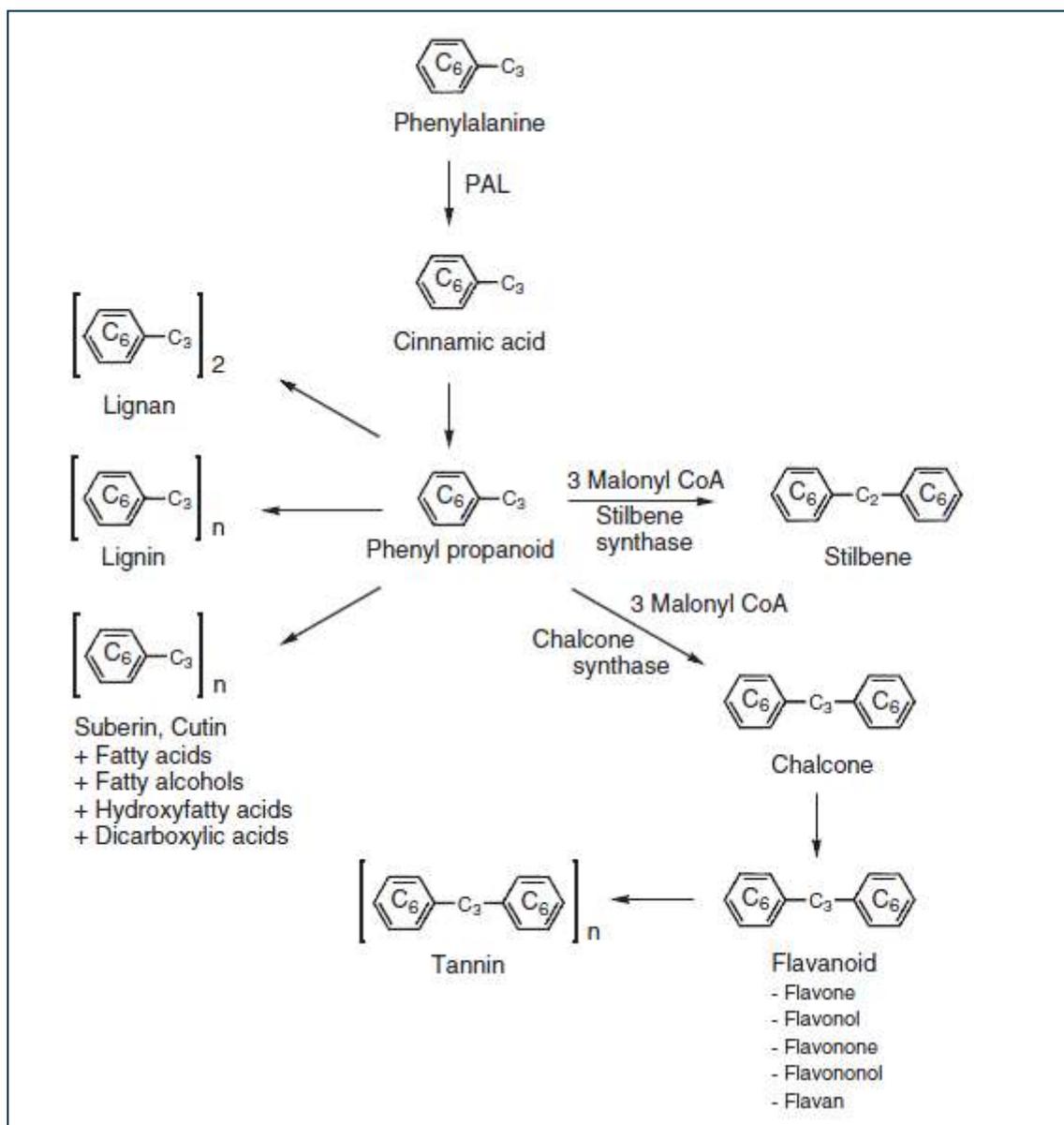


Figure 11: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (Naczki et Shahidi, 2003)

III. 2 - Les flavonoïdes

III. 2. 1 - Définition des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules polysubstituées ubiquitaires chez les plantes, formés à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et du malonate. La structure de

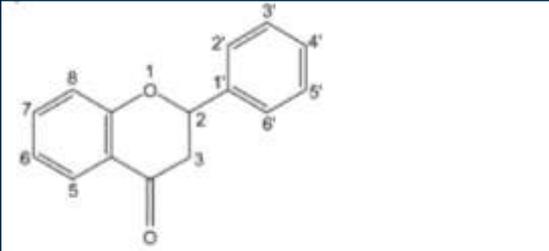
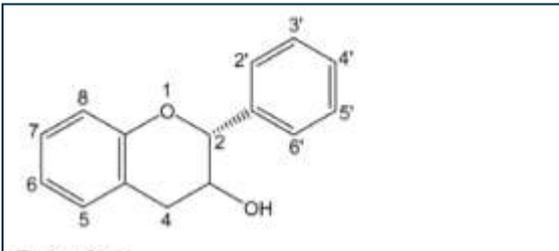
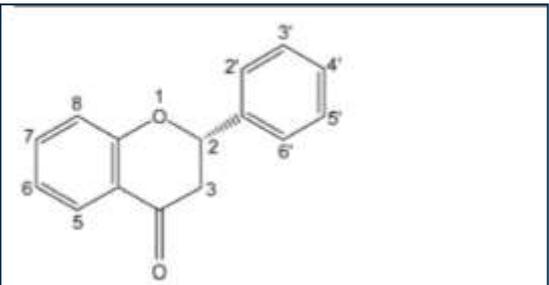
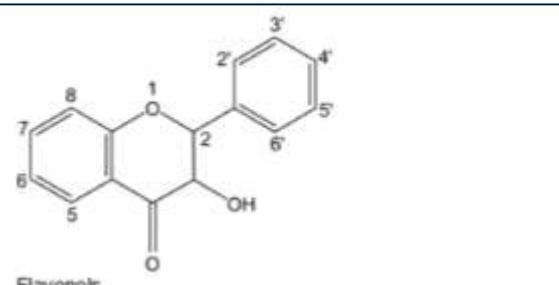
base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6) qui sont nommés cycle A, cycle B et cycle C (**Stalikas, 2007**).

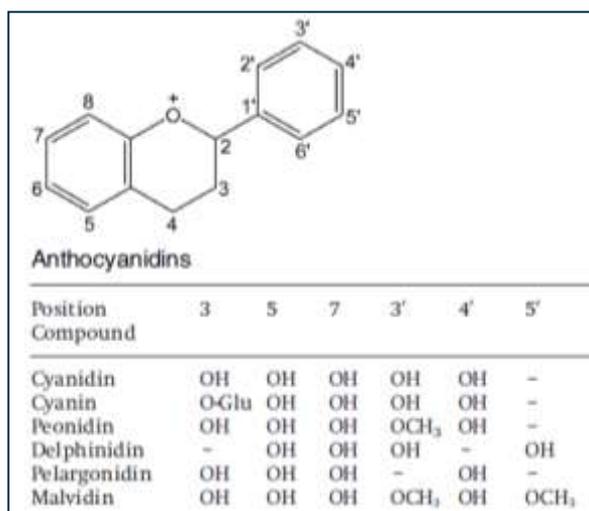
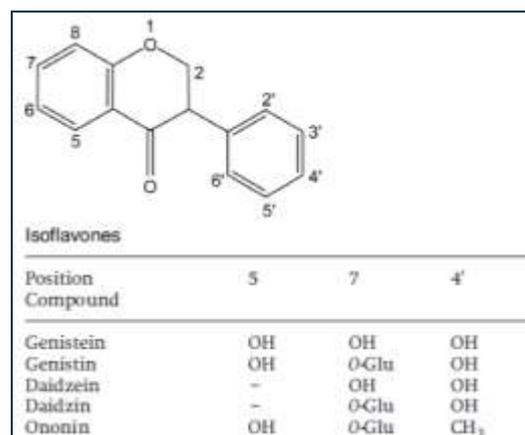
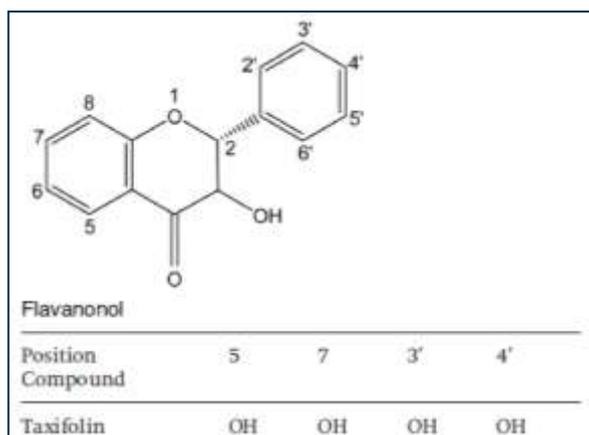
Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (**Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005**).

III. 2. 2 - Structure et biosynthèse des flavonoïdes :

Les différentes classes des flavonoïdes sont représentées dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Les différentes classes de flavonoïdes et leurs substitutions (**Stalikas, 2007**)

																																																																
<p>Flavones</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Position Compound</th> <th>5</th> <th>7</th> <th>3'</th> <th>4'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Apigenin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>Luteolin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>Chrysin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>		Position Compound	5	7	3'	4'	Apigenin	OH	OH	-	OH	Luteolin	OH	OH	OH	OH	Chrysin	OH	OH	-	-	<p>Flavan-3-ols</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Position Compound</th> <th>3</th> <th>5</th> <th>7</th> <th>3'</th> <th>4'</th> <th>5'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(+)-Catechin</td> <td>βOH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>(-)-Epicatechin</td> <td>αOH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>(-)-Epigallocatechin</td> <td>αOH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> </tbody> </table>		Position Compound	3	5	7	3'	4'	5'	(+)-Catechin	βOH	OH	OH	OH	OH	-	(-)-Epicatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	-	(-)-Epigallocatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	OH													
Position Compound	5	7	3'	4'																																																												
Apigenin	OH	OH	-	OH																																																												
Luteolin	OH	OH	OH	OH																																																												
Chrysin	OH	OH	-	-																																																												
Position Compound	3	5	7	3'	4'	5'																																																										
(+)-Catechin	βOH	OH	OH	OH	OH	-																																																										
(-)-Epicatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	-																																																										
(-)-Epigallocatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	OH																																																										
																																																																
<p>Flavanones</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Position Compound</th> <th>5</th> <th>7</th> <th>3'</th> <th>4'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Naringenin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>Naringin</td> <td>OH</td> <td>β-Rha-Glu</td> <td>-</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>Hesperetin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Hesperidin</td> <td>OH</td> <td>β-Rha-Glu</td> <td>OH</td> <td>OCH₃</td> </tr> </tbody> </table>		Position Compound	5	7	3'	4'	Naringenin	OH	OH	-	OH	Naringin	OH	β-Rha-Glu	-	OH	Hesperetin	OH	OH	OH	OCH ₃	Hesperidin	OH	β-Rha-Glu	OH	OCH ₃	<p>Flavonols</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Position Compound</th> <th>5</th> <th>7</th> <th>3'</th> <th>4'</th> <th>5'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Quercetin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Kaempferol</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> <td>OH</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Galangin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Fisetin</td> <td>-</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Myricetin</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> </tbody> </table>		Position Compound	5	7	3'	4'	5'	Quercetin	OH	OH	OH	OH	-	Kaempferol	OH	OH	-	OH	-	Galangin	OH	OH	-	-	-	Fisetin	-	OH	OH	OH	-	Myricetin	OH	OH	OH	OH	OH
Position Compound	5	7	3'	4'																																																												
Naringenin	OH	OH	-	OH																																																												
Naringin	OH	β-Rha-Glu	-	OH																																																												
Hesperetin	OH	OH	OH	OCH ₃																																																												
Hesperidin	OH	β-Rha-Glu	OH	OCH ₃																																																												
Position Compound	5	7	3'	4'	5'																																																											
Quercetin	OH	OH	OH	OH	-																																																											
Kaempferol	OH	OH	-	OH	-																																																											
Galangin	OH	OH	-	-	-																																																											
Fisetin	-	OH	OH	OH	-																																																											
Myricetin	OH	OH	OH	OH	OH																																																											



La **figure 12** représente les voies de biosynthèse des flavonoïdes

Cycle A = formé par la voie de l'acétyl-CoA à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA).

Cycles B et C = formés par la voie du shikimate à partir de la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA.

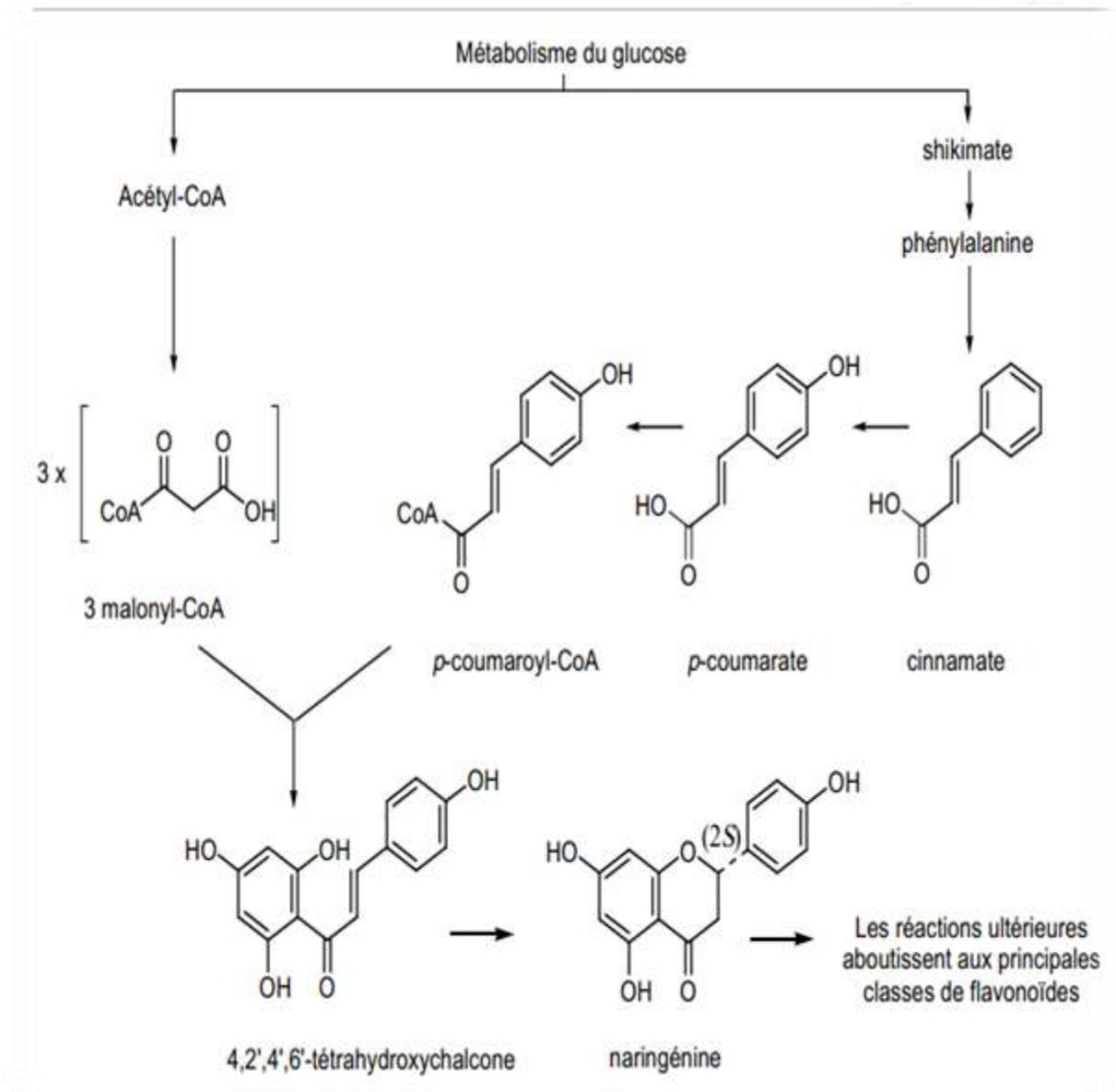


Figure 12: Voies de la biosynthèse des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993).

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

I. Matériel végétal et Échantillonnage

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au mois d'avril 2015 dans la région de Ouled Khelouf, sud-est de la wilaya de Mila (**Figure 13**), [Latitude 36° 3' 32.14" N. Longitude 6° 8' 18.68" E].



Localisation de la commune Ouled Khelouf dans la wilaya de Mila

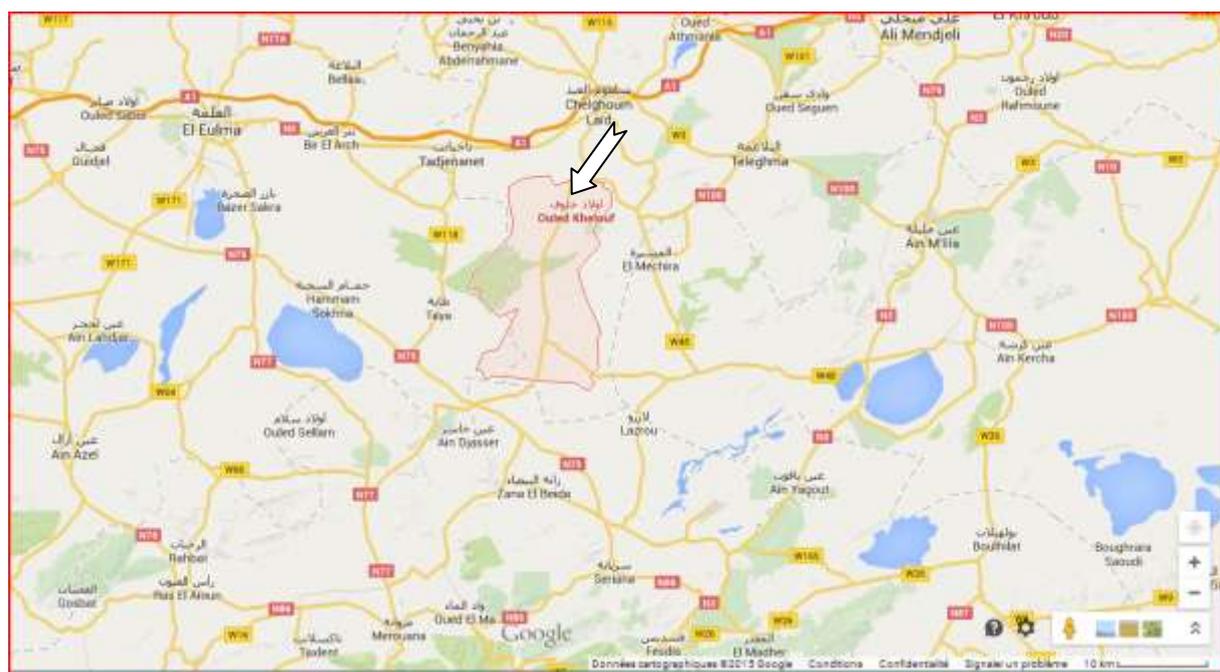


Figure 13: Site d'échantillonnage

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la plante *Artemisia herba alba* (**Figure 14**). Les feuilles sont lavées puis laissées sécher à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré, pendant 21 jours.

Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 14: Séchage des feuilles d'*Artemisia herba-alba* (Chih).

II. Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

Les composés phénoliques et flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles de cette plante par trois méthodes différentes : Extraction par macération dans le méthanol aqueux, extraction avec de l'eau chaude et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction).

II. 1- Extraction par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Hamia et al. (2014)**, avec quelques modifications.

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant (**Figure 15**) :

- Peser 10 gramme de la matière végétale ;
- Chauffer le méthanol aqueux (70:30) dans un bécher de 500 ml jusqu'à ébullition ;

- Mettre la matière végétale (10 g) sur le méthanol aqueux bouillant (70:30) ;
- Agiter de temps en temps jusqu'à parfaite refroidissement ;
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1) ;
- Récupérer le filtrat dans un flacon ;
- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml méthanol aqueux bouillant);
- Les macéras hydroalcoolique de 3 jours sont placés dans un seul récipient.

II. 2- Extraction avec de l'eau chaude (extraction solide/liquide)

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Nshimiyimana et He, 2010** en y apportant quelques modifications :

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant (**Figure 15**) :

- Peser 10 gramme de la matière végétale ;
- Ajouté la matière végétale broyée au 200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie à 77 °C pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;
- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml eau distillée chaude);
- Les trois filtrats obtenus sont placés dans un seul récipient.

II. 3- Extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction)

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **KONKON et al., 2006** en y apportant quelques modifications :

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant (**Figure 15**) :

- Peser 10 gramme de feuilles séchées;
- Ajouté les feuilles séchées au 200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;
- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml eau distillée bouillante);

- Les trois filtrats obtenus sont placés dans un seul récipient.

II. 4- Evaporation

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap (**Figure 16**) qui permet a éliminé le solvant sous vide.

Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (Solution 1 ($T^{\circ} = 45^{\circ}\text{C}$ et vitesse de rotation = 3), Solution 2 et 3 ($T^{\circ} = 65^{\circ}\text{C}$ et vitesse de rotation = 27);
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid ;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction ;
- Recueillir l'extrait dans de l'eau chaude(MeOH) (100 ml) (l'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation) ;
- Ajouter 100 ml d'eau distillée en plusieurs quantités ;
- Laisser le tout à décanter pendant 24 h à température ambiante.
- Sur un papier filtre Wathman N°1, filtrer l'extrait aqueux (résidu + eau) pour éliminer les boues (graisse et résine).

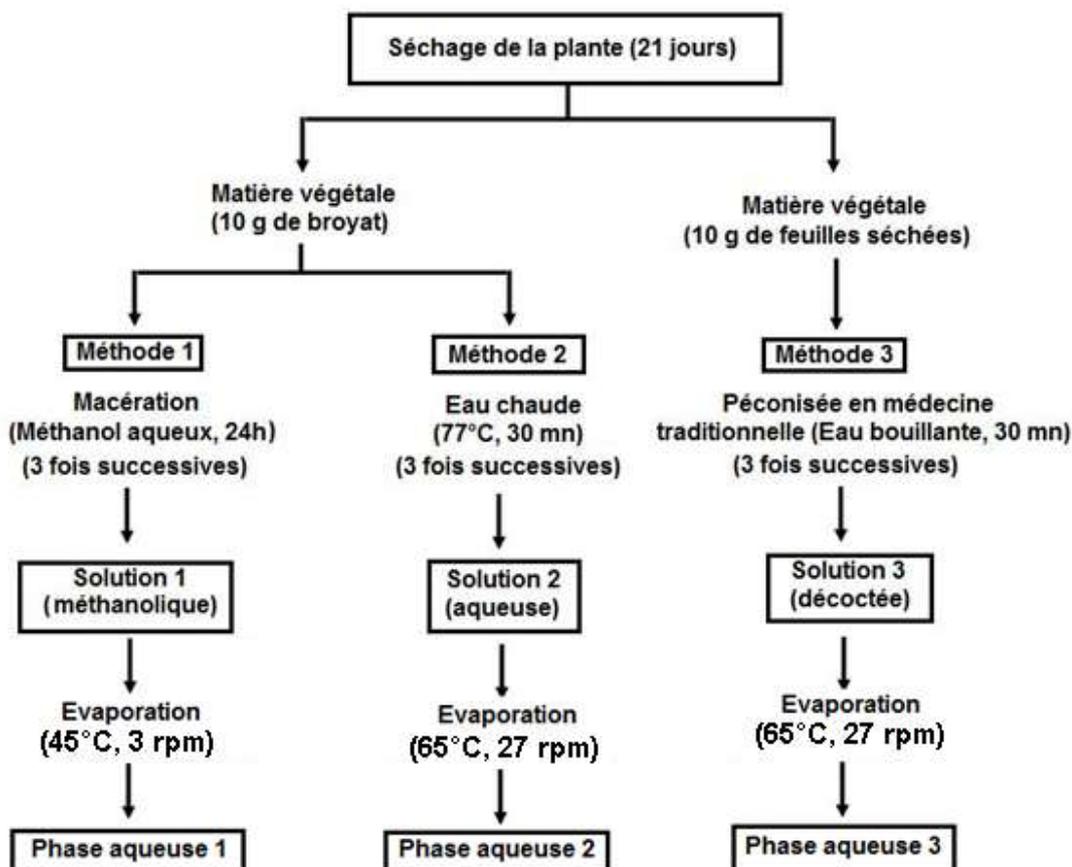


Figure 15: Organigramme d'extraction et d'évaporation

Au total, trois phases aqueuses (solutions extractives) ont été obtenues :

La phase aqueuse 1 = solution méthanolique

La phase aqueuse 2 = solution aqueuse

La phase aqueuse 2 = solution décoctée (préconisée en médecine traditionnelle)

II. 5- Détermination du rendement

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006).

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

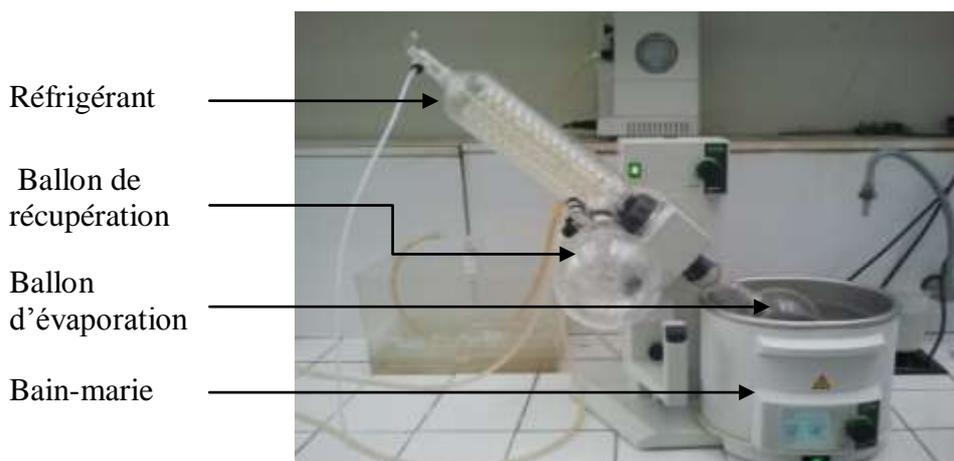


Figure 16 : Evaporateur rotatif (Rihane et Benlahreche, 2013)

Le principe du rotavapor est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant (<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>)

(Consulter et rédiger par Rihane et Benlahreche, 2013) :

- Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation ;
- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation ;
- Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant ;
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau ;
- Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ;
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif ;
- Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.

III. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes

Le but de ces tests est la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois phases aqueuses obtenues.

Le protocole de chaque test est comme suit :

III. 1 - Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl_3)

Cette réaction a été réalisée en premier temps (premier test) pour la détection des composés phénoliques en utilisant le broyat (matière végétale) et dans le second temps (deuxième test) pour la détection de ces molécules dans les trois phases aqueuses obtenues.

Premier test : Peser 400 mg de broyat de chaque plante dans un récipient en verre (tube à essai), puis additionner 4 ml de l'eau distillée et 12 ml d'acétone ; le tout est placé dans un bain marie à température 60°C pendant 5 min avec agitation de temps en temps. Filtrer sur un papier filtre « type Whatman n°1 », recueillir le filtrat obtenu dans un tube à essai et ajouter 1 à 2 gouttes de FeCl_3 10% (**Bouquet et Fouret, 1975**).

Deuxième test : Placer 2 ml de chaque solution dans un tube à essai et ajouter quelques gouttes de FeCl_3 10% (**BÉKRO et al, 2007**)

La présence des composés phénoliques dans les extraits est indiquée par l'apparition de la couleur vert noirâtre.

III. 2 - Mise en évidence des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine)

Cette réaction a été effectuée selon le protocole décrit par **BÉKRO et al, 2007** en y apportant quelques modifications :

Le protocole expérimental pour tester la présence de flavonoïde est le suivant :

- Après chaque méthode d'extraction, placer 2 ml de chaque phase aqueuse obtenue dans un tube à essai contenant de l'alcool chlorhydrique (4 ml éthanol + 1ml HCl concentré).
- Ajouter 2 ou 3 morceaux de magnésium

La présence des différents types des flavonoïdes dans les extraits est indiquée par l'apparition des couleurs suivantes : Rose-orange ou violacée.

VI. Extraction des flavonoïdes (extraction liquide/liquide)

VI. 1 - Affrontement par l'éther de pétrole

Avant l'extraction des différents flavonoïdes, les trois phases aqueuses obtenues après évaporation ont été débarrassées des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (**Kebièche et al, 2011**) (élimine tous les composés non phénolique : les caroténoïdes et les pigments chlorophylliens, les graisses).

Le protocole de cette phase est le suivant (**Rihane et Benlahreche, 2013**):

- Ajouter 1/3 volume d'éther de pétrole au volume de la phase aqueuse obtenue (v/v);
- Bien agiter et laisser reposer le mélange, aux moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther de pétrole (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur);
- Récupérer la phase organique dans un récipient en verre ;
- Répéter la procédure trois fois ;
- La phase éther de pétrole est rejetée.

A la fin de cette manipulation, 50 ml de chaque phase aqueuse suivi l'affrontement par éther d'éthyle, acétate d'éthyle et n-butanol. Le reste de cette phase, contenant les composés phénolique et flavonoïdes, a été évaporé au rotavap ($T^{\circ}=45^{\circ}\text{C}$, R 3) et l'extrait obtenu a été récupéré par 6 ml de méthanol et conserver à la température ambiante jusqu'à son utilisation (test antibactérien).

VI. 2 - Extraction des flavonoïdes

Chaque solution aqueuse ainsi obtenue a été placée dans une ampoule à décanté. Ensuite, elle a été soumise à un processus de séparation liquide-liquide avec des solvants de polarité croissante éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol. Selon la méthode décrite par (**Treki A et al., 2009**).

Cette étape est caractérisée par la spécificité et la polarité du solvant organique.

VI. 2. 1 - Affrontement par l'éther diéthylique

Cette phase a été réalisée avec l'éther diéthylique qui permet à extraire les aglycones (composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes).

Dans ce cas, le mode opératoire de cette phase est comme suit (**Rihane et Benlahreche, 2013**):

- Ajouter 50 ml de la phase aqueuse (v/v) aux 1/3 ml d'éther di éthylique ;
- Bien agiter et laisser reposer le mélange au moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther diéthylique (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur) ;
- Répéter la procédure trois fois ;
- Évaporer la phase organique obtenue ($T^{\circ}=35^{\circ}\text{C}$, R=3);
- Recueillir l'extrait par 6 ml de méthanol.

VI. 2. 2 - Affrontement par l'acétate d'éthyle

Cette phase a été réalisée par l'acétate d'éthyle. Elle a été effectuée selon le même protocole précédent.

Dans ce cas la phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase éther diéthylique et la phase organique obtenue a été évaporé au rotavap ($T^{\circ}= 50^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

Nous rappelons que cette phase permet d'extraire les monoglycosides et partiellement les diglycosides.

VI. 2. 3 - Affrontement par le n-butanol

Cette manipulation a été effectuée selon le même protocole précédent. La phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase d'acétate d'éthyle et la phase organique a été évaporé également au rotavap ($T^{\circ}=50^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

Cette phase permet d'extraire le reste de di-glycoside et le tri-glycoside.

Enfin, l'extrait sec de chaque phase a été conservé dans 6 ml de méthanol jusqu'à utilisation pour le test d'activité antibactérienne.

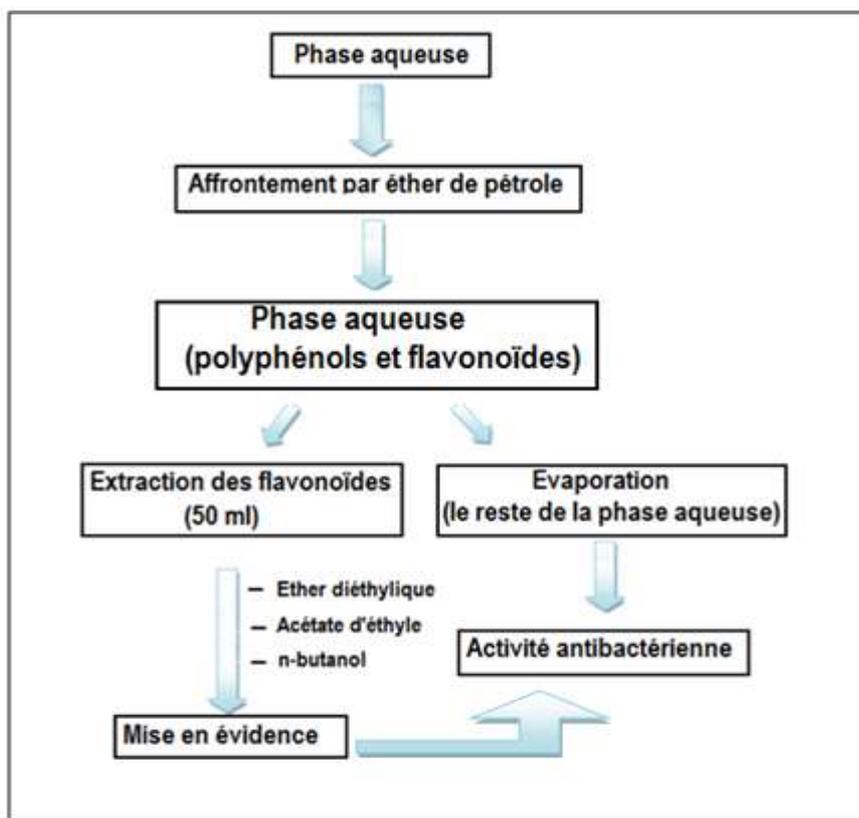


Figure 17: Etapes d'extraction des flavonoïdes (Rihane et Benlahreche, 2013)

V. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange. Le principe de cette méthode est basé sur la répartition sélective des constituants à séparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants dans ce cas est en fonction :

- de la nature de la phase mobile,
- de la nature de la phase stationnaire,
- des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer.

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus afin de vérifier s'il y a une différence d'efficacité entre les différentes méthodes d'extraction.

V. 1 - Les principaux éléments du CCM

Cuve à chromatographie : Un récipient en verre fermé par un couvercle étanche.

Phase mobile (éluant ou système solvant) : Tableau 6

Tableau 6: Systèmes solvants utilisés pour la CCM

Extrait	Système solvant (v : v : v : v)
Phase aqueuse	AcOET /MeOH/H ₂ O (7 : 2.7 : 0.3)
Phase éther diéthylique	CHCl ₃ /Acétone (9.5 : 0.5)
Phase acétate d'éthyle	CHCl ₃ / MeOH (9 : 1)
Phase n-butanol	CHCl ₃ / MeOH/H ₂ O (6.5 : 3.2 : 0.3)

Phase stationnaire : Le plus utilisé est le gel de silice, c'est une couche d'environ 0,25 mm fixée sur une plaque d'aluminium.

Echantillons : Les extraits des différentes phases obtenues, la phase méthanolique, la phase éther diéthylique, la phase acétate d'éthyle et la phase n-butanol

Révélateurs : Solution d'acide sulfurique + chaleur ; lampe UV 254 nm.

V. 2 - Développement du Chromatogramme

Le protocole de cette manipulation est le suivant (**Rihane et Benlahreche, 2013**):

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie,
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant);
- Tracer la ligne de dépôt à environ 2,5 cm du bord de la plaque ;
- A l'aide d'une micropipette, déposer environ 0,5µl de chaque échantillon, le diamètre de la tache environ 2mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt;
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant ;
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme;
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieure ;
- Sécher le chromatogramme à l'air libre ;

▪ V. 3 - Révélation et calcul du rapport frontal (R_f)

Après séchage à l'air libre, les plaques ont été révélés par deux méthodes :

- 1^{ère} méthode (révélation chimique) : Révélation des taches à l'aide d'un révélateur chimique, solution d'acide sulfurique (20 : 80 ; v : v).
- 2^{ème} méthode (révélation physique) : Révélation des taches sous une lampe UV (254 nm).

Dans tous les cas, les positions des taches (spots) colorées doivent être notées en les cerclant juste à la fin de la chromatographie car certains produits disparaissent avec le temps.

Enfin calculer le rapport frontal (R_f) pour chaque spot par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

VI. Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactériennes des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus et de vérifier également s'il ya une déférence d'efficacité entre les différentes méthodes d'extraction.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Athamena, 2009 ; Bassole *et al.*, 2011). Le protocole de cette méthode est celui qui a été décrit par Rihane et Benlahreche (2013) en y apportant quelques modifications.

VI. 1 - Souche bactérienne et conditions de culture

D'après Rihane et Benlahreche (2013), les extraits phénoliques deux plantes *Ocimum basilicum* et *Artemisia herba alba* présentent une activité inhibitrice plus importante contre la bactérie *Escherichia coli*.

Pour cette raison, cette bactérie a été choisie dans cette étude. C'est une bactérie à Gram négatif connue pour sa forte antibiorésistance et son pouvoir invasif et toxique chez l'homme (Bencheqroun *et al.*, 2012).

La bactérie *Escherichia coli*, fournie par le laboratoire de microbiologie (RDC) de la faculté SNV université frères Mentouri - Constantine, a étéensemencée juste avant le test antibactérien dans un bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24 h.

VI. 2 - Test de l'activité inhibitrice

Cette manipulation comporte les étapes suivantes:

- **Préparation d'inoculum**
 - Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie bactérienne bien isolée.
 - Transvaser le contenu de l'ose dans un tube contenant 5 ml de bouillon nutritif stérile,
 - Incuber par la suite les tubes à essai à 37°C pendant 24 h.
- **Préparation des disques**
 - Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N° 1),
 - Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 20 minutes.

- **Test d'activité antibactérienne**

- Couler dans les boîtes de pétri une quantité de gélose nutritive équivalente à 13 ou 15 ml;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification,
- Déposer quelques gouttes de la suspension bactérienne (inoculum) sur la surface de la gélose, puis étaler à l'aide d'un râteau,
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée,
- Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques (trois disques par boîte), imprégnés d'extrait végétal, sur la surface de la gélose,
- Placer les boîtes de pétri à basse température (+4°C) pendant 15 à 30 mn afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier ;
- Retirer les boîtes du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h. Les boîtes doivent être placées couvercle en bas.

Dans ce travail, le méthanol a été utilisé comme solvant d'extraction et de conservation des extraits obtenus. Il a été utilisé, également comme témoin dans les tests antibactériens de ces extraits.

Afin d'évaluer précisément l'activité antibactérienne de ces extraits, procéder à un test préliminaire antibactérien de ce solvant vis-à-vis des germes étudiés (mêmes étapes précédentes).

- **Lecture des résultats**

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Tests phytochimiques

Dans ce travail, l'existence des composés phénoliques et flavonoïdes dans la matière végétale broyée de la plante *Artemisia herba alba*, ont été vérifiés par deux tests préliminaire : Réaction au FeCl_3 et réaction à la cyanidine respectivement.

Les résultats de ces deux tests sont représentés dans le **tableau 7**.

Tableau 7 : Mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes dans la matière végétale broyée d'*Artemisia herba alba*

Composés	Quantité relative	Couleur
Les polyphénols	+++	Vert noirâtre
Les Flavonoïdes	+	Orange

+++ : Présence en forte quantité

+ : Présence en faible quantité

Les résultats de cette manipulation indiquent clairement la présence des composés phénoliques en abondance, caractérisés par une réponse positive au test de chlorure ferrique (FeCl_3) et la présence des flavonoïdes mis en évidence par le test à la cyanidine.

Les composés phénoliques se sont confirmés par l'apparition d'une coloration vert noirâtre et les flavonoïdes par une coloration orange. Ce résultat est en accord avec celui de **Bouquet et Fouret, 1975**.

II. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (**Quy Diem Do et al, 2014**). Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2005**).

Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction : Extraction par macération (méthanol aqueux, 70 %), extraction avec de l'eau chaude (77°C, 30 min) et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (eau bouillante, 30 min).

A la fin de cette manipulation, les trois extraits secs obtenus ont été recueillis dans des quantités suffisantes de méthanol (6 ml).

L'étude comparative des ces trois méthodes d'extraction se porte normalement sur :

- Le rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes ;
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux ;
- Le criblage chromatographique ;
- L'activité antibactérienne.

Malheureusement, le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux n'a pas été réalisé à cause de manque de la quercétine et de l'acide gallique.

II. 1– Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les flavonoïdes et les composés phénolique) à été déterminé par rapport à 10 g de la matière végétale (broyat ou feuilles sèches).

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau 8**.

Tableau 8 : Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante *Artemisia herba alba*

Méthode d'extraction	Poids d'extrait sec (g)	Rendement (%)
Macération (méthanol aqueux, 70 :30)	1.33	13.3
Avec de l'eau chaude (77°C, 30 min)	2.84	28.4
Décoction (eau bouillante, 30 min)	2.1	21

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que :

- Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction avec de l'eau chaude suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle et enfin par macération,
- Le rendement de l'extraction avec de l'eau chaude ou bouillante est plus élevé que celui de l'extraction avec le méthanol aqueux,

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et al, 2014**).

D'après **Quy Diem Do et al., 2014**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

Dans ce contexte, **Naima et al, 2005** ont observé que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols à partir de la plante marocaine *Acacia mollissima* est le méthanol aqueux (80%) suivie par l'éthanol aqueux (80%) et enfin l'eau.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (**BÉKRO et al, 2007 ; Kebièche et al, 2011**).

Dans notre cas, peut être les substances solubles dans l'eau sont présentes en quantité importante est sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction avec de l'eau chaude ou par décoction. Ces substances peuvent être de nature protéiques ou carbohydrates (**BÉKRO et al, 2007**).

Il ya également une autre raison qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est le temps d'extraction qui est généralement très long dans le cas de la première méthode (24 heures) par rapport aux deux autres méthodes (30 min). Selon **Rhazi et al, 2015**, la progression de temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols.

II. 2– Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes

II. 2. 1– Mise en évidence des différents types des flavonoïdes

Les flavonoïdes dans les différentes phases ont été mis en évidences par un test préliminaire, il s'agit d'une réaction à la cyanidine. Les résultats de cette réaction sont représentés dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Mise en évidence des flavonoïdes présents dans les différentes phases d'extraction

Phase d'extraction	Couleur	Quantité relative
Ether diéthylique	Orange claire	+++
Acétate d'éthyle	Orange foncée	+++
n-butanol	Rouge brique	+++

+++ : Présence en forte quantité

Au vu de ces résultats, on peut déduire que la plante *Artemisia herba alba* est riche en différents types de flavonoïdes. Ces composés se sont confirmés par l'apparition des colorations orange et rouge brique.

Les colorations rose, orange et rouge violacé indiquent la présence des flavonols, flavones et flavanones (Bouquet et Fouret, 1975 ; N'guessan *et al.*, 2009).

II. 2. 2– Extraction des flavonoïdes

D'autres étapes supplémentaires peuvent être appelées pour l'élimination des composés phénoliques et non-phénoliques indésirables tels que les cires, les graisses, les terpènes, et les chlorophylles (Stalikas, 2005).

Dans ce contexte, les trois phases aqueuses obtenues après évaporation ont été débarrassées des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole.

L'extraction des différents flavonoïdes a été procédée comme suit :

- Extraction des aglycones ou les génines libres (phase éther diéthylique),
- Extraction des mono-glycosides et partiellement le di-glycosides (phase acétate d'éthyle),
- Extraction du reste de diglycoside et triglycosides (phase n-butanol).

Le rendement de chaque phase d'extraction a été déterminé selon la même procédure précédente (§ II. 5).

NB : le rendement de chaque phase est obtenu à partir de 50 ml de chaque phase aqueuse.

Les résultats de cette manipulation sont rassemblés dans le **tableau 10**.

Tableau 10 : Rendement des trois phases :
Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

Phase d'extraction	Rendement (%)		
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Éther diéthylique	2,1	1,2	1,3
Acétate d'éthyle	2,2	1,4	1,2
n-butanol	4,6	7,2	12

Méthode 1 = Macération (méthanol aqueux, 70 :30)

Méthode 2 = Avec de l'eau chaude (77°C, 30 min)

Méthode 3 = Décoction (eau bouillante, 30 min)

Ces résultats montrent que :

- Le rendement en flavonoïdes dans les deux phases éther diéthylique et acétate d'éthyle de la première méthode est plus élevé (presque le double) que ceux dans les mêmes phases des deux autres méthodes d'extraction,
- Le rendement en flavonoïdes dans les deux phases éther diéthylique et acétate d'éthyle des deux autres méthodes d'extraction 2 et 3 est presque le même.

II. 2. 3– Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes

Les résultats de cette manipulation sont représentés sur la **figure 18** et dans le **tableau 11**.

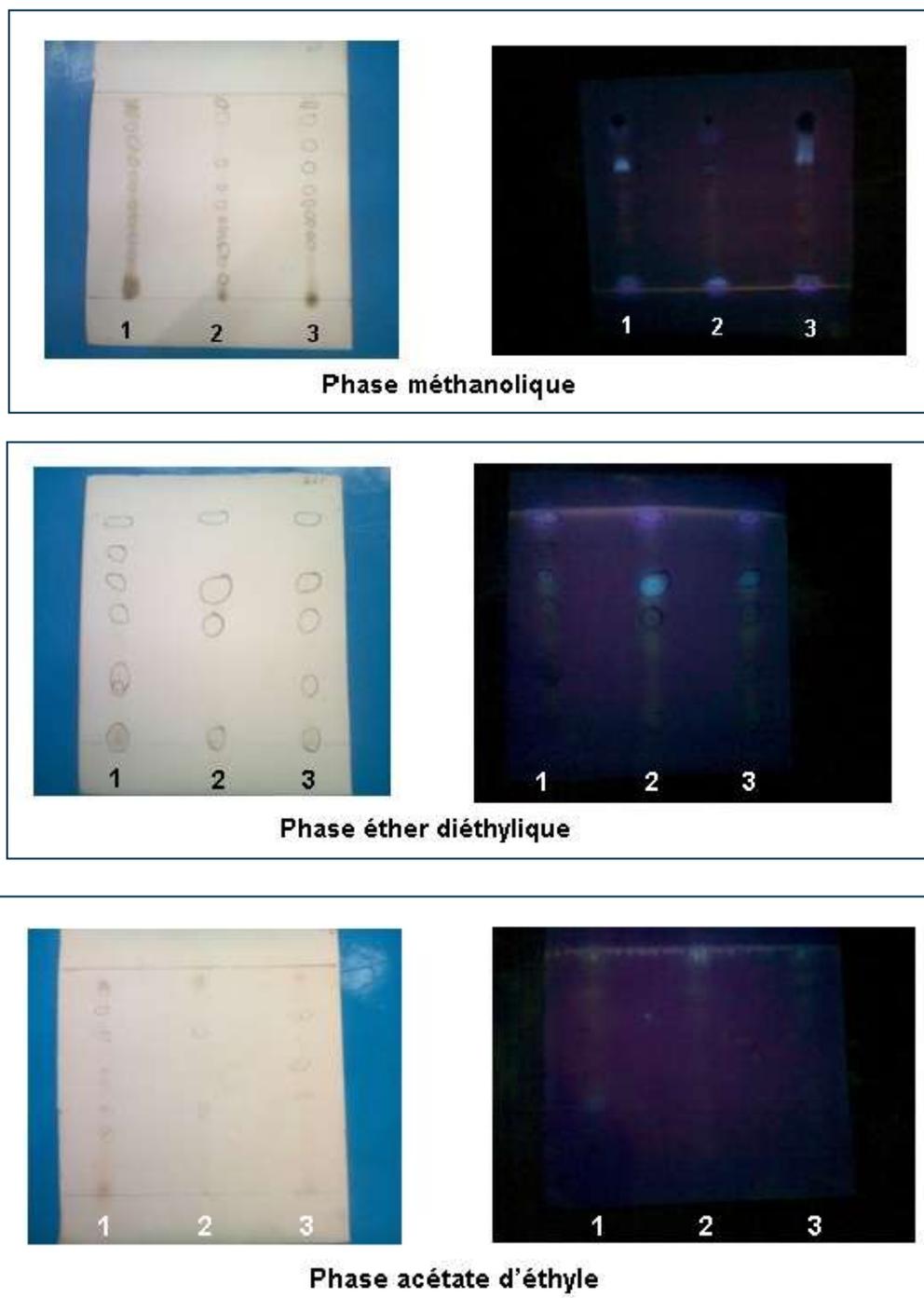
Tableau 11 : Résultat de la CCM des Quatre phases :
Méthanolique, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

Phase d'extraction	Méthode 1			Méthode 2		Méthode 3	
	Spot	Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur
Aqueuse	1	0.196	bleue	0.090	Violet	0.257	bleue
	2	0.287	orange	0.166		0.303	jaune
	3	0.363	jaune	0.227		0.363	jaune
	4	0.454	violet	0.287	Bleue	0.409	violet
	5	0.530	orange	0.333		0.454	jaune
	6	0.590	orange	0.378	Jaune	0.515	jaune
	7	0.666	jaune	0.454	Jaune	0.636	jaune
	8	0.757	jaune	0.545	Orange	0.742	jaune
	9	0.833	bleue	0.666	Orange	0.863	bleue
	10	0.909	jaune	0.878	Jaune	0.954	bleue
	11	0.939	bleue	0.969	Bleue		
Ether diéthylique	1	0.222	orange	0.375	Jaune	0.236	orange
	2	0.277	orange	0.5	orange	0.513	orange
	3	0.541	jaune	0.638	Bleue	0.680	bleue
	4	0.680	bleue	0.958	Violet	0.958	violet
	5	0.805	orange				
	6	0.944	violet				
Acétate d'éthyle	1	0.257	bleue	0.357	Jaune	0.257	bleue
	2	0.357	jaune	0.700	Jaune	0.414	jaune
	3	0.485	jaune	0.942	Bleue	0.557	jaune
	4	0.542	jaune			0.971	jaune
	5	0.700	jaune			0.957	jaune
	6	0.814	jaune				
	7	0.914	jaune				
n-butanol	1	0.149	bleue	0.149	Violet	0.149	Bleue
	2	0.268	jaune	0.253	Bleue	0.373	Jaune
	3	0.388	jaune	0.507	Bleue	0.492	Bleue
	4	0.507	bleue	0.582	Jaune	0.567	Jaune
	5	0.582	jaune	0.701	Jaune	0.686	Jaune
	6	0.716	jaune	0.805	Jaune	0.791	Jaune
	7	0.835	jaune	0.880	Jaune	0.865	Jaune
	8	0.880	jaune				

Méthode 1 = Macération (méthanol aqueux, 70 :30)

Méthode 2 = Avec de l'eau chaude (77°C, 30 min)

Méthode 3 = Décoction (eau bouillante, 30 min)



- 1 = Extraction par Macération (méthanol aqueux, 70 :30)
2 = Extraction avec de l'eau chaude (77°C, 30 min)
3 = Extraction par décoction (eau bouillante, 30 min)

Figure 18 : Résultat de la CCM des Quatre phases :
Méthanolique, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol
(Révélation chimique ; Révélation physique à 254 nm)

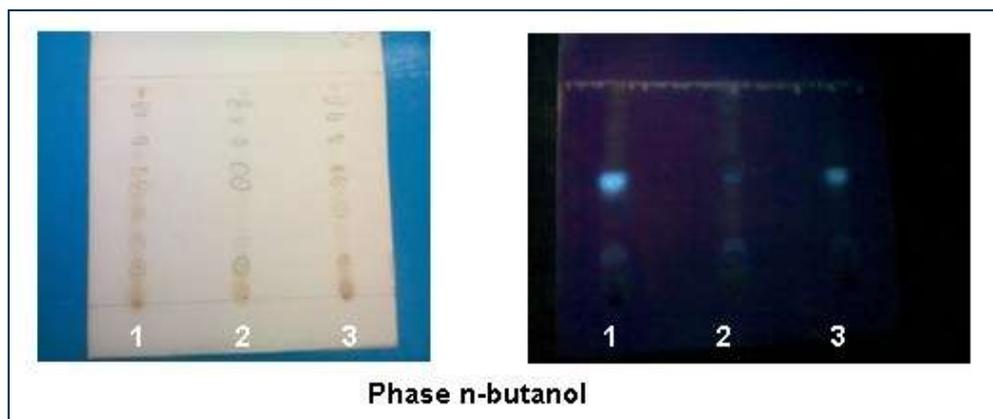


Figure 18 : (suite...)

L'analyse qualitative après CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) colorées surtout en bleu, jaune et orange. Ces trois coloration confirment la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes (**Mamyrbekova-Bekro et al., 2012 ; Dohou et al., 2003**).

D'après ces résultats on peut noter les remarques suivantes :

- Le nombre de taches indique que la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les différentes phases de la première méthode (macération dans le méthanol aqueux) est la plus élevée que celles des deux autres méthodes. Ce résultat est en accord avec ceux de certains travaux avec d'autres plantes (**Naima et al, 2005 ; Quy Diem Do et al., 2014**).
- Le nombre de taches dans les phases aqueuses est plus élevé que celui dans les autres phases représentant les flavonoïdes, cela confirme que ces phases aqueuses renferment les composés phénoliques ainsi que les flavonoïdes.
- Le nombre de taches dans la phase n-butanol est plus élevé que celui dans les phases éther diéthylique et acétate d'éthyle, cela signifie que la plante *Artemisia herba alba* est riche en flavonoïdes type di-glycoside et tri-glycoside. Cela renforce ce que nous l'avons observé précédemment sur le rendement d'extraction avec de l'eau chaude et décoction.

Enfin, nous pouvons conclure que les résultats de la CCM confirment la présence des composés phénolique et des flavonoïdes dans les différents extraits de la plante étudiée et renforce également ce que nous avons obtenu précédemment.

II. 3– Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes

Nous rappelons, que les objectifs de cette manipulation sont :

- Evaluer *in vitro* le pouvoir antibactérien des extraits dissouts dans le méthanol, isolés de la plante médicinale *Artemisia herba alba*.
- vérifier si on peut utiliser ce pouvoir antibactérien comme un facteur de comparaison entre les trois méthodes d'extraction étudiées.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, gélose nutritive, contre la bactérie *Escherichia coli*.

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli*.

Dans ce travail, le méthanol a été utilisé comme solvant d'extraction et de conservation des extraits obtenus, il a été également utilisé comme témoin dans les tests antibactériens.

Le résultat du test antibactérien de ce solvant vis-à-vis du germe étudié est représenté sur la **Figure 19**.

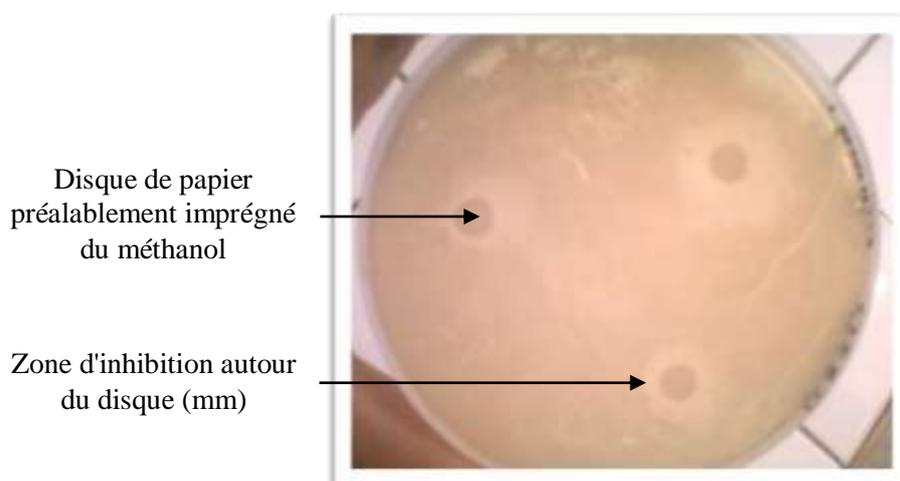


Figure 19 : Zone d'inhibition autour des disques contenant le méthanol (témoin) à tester vis-à-vis d'*Escherichia coli*

Afin d'évaluer précisément le pouvoir antibactérien des extraits, le diamètre réellement pris en compte est celui qui a été calculé par la différence entre le diamètre des zones inhibitrices de ces extraits et celui du témoin (méthanol).

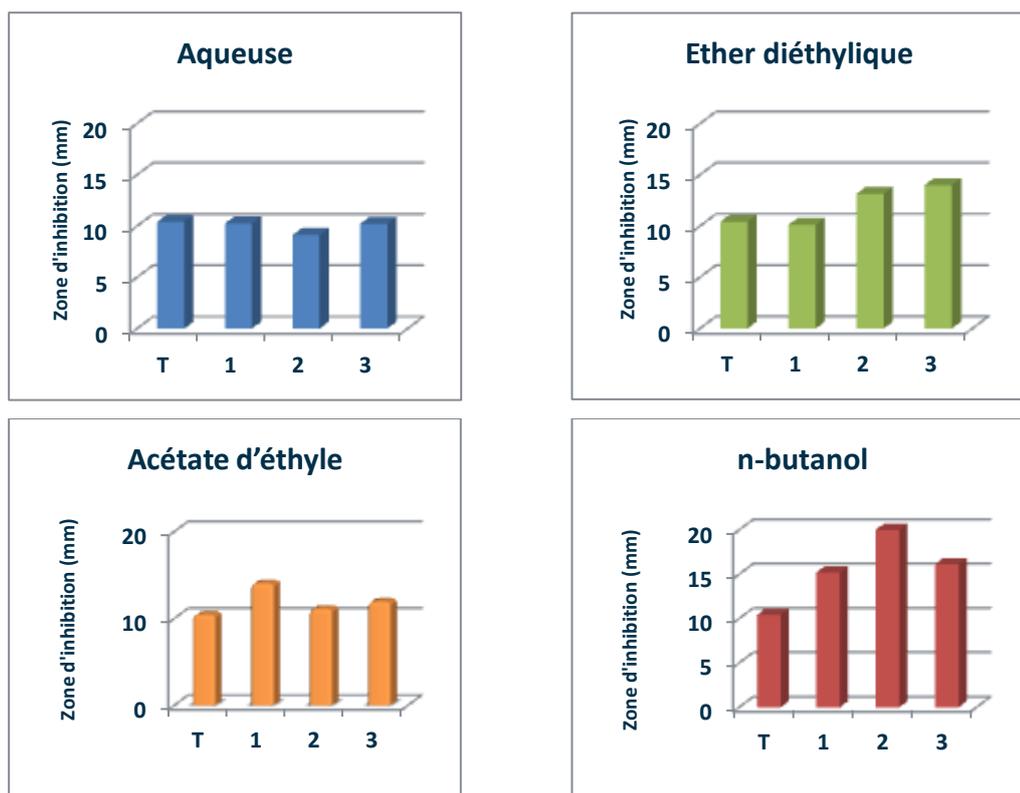
Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 12** et sur la **Figure 19**.

Tableau 12 : Activité antibactérienne des quatre phases :
Aqueuse, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

Phase d'extraction	Zone d'inhibition (mm)		
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Aqueuse	10,26 ± 1,59	9,13 ± 0,77	10,23 ± 0,77
Ether di éthylique	10,13 ± 1,62	13,16 ± 1,05	14,01 ± 0,95
Acétate d'éthyle	14,03 ± 0,58	11,1 ± 1,35	11,93 ± 1,02
n-butanol	15,2 ± 1,17	20,03 ± 1,40	16,13 ± 3,71
témoin	10,43 ± 2,41	10,43 ± 2,41	10,43 ± 2,41

Méthode 1 = Macération (méthanol aqueux, 70 :30)
Méthode 2 = Avec de l'eau chaude (77°C, 30 min)
Méthode 3 = Décocion (eau bouillante, 30 min)

± : Ecart type



T = Témoin 1 = Méthode 1 2 = Méthode 2 3 = Méthode 3

Figure 20 : le pouvoir antibactérien des extraits des quatre phases :
Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

D'après ces résultats on peut noter les remarques suivantes :

- Cette méthode a permis de déterminer l'action de certains extraits sur la bactérie *Escherichia coli*. Cette action se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné d'extrait.
- Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.
- La phase aqueuse des trois méthodes ne présente aucune activité inhibitrice contre la bactérie *Escherichia coli*. Le même résultat a été observé dans la même plante *Artemisia herba alba* et dans le cas macération dans le méthanol (**Seddik et al., 2010**).
- La phase d'extraction n-butanol présente une activité inhibitrice plus importante par rapport aux autres phases. Ce résultat est en accord avec celui de **Rihane et Benlahreche, 2013** et renforce également ce que nous avons obtenus précédemment dans les deux cas CCM et rendement d'extraction.

Au vu de ces résultats, on peut déduire que les flavonoïdes extraits à partir de la plante médicinale *Artemisia herba alba* ont un pouvoir antibactérien contre l'*Escherichia coli* et que la phase n-butanol contenant les di et triglycosides peut être utilisée comme un facteur de comparaison entre les différentes méthodes d'extraction étudiées.

Conclusion et perspectives

Une étude comparative de trois techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans une plante médicinale, *Artemisia herba alba*, a été réalisée. Il s'agit, en l'occurrence, de (i) l'extraction par macération dans le méthanol aqueux à 70 %, à température ambiante, pendant 24 heures (ii) l'extraction par l'eau chaude à 77°C, pendant 30 min, et (iii) l'extraction par l'eau bouillante pendant 30 min. Cette dernière est la méthode préconisée en médecine traditionnelle. La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique et l'efficacité antibactérienne des extraits obtenus.

Nous avons choisi d'effectuer nos extractions sur 10 g de poids sec, ce qui représente la dose moyenne utilisée traditionnellement par la population algérienne.

Du point de vue phytochimique, cette plante médicinale s'est révélée riche en composés phénoliques et en flavonoïdes, comme en témoigne l'apparition de colorations vert noirâtre et orange, par addition de FeCl_3 et de cyanidine, respectivement.

Les résultats de l'étude comparative montrent que le rendement d'extraction de ces composés le plus élevé a été obtenu par l'eau chaude, suivi par l'eau bouillante (méthode de médecine traditionnelle) et enfin par macération.

En revanche, le rendement en flavonoïdes dans les deux phases éther diéthylique et acétate d'éthyle issues de macération est approximativement deux fois plus élevé que ceux des mêmes phases issues des deux autres méthodes (extraction par l'eau chaude ou par décoction).

L'analyse qualitative, après séparation par CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) dans tous les extraits issus des trois méthodes. Ces taches, qui sont colorées principalement en bleu, jaune et orange, confirment la présence des composés visés.

Le nombre de taches visibles dans la phase n-butanol est plus élevé que celui que l'on observe dans les phases éther diéthylique et acétate d'éthyle, ce qui indique que la plante *Artemisia herba alba* est riche en flavonoïdes de type di-glycoside et tri-glycoside.

L'étude biologique montre que le pouvoir antibactérien diffère d'un extrait à l'autre, en rapport direct avec les différences de leurs compositions chimiques respectives. Ainsi, la phase d'extraction au n-butanol présente une activité inhibitrice plus importante par rapport aux autres phases, en accord avec son meilleur rendement d'extraction.

Cette étude montre donc que la méthode d'extraction par l'eau chaude est supérieure aux deux autres méthodes, aussi bien en termes de rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes que de pouvoir antibactérien des extraits. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour *Artemisia herba alba*, reste à confirmer pour les autres plantes médicinales.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

(A)

Akroum S. (2011) Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. *Thèse de doctorat en sciences*. Université Mentouri Constantine.

Athamena S. (2009) Etude quantitative des flavonoïdes des grains de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. *Thèse de magister*. Université Batna.

(B)

Barboni T. (2006) Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. *Thèse de doctorat*. Université de Corse Pascal Paoli.

Bassole H.N., kabore Z.I., Traore A.S. (2001) Etude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale. *Pharm Méd Trad* : 113-122.

Békro Y.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E. (2007) Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (baill.) herend et zarucchi (caesalpiniaceae). *Sciences & nature*. vol 4 n° 2: 217 – 225

Bencheqroun H.K., Ghanmi.M.,Satrani B.,Aafi A et Chaouch A. (2012) Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. **81**: 4 - 21.

Berton H. (2001) Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. *Editions De Borée (Clermont-Ferrand)*, France : 288

Bezza.L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou I., Haji., Mingllou F., Kalloustian J. (2010) Composition chimique de huile essentielle d'*Artemisia herba alba* provenant de la region de Biskra(Algerie), *Phytothérapie*. **8** :277-281.

Bouldjadj R. (2009) Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. *Thèse de magister*. Université Mentouri Constantine.

Bouquet A., Fouret A. (1975) Recherches chimiques préliminaires sur les plantes médicinales du Congo-Brazzaville. *FITOTERAPIA*. **46(4)**

Boriky D., Berrada m., Talbi m., Keravls g. and Rouessac f. (1996) eudesmanolides from artemisia herba-alba. *Phytochemistry*, vol. 43, no 1 : 309-311.

(D)

Dohou. N., Yamni .K., Tahrouch. S., Idrissi hassani L. M., Badoc A et Gmira N. (2003) Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, thymelaea lythroïdes. *Bull soc pharm Bordeaux*. **142** : 61-78.

Djebaili S, Djellouli Y et Daget P(1989) Les steppes pâturées des Hauts Plateaux algériens. *Fourrages*. **120** : 393-400.

(E)

Ebadi M. (2001) Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. *CRC Pres LLC*.

El kalamouni C. (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. *Thèse doctorat*. Université de Toulouse.

Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition). (2001), Dorling Kindersley Limited, Londres. Traduction française, par **Pierre Vican. Larousse / VUEF**.

(F)

Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D and Guo Z (1986) place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation de la sante* .64 (2), pp 159-175.

Fathiazad F., Matlobi A., Khorrani A., Hamedeyazdan S., Soraya H., Hammami M., Maleki-Dizaji N., Garjani A. (2012) Phytochemical screening and evaluation of cardioprotective activity of ethanolic extract of *Ocimum basilicum L.* (basil) against isoproterenol induced myocardial infarction in rat. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **20** : 87.

(G)

Gengmao Z., Yu H., Xing S., Shihui L., Quanmei S., Changhai W. (2015) Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Industrial Crops and Products*. **64** : 175-181.

Ghedira k. (2005) Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. **3(4)**: 162-169.

Ghrabi Z S and R L. (2008). *Artemisia herba alba* Asso. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa*: 49 - 49.

Gurib-Fakim A. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. **27**: 1-93.

(H)

Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M. (2014) Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des sciences et technologie*. Vol **6**. N° **1**.

Heller W and Forkmann G. (1993) Biosynthesis of flavonoids. In: The Flavonoids: Advances in research since **1986**. *Chapman and Hall*. London: 499-535.

Hussain A.I., Anwar F., Hussain Sherazi S.T., Przybylski R. (2008) Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Basil. *Food Chemistry*. **108**: 986-995

(J)

Jafari A., Aslani M.M., Bouzari S. (2011) *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. **4**: 102-117.

(K)

Kaper J. B., Nataro J. P et Mobley H L T. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*;Nat. *Rev. Microbiol.* **2**:123-140.

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

Kémajou A., Mba L., Bagda A .A (2012) Effet du séchage sur les principes actifs

des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces de *Alstonia*

boonei Wild, plante antipaludéenne. *Nature & Technologie*. N° **07** .

Khelifa L.H., Brada M., Brahmi F, Achour D., Fauconnier M.L and Lognay G. (2012) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* Leaves from the Northern Region of Algeria, *Topclass Journal of Herbal Medicine*. Vol. **1(2)** : 53-58.

Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006) Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique», *Pharm Méd Trad Afr*. Vol. **14** , pp 73-80.

(M)

Mahajan N., Rawal S., Verma M., Poddar M and Alok S. (2012) A phytopharmacological overview on *Ocimum species* with special emphasis on *Ocimum sanctum*. *Biomedicine & Preventive Nutrition* : 1-8.

Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N. (2013) Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* L.). *Nature & technologie*. b- sciences agronomiques et biologiques, N° **09** : 35-40.

Mamyrbekova-Bekro J., Boua B B ., Kouassi K C and Békro Y A. (2012) Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie*. B-Sciences Agronomiques et Biologiques. N° **08** : 02-12.

Merghem R. (2009) Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*: 95-121

Messai L. (2011) Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artémisia herba alba*). *Thèse de doctorat en sciences*. Université Mentouri Constantine.

Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H and Neffati M (2010)

Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C. R. Chimie* , 13 ,pp 380–386.

Mohamed A., El-Sayed M., Hegazy M., Helaly S., Esmail A and Mohamed M. (2010) Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba* *Re Nat Prod*. **4(1)** :1-25.

Mohammedi Z. (2005) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Thèse de Magistère*. Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen.

Mucciarelli M., Maffei M. (2002). *Artemisia*. Introduction to the genus. In: Wright CW (ed.) *Artemisia, London & New York: Taylor & Francis* : 1-50.

(N)

N'guessan K., Kadja B., Zirihi G N., Traoré D and Aké -Assi L. (2009) screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays krobou (agboville, côte-d'ivoire). *Sciences & nature*. Vol **6** N°**1**: 1-15.

Nacz M and Shahidi F. (2003) Phenolics in food and nutraceuticals. *Boca Raton, FL: CRC Press*.

Nkhili E (2009) Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. *Thèse de doctorat*. Université Cadi Ayyad – Marrakech.

Nshimiyimana D S and He Q. (2010) Radical Scavenging Capacity of Rwandan CTC Tea Polyphenols Extracted Using Microwave Assisted Extraction. *Pakistan Journal of Nutrition*. **9 (6)**: 589-593.

(O)

Odile C and Daniel R. (2007) Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3^{ème} Edition, *Wolters Kluwer France*: 141.

(P)

Pierre M., Lis .M (2007) Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463

Proksch P. (2002) *Artemisia herba-alba*. In: Wright CW (ed.) *Artemisia*, London & New York: Taylor & Francis: 81-86

(Q)

Quan V Vuong., Hirun S., Paul D.Roach., Michael C.Bowyer., Phoebe A. Phillips and Christopher J.Scarlett. (2013) Effect of extraction conditions on total phenolic compound and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts, *journal of herbal medicine*. **3**: 104–111.

(R)

Ramakrishna A and Ravishankar G A. (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. **6(11)**, 1-12.

Rihane K et Benlaharche R. (2013) activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales : *artémisia herba alba* et *ocimum basilicum* sur *escherichia coli* et *staphylococcus aureus*. *Mémoire de master université mentouri constantine*.

(S)

Saleh N A M., El-Negoumy S I., Abd-Alla M F., Abou-Zaid M M., Dellamonica G and Chopin G. (1985) Flavonoids glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herb alba*. *Phytochemistry*. **24(1)**: 201–203.

Seddik K., Nadjet I., Abderrahmane B., Daoud H and Lekhmici A. (2010) Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic Compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*. **4(13)** : 1273-280

Sofowera A. (2010) Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, *Economie et Développement*. Paris: 384

Stalikas C D (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* **49**: 2689-2696

(T)

Tajkarimi M M., Ibrahim S A and Cliver D O. (2010) Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control.* **21**: 1199-1218

Thayumanavan B and Sadasivam S. (2003) Molecular Host Plant Resistance to Pests. CRC Pres LLC.

Treki amina S., Merghem R., Dehimat L. (2008) Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie.* 29, pp: 25-29.

Tyihák E., Móricz Á M and Ott P.G. (2007) Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. *CRC Press.*

(V)

Vallès J and Mc Arthur. (2001) *Artemisia* systematic and phylogeny. *USDA Forest Service Proceeding RMRS*: 21

(W)

Wuyts N. (2006) Interaction entre les nématodes parasites des plantes et les métabolites secondaires des plantes, avec une emphase sur les phénylpropanoïdes dans les racines. *Info Musa.* **15**: 1-2

(Y)

Yaniv Z., Dudai N and Bachrach U. (2011) *Artemisia* spp. genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement: 327-352

Yashphe J., Segal R., Breuer A., Erdreich-Naftali G. (1979) Antibacterial activity of *Artemisia herba-alba*. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* **68(7)**: 924-925.

(Z)

Zeggwagh N.A., Sulpice T and Eddouks M. (2007) Anti-hyperglycaemic and Hypolipidemic effects of *Ocimum basilicum* Aqueous Extract in Diabetic Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology.* **2(3)** : 123-129.

Références bibliographiques

Zeghad N.(2009) Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . *Thèse de magister*. Université Mentouri Constantine.

Les sites internet :

- [www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé%20au%20naturel/thérapies)
- <http://sante.lefigaro.fr/sante/specialite/homeopathie/quest-ce-que-cest>
- <http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>

المخلص

الهدف من هذا العمل هو دراسة مقارنة بين ثلاث تقنيات لاستخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدات الموجودة في النبات الطبي الشيح العشبي الأبيض (*Artemisia herba alba*) : الاستخلاص بواسطة النقع (الميثانول مائي، 70٪) ، الاستخلاص بالماء الساخن (77 درجة مئوية، 30 دقيقة) والاستخلاص بالأسلوب المتبع في الطب التقليدي (الماء المغلي، 30 دقيقة). وترتكز المقارنة على مردود استخلاص هذه المركبات الأيضية ، الفحص الكروماتوغرافي و فعالية المستخلصات المتحصل عليها ضد البكتيريا.

في الجزء الأول من هذه الدراسة تم التأكد من تواجد هذه المركبات في مسحوق المادة النباتية بواسطة نوعين من التفاعلات الكيميائية النباتية: تفاعل FeCl₃ و تفاعل Cyanidine.

في الجزء الثاني، أظهرت الدراسة المقارنة بأن مردود الاستخلاص الأعلى قد تم الحصول عليه بواسطة طريقة الاستخلاص بالماء الساخن ، يليه الاستخلاص بالأسلوب المتبع في الطب التقليدي وأخيرا الاستخلاص بالنقع.

وقد سمح التحليل النوعي باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (الكشف الكيميائي و عن طريق الأشعة فوق البنفسجية عند 254 nm) بالكشف عن العديد من البقع في كل مستخلصات الطرق الثلاثة. عدد البقع في الطور n-butanol كان أعلى منه في الطورين ثنائي إيثيل الإيثر (éther diéthylique) و خلات الإيثيل (acétate d'éthyle) و هذا يدل على أن نبات الشيح العشبي الأبيض غني بالمركبات الفلافونويدية من نوع ثنائي وثلاثي الغلوكوزيدات.

في الجزء الأخير من هذا العمل، أظهرت طريقة نشر الأفراس على البيئة الصلبة المغذية ، ضد بكتيريا *Escherichia coli* ، بأن الطور n-butanol له نشاط تثبيطي أكبر من الأطوار الأخرى. و قدرة تثبيط البكتيريا الأعلى تم الحصول عليها بواسطة طريقة الاستخلاص بالماء الساخن ، تليها طريقة الاستخلاص المتبعة في الطب التقليدي وأخيرا طريقة الاستخلاص بالنقع.

في الختام، تظهر هذه الدراسة تفوق مؤكد لطريقة الاستخلاص بالماء الساخن و ذلك من حيث مردود استخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدات و قدرة المستخلصات المضادة للبكتيريا. ومع ذلك، تبقى هذه النتيجة التي تم الحصول عليها في نبات الشيح العشبي الأبيض محل التأكيد عند النباتات الطبية الأخرى.

الكلمات المفتاحية: الشيح العشبي الأبيض (*Artemisia herba alba*) ، طريقة الاستخلاص ، المركبات الفينولية ،

الفلافونويدات ، *Escherichia coli*.

Résumé

Le but du présent travail est l'étude comparative de trois techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans une plante médicinale, l'*Artemisia herba alba* : Extraction par macération (méthanol aqueux, 70 %), extraction par l'eau chaude (77°C, 30 min) et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (eau bouillante, 30 min). La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique et l'efficacité antibactérienne des extraits obtenus.

Dans la première partie de cette étude, la présence de ces composés dans la matière végétale broyée a été établie par deux tests phytochimiques (réaction au FeCl₃ et réaction à la cyanidine).

Dans la seconde partie, l'étude comparative a montré que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par l'eau chaude, suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle et enfin par macération.

L'analyse qualitative après séparation par CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) dans tous les extraits des trois méthodes. Le nombre de taches dans la phase n-butanol est plus élevé que celui dans les phases éther diéthylique et acétate d'éthyle, ce qui indique que la plante *Artemisia herba alba* est riche en flavonoïdes de type di-glycoside et tri-glycoside.

Dans la dernière partie de ce travail, la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, gélose nutritive, contre la bactérie *Escherichia coli* a montré que la phase n-butanol présente une activité inhibitrice plus importante que celle des autres phases. Le pouvoir antibactérien le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par l'eau chaude, suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle et enfin par macération.

En conclusion, cette étude montre une certaine supériorité de la méthode d'extraction par l'eau chaude, en termes de rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes et de pouvoir antibactérien des extraits. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour la plante *Artemisia herba alba*, reste à confirmer pour les autres plantes médicinales.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, méthode d'extraction, composés phénoliques, flavonoïdes, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The purpose of this work is the comparative study of three extraction techniques of phenolic compounds and flavonoids contained in a medicinal plant, *Artemisia herba alba*: Extraction by maceration (aqueous methanol, 70%), extraction with hot water (77 ° C, 30 min) and extraction with the method recommended in folk medicine (boiling water, 30 min). The comparison focuses on the extraction yield of target metabolites, chromatographic screening and antibacterial efficacy of the extracts obtained.

In the first part of this study, the presence of these compounds in the powdered plant material has been prepared by two phytochemical tests (reaction of FeCl₃ and reaction of cyanidin).

In the second part, the comparative study showed that the highest extraction efficiency was obtained by the method of extraction with hot water, followed by the extraction with the method recommended in folk medicine and finally by maceration.

Qualitative analysis after separation by TLC (chemical revelation and visualization under UV at 254 nm) allowed putting in evidence of numerous spots (spots) in all extracts of the three methods. The number of spots in the n-butanol phase is higher than in diethyl ether and ethyl acetate phases, indicating that the plant *Artemisia herba alba* is rich in flavonoids, type di- and tri-glycosides.

In the last part of this work, the disk diffusion method on solid agar, nutrient agar, against *Escherichia coli* showed that n-butanol phase has a greater inhibitory activity than other phases. The highest antibacterial activity was obtained by the method of extraction with hot water, followed by the extraction with the method recommended in folk medicine and finally by maceration.

In conclusion, this study shows a certain superiority of the method of extraction with hot water, in terms of extraction yield of phenolic compounds and flavonoids and the antibacterial power of the extracts. Nevertheless, this result obtained for the plant *Artemisia herba alba*, yet to be confirmed for other medicinal plants.

Key word: *Artemisia herba alba*, extraction method, phenolic compounds, flavonoids, *Escherichia coli*.

Nom et Prénom : Roumeissa LEHOUT, Maya LAIB

Master en Sciences : Option Biochimie Moléculaire et Santé

Thème: Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba*.

Résumé

Le but du présent travail est l'étude comparative de trois techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans une plante médicinale, l'*Artemisia herba alba* : Extraction par macération (méthanol aqueux, 70 %), extraction par l'eau chaude (77°C, 30 min) et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (eau bouillante, 30 min). La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique et l'efficacité antibactérienne des extraits obtenus.

Dans la première partie de cette étude, la présence de ces composés dans la matière végétale broyée a été établie par deux tests phytochimiques (réaction au FeCl₃ et réaction à la cyanidine).

Dans la seconde partie, l'étude comparative a montré que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par l'eau chaude, suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle et enfin par macération.

L'analyse qualitative après séparation par CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) dans tous les extraits des trois méthodes. Le nombre de taches dans la phase n-butanol est plus élevé que celui dans les phases éther diéthylique et acétate d'éthyle, ce qui indique que la plante *Artemisia herba alba* est riche en flavonoïdes de type di-glycoside et tri-glycoside.

Dans la dernière partie de ce travail, la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, gélose nutritive, contre la bactérie *Escherichia coli* a montré que la phase n-butanol présente une activité inhibitrice plus importante que celle des autres phases. Le pouvoir antibactérien le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par l'eau chaude, suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle et enfin par macération.

En conclusion, cette étude montre une certaine supériorité de la méthode d'extraction par l'eau chaude, en termes de rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes et de pouvoir antibactérien des extraits. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour la plante *Artemisia herba alba*, reste à confirmer pour les autres plantes médicinales.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, méthode d'extraction, composés phénoliques, flavonoïdes, *Escherichia coli*.