



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث 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 :

**Optimisation du temps d'extraction des composés
phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante
médicinale : *Artemisia herba alba***

Présenté et soutenu par :

Le : 16/06/2016

AKIF Mohamed

LAIFA Amel

Jury d'évaluation :

Président : Y.NECIB (Professeur- UFM Constantine)..

Rapporteur : B. BOUSEBA (MC.B-UFMConstantine).

Examineur : S. CHIBANI (MC.A- UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث 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 :

**Optimisation du temps d'extraction des composés
phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante
médicinale : *Artemisia herba alba***

Présenté et soutenu par :

Le : 16/06/2016

AKIF Mohamed

LAIFA Amel

Jury d'évaluation :

Président : Y.NECIB (Professeur- UFM Constantine)..

Rapporteur : B. BOUSEBA (MC.B-UFMConstantine).

Examineur : S. CHIBANI (MC.A- UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné Pour mener ce travail à terme.

*Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur **BOUSEBA Bachir** maître de conférences (classe B) à l'Université Frères Mentouri-Constantine, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans l'encadrement de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement monsieur «**Y. NECIB**» Professeur à l'Université Frères Mentouri-Constantine, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous exprimons mes vifs remerciements à monsieur «**S. CHIBANI**» maître de conférence (classe A) à l'Université 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-Constantine.*

*Nous remercions vivement le Professeur **S. KHENNOUF** et madame **B. NADJET**, pour nous avoir accueillies au sein du laboratoire de phytothérapie appliquée ou maladie chronique - Université de Sétif.*

*Nous tenons également à remercier **H. BOUMELLA**, **N. BOUDERSA** et **S. BENDAMENE.**, pour leur gentillesse et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.*

Nous adressons ici toute notre gratitude à l'équipe de laboratoire de biochimie, et à tous les membres de la plate-forme de biochimie moléculaire et santé.

Nous remercions les amis et camarades que nous avons rencontré pendant ce mémoire, ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.



Dédicace :

*Je dédie ce travail à
mes chers parents spécialement mon
père, qu'ils trouvent ici ma plus
profonde gratitude et tout mon amour
pour leur soutien tout au long de mes
études.*

*Tous mes chers amis surtout : Billel,
Souad, Choubaila, Meriem, Sara,
Soumia, Selma....*

*Pour leur soutien et leur amitié aussi
mes collègues pour leur aide et
l'ambiance.*

A tous ceux qui j'aime.

*A mon binôme qui partagé avec moi
les moments difficiles de ce travail.*

Amel

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents.

*Qui m'avez dirigé et suivi pondant toute mes étude, leurs
conseils m'ont suivi permis d'atteindre le bous de chemin.*

Soient fiers de moi aujourd'hui.

A mes frères : fares et walid.

A ma sœur sihem.

*A mes enseignants de la spécialité de biochimie
Moléculaire et santé.*

A Mon binôme.

A tous mes camarades de promotion.

A tous mes amis.

mohamed

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : La famille des Astéracées (Asteraceae) et le genre Artemisia.....	03
I. 1 – Ordre d’Asterales	03
I. 2 – La famille des Asteraceae.....	03
I. 3 – Utilisation de la famille des Astéracées en médecine traditionnelle	07
I. 4 - Parties de plantes médicinales utilisées.....	08
I. 5 - Récolte, Séchage et conservation des plantes médicinales.....	09
I. 6 – <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	10
I. 6. 1 – Définition	10
I. 6. 2 – Description botanique.....	11
I. 6. 2 – Systématique.....	12
I. 6. 3 – Composition chimique.....	12
Chapitre II : Les métabolites secondaires	18
II. 1- Définition.....	18
II. 2- Fonction écologique de métabolites secondaires.....	18
II. 3 – Techniques d’extraction des métabolites secondaires.....	19
II. 3. 1–Extraction solide-liquide.....	21
II. 3. 2–Extraction liquide-liquide.....	21
II. 4 –Techniques d’extraction des composés phénoliques et flavonoïdes.....	22
II. 4. 1–Extraction par macération.....	22
II. 4. 2–Extraction avec de l’eau chaude	22
II. 4. 3–Extraction par décoction.....	22
II. 4. 4–Extraction par Soxhlet.....	22
II. 4. 5–Extraction assistée par micro-ondes.....	22
II. 4. 6–Extraction assistée par ultrason.....	23
II. 5 – Facteurs influant sur la qualité globale d'un extrait.....	23
II. 5. 1– Nature du matériel végétal.....	23
II. 5. 2– Caractéristiques des solvants	24
II. 5. 2– Facteurs d'extraction.....	24

II. 5 –Les composés phénoliques et flavonoïdes.....	25
II. 5. 1 –Les composés phénoliques.....	25
II. 5. 1. 1 –Définition des composés phénoliques	25
II. 5. 1. 2 –Biosynthèse des composés phénoliques	26
II. 5. 2 –Les flavonoïdes	27
II. 5. 2. 1 –Définition des flavonoïdes.....	27
II. 5. 2. 2–Structure et biosynthèse des flavonoïdes	27
Chapitre III : Activité antibactérienne.....	
III. 1-Définition.....	30
III. 2-Activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes.....	30
III. 3-Activité antibactérienne du genre Artemisia.....	32
Chapitre IV : MATERIEL ET METHODES	
IV. Matériel et méthodes	34
IV. 1-Matériel végétal.....	34
IV. 2-Souches bactériennes.....	35
IV. 3-Réactifs.....	35
IV. 4- Optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	36
IV. 4. 1- Rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes.....	36
IV. 4. 1. 1-Extraction des composés phénoliques et flavonoïdes.....	36
IV. 4. 1. 2 - Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	38
a-Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl ₃).....	38
b-Mise en évidence des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine).....	38
IV. 4. 1. 3 - Détection des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine).....	38
IV. 4. 1. 4- Extraction des flavonoïdes.....	38
IV. 4. 1. 4. 1 - Affrontement par l'éther diéthylique.....	39
IV. 4. 1. 4. 2 - Affrontement par l'acétate d'éthyle.....	40
IV. 4. 1. 4. 3 - Affrontement par le n butanol.....	40
IV. 4. 1. 4. 4–Evaporation.....	40
IV. 4. 1. 4. 5 - Détermination du rendement.....	41
IV. 4. 2- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.....	42
IV. 4. .2 1-Dosage des composés phénoliques totaux.....	42
IV. 4. .2 2-Dosage des flavonoïdes.....	42
IV. 4. 3- Chromatographie sur couche mince (CCM).....	43

• Révélation et calcul du rapport frontal (Rf).....	44
IV. 4- 4- Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes.....	45
• Préparation d'inoculum.....	45
• Préparation des disques.....	45
• Test d'activité antibactérienne.....	45
• Lecture des résultats.....	46
Chapitre V : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	
V. Optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	47
V. 1- Rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes.....	47
V. 1. 1- Tests de détection des composés phénoliques et flavonoïdes.....	47
V. 1. 2- Détermination du rendement.....	48
V. 1. 2. 1- Détermination du rendement en composés phénoliques.....	48
V. 1. 2. 2- Détermination du rendement en flavonoïdes.....	49
V. 2- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.....	50
V. 2. 1- Dosage des composés phénoliques totaux.....	50
V. 2. 2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	52
V. 3- Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes.....	54
V. 4- Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes.....	57
CONCLUSION.....	59
RESUME.....	
REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES	

LISTE D'ABREVIATION

°C	: Degré Celsius
%	: Pourcentage
AcOEt	: Acétate d'éthyle
AG	: Acide gallique
BuOH	: Butanol
C	: Carbone
CCM	: Chromatographie sur couche mince
<i>E.coli</i>	: <i>Esherichia coli</i>
EtOH	: Éthanol
E	: Extrait
EAG	: Extrait d'acide gallique
EQ	: Extrait de quercétine
FeCl₃	: Chlorure de fer
H₂O	: Eau
Hcl	: Acide chlorhydrique
LLE	: L'extraction liquide-liquide
MeOH	: Méthanol
mg	: Milligramme
ml	: Millilitre
µg	: Microgramme
µl	: Microlitre
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: Les 14 ordres de la sous-classe <i>Asteridae</i>	03
Figure 2 : Fleurs de la famille des Astéracées.....	04
Figure 3: Fleurs de la famille <i>Asteraceae</i>	05
Figure 4: Les akènes de la famille <i>Asteraceae</i>	07
Figure 5: <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).Barrage Ain Zada (Wilaya de Sétif).....	11
Figure 6: Les sesquiterpènes lactones d' <i>Artemisia herba alba</i> poussant en Egypte, au Maroc, en Espagne et en Algérie.....	17
Figure 7: Fonctions écologiques et physiologiques de métabolites secondaires des plantes....	19
Figure 8: Processus d'extraction des substances botaniques actives.....	20
Figure 9: Extraction solide-liquide Avant l'extraction (à gauche) et après extraction (à droite)	21
Figure 10: Distribution des composés à séparer entre les deux liquides de séparation.....	21
Figure 11: Facteurs influant sur la qualité globale d'un extrait.....	23
Figure 12: Influence de type de solvant et du temps d'extraction sur la teneur polyphénols totaux.....	24
Figure 13: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine.....	26
Figure 14: Voies de la biosynthèse des flavonoïdes.....	29
Figure 15: Ain Zada, région de Sétif (Nord-est de l'Algérie).....	34
Figure 16: Broyat des feuilles d' <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	35
Figure 17 : Organigramme d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes avec de l'eau chaude (77°C, 15, 30 et 45 minutes).....	37
Figure 18: Lyophilisateur.....	39
Figure 19 : Processus d'extraction des aglycones (Extraction liquide-liquide).....	40
Figure 20 : Extraction, dosage et activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes.....	41
Figure 21 : Développement du chromatogramme.....	44
Figure 22 : Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'extraits obtenus.....	46
Figure 23 : Rendement des trois phases : Ether diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol....	50
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique, à 760 nm.....	51
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la quercétine, à 430 nm.....	53
Figure 26 : Résultats de la CCM, séparation des composés phénoliques et flavonoïdes	54

présents dans les feuilles de la plante *Artemisia herba alba* (Asso).....

Figure 27 : Pouvoir antibactérien des différents extraits obtenus à partir des feuilles
d'*Artemisia herba alba* (Asso)..... **58**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récolte et séchage de différentes parties des plantes médicinales utilisées	10
Tableau 2 : Classification de la plante <i>Artemisia herba-alba</i>	12
Tableau 3 : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes.....	25
Tableau 4 : Les différentes classes de flavonoïdes et leurs substitutions.....	27
Tableau 5 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne.....	31
Tableau 6 : Activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia mesatlantica</i> Collectées au Maroc au mois de Mars 2010 dans la région d'Ifrane Boulmane.....	32
Tableau 7 : Activité antimicrobienne des extraits méthanoliques.....	33
Tableau 8 : Systèmes solvants utilisés pour la CCM.....	43
Tableau 9 : Tests de détection des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la matière végétale d' <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	48
Tableau 10 : Masse et rendement des extraits obtenus après lyophilisation.....	48
Tableau 11 : Rendement des trois phases : Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n- butanol.....	49
Tableau 12 : Teneur en composés phénoliques (mg EAG/ml E).....	51
Tableau 13 : Teneur en flavonoïdes (mg EQ/ml E).....	52
Tableau 14 : Résultats de la CCM, séparation des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les feuilles de la plante <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	56
Tableau 15 : Pouvoir antibactérien des différents extraits obtenus à partir des feuilles d' <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	57

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Introduction

Plus de 30 % des préparations pharmaceutiques sont issues de plantes médicinales. La valeur thérapeutique de ces plantes est due à la présence de faibles doses de substances qui produisent des actions physiologiques sur le corps humain ou le corps animal (**Hota, 2007**).

Ces substances actives, dites métabolites secondaires, ne sont pas produites directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. Elles sont classées en trois groupes essentiels : Les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (tanins, coumarines, lignine et flavonoïdes).

L'*Artemisia herba alba*(Asso) est une plante herbacée vivace. Elle appartient à l'un des genres les plus répandus de la famille des *Astéracées*. Elle a une valeur thérapeutique très importante en raison des métabolites secondaires qu'elle renferme, notamment les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes.

Cette plante est très utilisée, aussi bien pour ses vertus médicinales que cosmétiques. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies dont les infections urinaires, le diabète, l'hypertension artérielle, les troubles gastrique tels que la diarrhée et les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies externes, la bronchite, l'abcès et comme vermifuge.

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

Comme pour toute plante médicinale, l'extraction des principes actifs à partir de l'*Artemisia herb aalba* (Asso) est influencée par plusieurs facteurs, notamment la nature chimique des composés à séparer, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules de l'échantillon, le pH, la température et le temps d'extraction (**Telliet al., 2010 ; Dentet al., 2013**).

Ce travail est une suite à celui qui a été réalisé sur la même plante et qui portait sur la comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes (**Master BMS, 2015**). Les résultats de l'étude précédente ont montré que la méthode d'extraction avec de l'eau chaude (à 77 °C, pendant 30 min) présente une certaine supériorité en termes de rendement d'extraction des principes actifs et de pouvoir antibactérien des extraits.

L'objectif visé dans le présent travail est l'optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes. Notre étude porte plus précisément sur le rendement d'extraction des métabolites visés, leur dosage et leur pouvoir d'inhibition contre la bactérie *Escherichia coli* (ATCC 25922).

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

- ❖ Chapitres I, II et III: Synthèse bibliographique sur la matière végétale étudiée, les métabolites secondaires, les différentes méthodes d'extraction, et l'activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes.
- ❖ Chapitre IV : Matériel et méthodes. Nous y présentons le matériel utilisé et les techniques expérimentales(i) d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes, (ii) de dosage quantitatif de ces métabolites ; (iii) de la mise en évidence des flavonoïdes par la chromatographie sur couche mince et enfin (iv) du test antimicrobien des extraits obtenus.
- ❖ Chapitre V : Résultats et discussion
- ❖ Conclusion et perspectives.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La famille des *Astéracées* (*Asteraceae*) et le genre *Artemisia*

I. 1 – Ordre d'*Asterales*

L'ordre des *Asterales* est l'un des grands ordres de sous-classe *Asteridae*, ce sont des plantes dicotylédones (**Figure 1**).

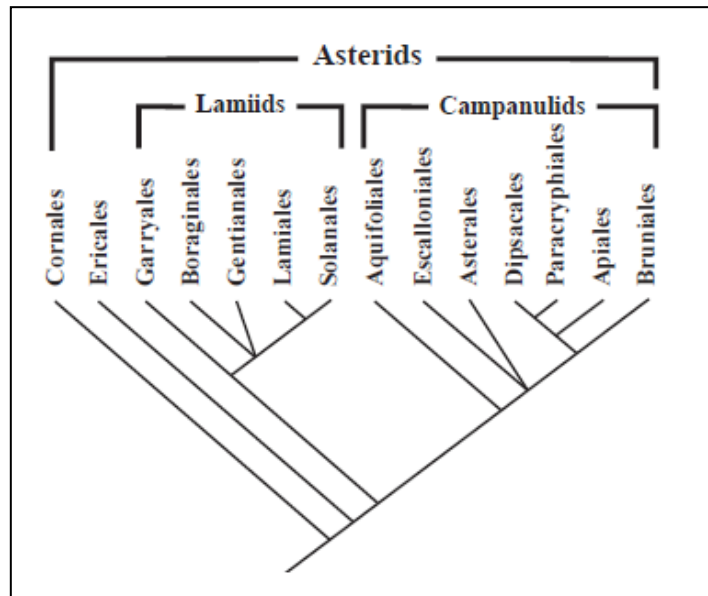


Figure 1 : Les 14 ordres de la sous-classe *Asteridae* (Simpson, 2010).

Il renferme 11 familles: Alseuosmiaceae, Argophyllaceae, Asteraceae (Compositae), Calyceraceae, Campanulaceae (incl. Lobeliaceae), Goodeniaceae, Menyanthaceae, Pentaphragmataceae, Phellinaceae, Rouseaceae et Stylidiaceae (Simpson, 2010).

I. 2 – La famille des *Asteraceae*

Le terme « *Asteraceae* » vient du mot grec « *Aster* » qui signifie étoile, parce que les fleurs de cette famille sont radiées, c'est-à-dire ont des rayons comme étoile (**Figure 2**).

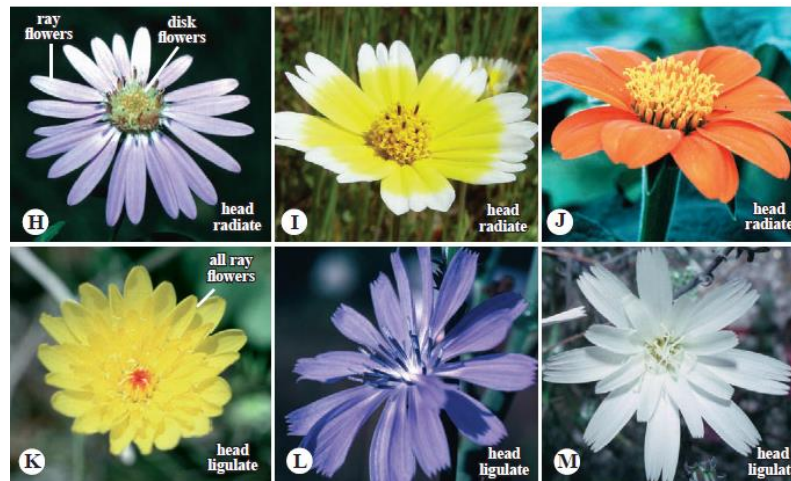


Figure 2 : Fleurs de la famille des *Astéracées* (Simpson, 2010)

La famille des Astéracées (anciennement appelées Composées) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces. On les rencontre dans le monde entier. Economiquement très importantes, certaines sont des plantes alimentaires, elles fournissent les huiles utilisées en cuisine. D'autres sont des plantes médicinales utilisées en phytothérapie pour le traitement ou la prévention des maladies par l'usage de certaines parties de ces plantes telles que les racines, les tiges ou les feuilles.

Cette famille présente les caractères morphologiques suivants (Sell et Murrell, 2005 ; Simpson, 2010) :

- Plantes herbacées annuelles ou vivaces, rarement arbustes et souvent avec latex.
- Feuilles : habituellement alternes, moins souvent opposées, rarement verticillées (insérés au même niveau, par groupe de trois unités au minimum, en cercle autour d'un axe (tige ou rameau), pétiolées ou sessiles, toujours exstipulées (Qui n'ont pas de stipules).
- Fleurs (**Figure 3**): généralement nombreuses, petites, regroupées sur un réceptacle, entourées de bractées (capitule), zygomorphes (symétrie bilatérale) ou actinomorphes (symétrie radiaire), bisexuelles ou unisexuées, épigyne (insérées sur l'ovaire).

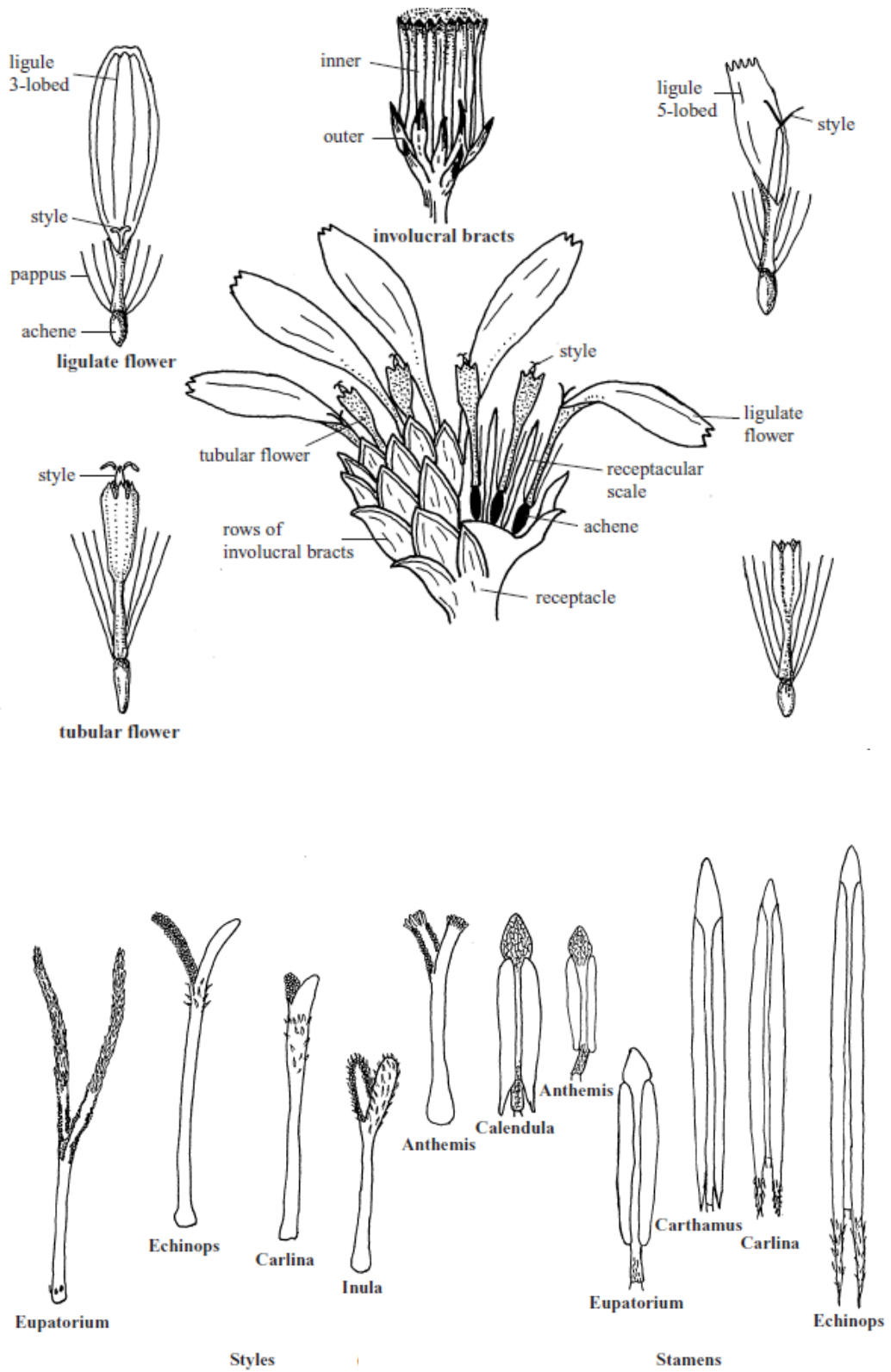


Figure 3 : Fleurs de la famille Asteraceae (Kâre, 1994)

Calice : absent ou représenté par un pappus. Le pappus est composé d'un faisceau de poils, de soies capillaires, lisses, scabres ou plumeuses, unisériées (disposés sur un seul rang) ou bisériées (disposés sur deux rangs).

Corolle : (4-) 5 pétales soudés dans un tube avec 4-5 dents au sommet (fleurs tubulaires) ou fleurs à corolles ligulées.

Étamines : 5 étamines portées sur le tube de la corolle.

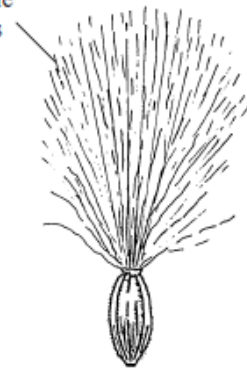
Ovaire : 1 ovule.

Fruit (**Figure 4**) : akène (parfois écrit achaine ou achène), souvent avec un pappus persistant.



Tragopogon pratensis
subsp. *minor* (Mill.) Wahlenb.

pappus of simple
glandular hairs



Sonchus asper (L.) Hill

pappus of
plumed hairs



Leontodon hispidus L.



Arctium lappa L.
subsp. *minus*

pappus a
small rim



Matricaria recutita L.

pappus a rim



Anthemis arvensis L.

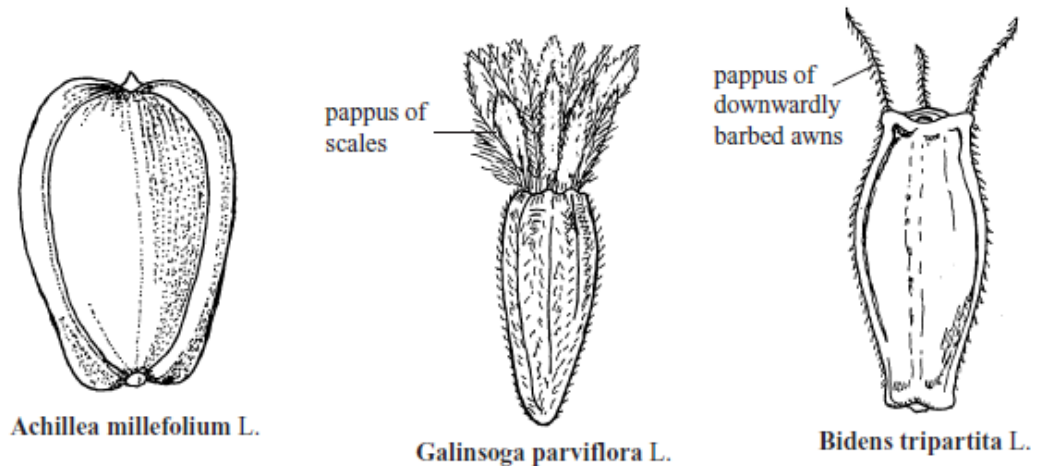


Figure 4 : Les akènes de la famille Asteraceae (Kâre, 1994)

I. 3 – Utilisation de la famille des Astéracées en médecine traditionnelle

D'après **Rwangabo (1993)**, la thérapeutique traditionnelle est considérée comme « l'ensemble de toutes les connaissances et pratiques explicables ou non, auxquelles on recourt pour diagnostiquer, prévenir, guérir complètement ou éliminer partiellement un déséquilibre physique, mental ou social, en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation transmise de génération en génération, oralement ou par écrit ».

Les plantes de la famille des astéracées sont largement utilisées par la médecine traditionnelle, notamment dans les pays en voie de développement y compris l'Algérie. A titre d'exemple, on citera :

Anvillea Radiata, *Cotula cinerea* et *Matricaria Pubescens*, sont des plantes couramment utilisées dans la médecine traditionnelle dans le sud-ouest de l'Algérie (nord du Sahara), pour le traitement de plusieurs maladies tels que : le diabète, l'indigestion, le froid, les maux d'estomac et pulmonaire, la diarrhée, l'ulcère gastrique, les gaz, l'asthme, les allergies, les troubles oculaires et les rhumatismes (**Djellouli et al., 2013**).

Artemisia herba-alba (Asso), utilisée par les deux populations Algérienne et Tunisienne pour le traitement traditionnel de bronchite, de diarrhée, de névralgies, d'hypertension et pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et pour abaisser l'hyperglycémie (**Zouari et al., 2014 ; Bougoutaia et al., 2014**).

Bidens pilosa L, est une plante herbacée employée traditionnellement au Congo comme anti-poison, contre les affections grippales et fièvres et pour soigner les hémorroïdes (**Kouakou et al., 2008**).

El Azzouzi et Zidane (2015), ont inventorié 69 espèces appartenant à 63 genres et 39 familles parmi lesquelles les : Lamiaceae (23.07%), Apiaceae (17.94%), Asteraceae (7.69%) et Fabaceae (7.69%) sont les plus représentées dans la phytothérapie traditionnelle de la ville de Béni-Mellal (Maroc).

I. 4- Parties de plantes médicinales utilisées

En médecine traditionnelle, le choix du parti de la plante utilisée est une étape très importante dans la préparation des remèdes.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par **Gurib-Fakim, 2006 ; ANSM, 2014** :

Racine: Les racines peuvent être fibreuses, solide 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.

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*).

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 piperita*; *Cananga odorata*).

I. 5 - Récolte, Séchage et conservation des plantes médicinales.

Selon **Ehrhart et Anne-Sophie (2003)**, plusieurs éléments interviennent lors de la récolte des plantes médicinales: l'âge de la plante, l'époque de l'année, et les parties de la plante à récolter.

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.

Pour conserver au mieux les constituants actifs des plantes, il faut conserver ces dernières dans un endroit sombre, abrité et bien aéré. La température ne doit pas dépasser les 37 degrés (**Ehrhart et Anne, 2003**).

Le **tableau 5** résume la période de la récolte et la méthode de séchage de différentes parties des plantes médicinales utilisées.

Tableau 1 : Récolte et séchage de différentes parties des plantes médicinales utilisées (Valnet, 2001).

Partie de la plante	Cueillette	Séchage
Racines		A l'air sec
Racines charnues		A l'étuve
Racines mucilagineuses		Au four
Racines vivaces	Au printemps	
Racines des plantes annuelles et bisannuelles	En automne	
Ecorce des plantes annuelles et bisannuelles	Quand il a acquis une certaine épaisseur et se sépare facilement du corps	Au soleil ou à l'étuve
Ecorce d'arbre	En hiver	
Ecorce d'arbrisseau	En automne	
Ecorce de résineux	En printemps	
Bois		
Fleurs	Au début de leur épanouissement Les fleurs de rose se cueillent en boutons	A l'ombre et à atmosphère sèche
Feuilles	Avant la floraison	
Semences	Quand la plante se dessèche	
Tiges	En même temps que les feuilles	Au soleil ou dans une serre à 30-35°C
Feuilles épaisses		
Bourgeons	Au début du printemps	
Fruits	Un peu avant complète maturité	

I. 6 – *Artemisia herba alba* (Asso)

I. 6. 1 – Définition

L'*Artemisia herba alba* (Asso) est une espèce de plantes steppiques du genre *Artemisia*. Ce genre appartient à la famille des Astéracées (Composites), avec plus de 350 espèces différentes qui se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord et d'Asie (Boudjelal, 2013). La majorité de ces espèces sont largement utilisées en médecine traditionnelle.

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

Plusieurs noms sont attribués à la plante *Artemisia herba alba* (Asso) (**Messai, 2015**) : Armoise blanche (en France) ; Wormwood (en Angleterre) ; Shih (الشيح) ou Shih khorasani (الشيح الخرساني) (En Afrique du Nord et au Moyen-Orient) ; Kaysoum (القيسوم) (Au Maroc occidental).

I. 6. 2 – Description botanique

L'*Artemisia herba alba* (Asso) est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long qui caractérisé par une odeur de thymol. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes (**Nawwar et al., 1989**).

La **figure 5** montre une partie de la steppe d'*Artemisia herba alba* (Asso) située au niveau du barrage Ain Zada (Wilaya de Sétif).

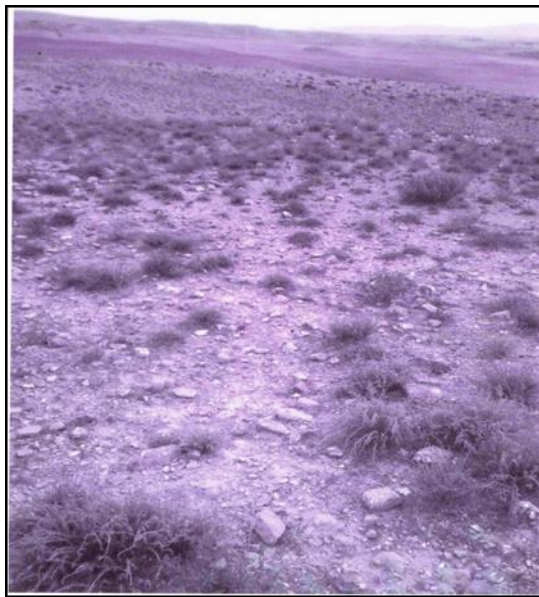


Figure 5: *Artemisia herba alba* (Asso)
Barrage Ain Zada (Wilaya de Sétif)

I. 6. 2 – Systématique

La plante *Artemisia herba alba*(Asso) a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Asso y del Rio (**Site web N°1**). Le **tableau 2** représente la classification classique de cette plante.

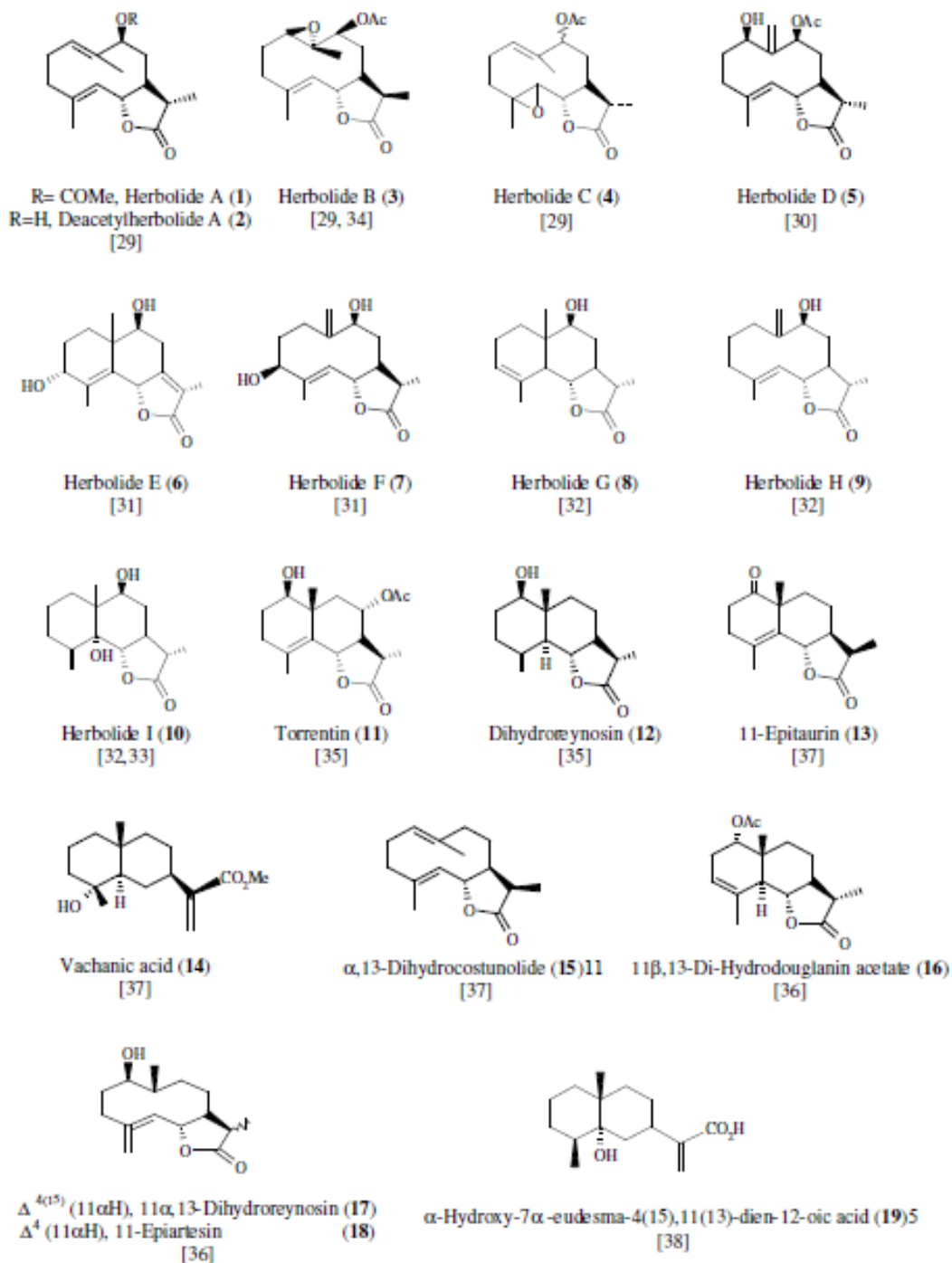
Tableau 2: Classification de la plante *Artemisia herba-alba* (Vallès et Mc Arthur, 2001 ; Mohamed *et al.*, 2010)

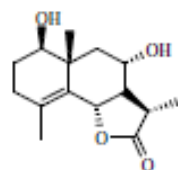
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Superdivision	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous-famille	<i>Asteroideae</i>
la tribu	<i>Anthemideae</i>
Sous-tribu	<i>Artemisiinae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

I. 6. 3 – Composition chimique

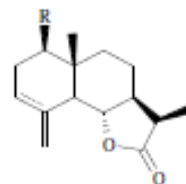
Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés dans les extraits et les huiles essentielles de la plante *Artemisia herba alba*, dont les sesquiterpènes lactones sont les plus importants.

La **figure 6** représente les sesquiterpènes lactones de cette plante poussant en Egypte, au Maroc, en Espagne et en Algérie.

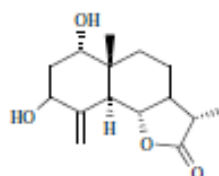




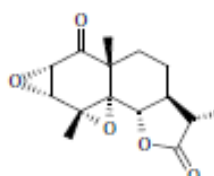
1β,8α-Dihydroxyeudesm-4-en-6β,7α,11βH-12,6-olide (20)
[36]



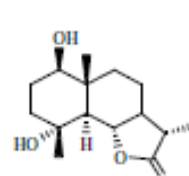
R = OH, Δ³, 5αH, 11α, 13-Dihydrosantamarin (21)
R = H, Δ^{4,5}, 5αH, 13-Dihydro-β-cyclocostunolide (22)
[37]



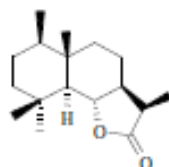
3-Epi-erivanin (23)
[38]



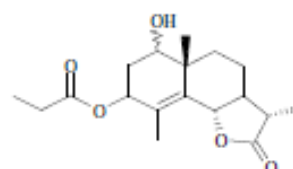
1-Oxo-2α,3α,4α,5α-diepoxyeudesman-11βH-12,6α-olide (24)
[39]



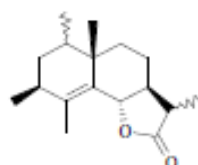
1β-Hydroxy colartin (25)
[38]



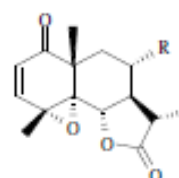
R1 = H, R2 = Me, R3 = OH, 11-Epicolartin (26)
R1 = OH, R2 = Me, R3 = OH, 1β-Hydroxy-11-epicolartin (27)
R1 = OH, R2 = Me, R3 = Me, 1β-Hydroxy-4,11-diepicolartin (28)
[37]



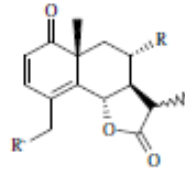
1β-OH, 1β-Hydroxy-3β-propionyloxy-6β,7α,11βH-eudesm-4-en-12,6-olide (29)
1α-OH, 1α-Hydroxy-3β-propionyloxy-6β,7α,11βH-eudesm-4-en-12,6-olide (30)
[38]



R1 = β-OH, R2 = Ac (11αH), 11-Epitorrentin (31)
R1 = α-OH, R2 = Ac (11αH), 1,11-Diepitorrentin (32)
R1 = β-OH, R2 = H (11βH), Deacetyltorrentin (33)
R1 = βOH, R2 = H (11αH), 11-Epi-deacetyltorrentin (34)
[41]



R = H, 1-Oxo-4α,5α-Epoxyeudesm-2-en-11βH-12,6α-olide (35)
R = OH, 1-Oxo-8α-Hydroxy-4α,5α-epoxyeudesm-2-en-11βH-12,6α-olide (36)
[39]



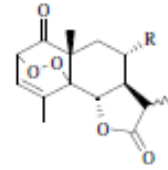
R = R' = H (11 α H), 1-Oxo-eudesma-2,4-dien-11 α H-12,6 α -olide (37)

R = R' = H (11 β H), 1-Oxo-eudesma-2,4-dien-11 β H-12,6 α -olide (38)

R = OH, R' = H (11 α H), 1-Oxo-8 α -hydroxy-eudesma-2,4-dien-11 α H-12,6 α -olide (39)

R = OH, R' = H (11 β H), 1-Oxo-8 α -hydroxy-eudesma-2,4-dien-11 β H-12,6 α -olide (40)

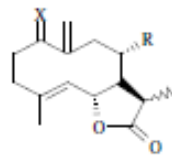
R = H, R' = OH (11 β H), 1-Oxo-15-hydroxy-eudesma-2,4-dien-11 β H-12,6 α -olide (41) [39]



R = H (11 α H), 1-Oxo-2 α ,5 α -peroxyeudesma-3-en-11 α H-12,6 α -olide (42)

R = H (11 β H), 1-Oxo-2 α ,5 α -peroxyeudesma-3-en-11 β H-12,6 α -olide (43)

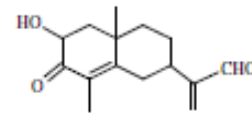
R = OH (11 β H), 1-Oxo-8 α -Hydroxy-2 α ,5 α -peroxyeudesma-3-en-11 β H-12,6 α -olide (44) [39]



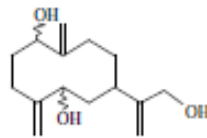
R = H, X = O (11 α H), 1-Oxo-germacra-4,10(14)-dien-6 β ,7 α ,11 α H-12,6-olide (45)

R = OH, X = H, β OH (11 α H), 11-Epishonachalin A (46)

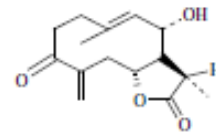
R = OH, X = H, β OOH (11 β H), 1 β -Hydroperoxy-8 α -hydroxygermacra-4,10(14)-dien-6 β ,7 α ,11 β H-12,6-olide (47) [36]



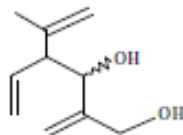
2 β -Hydroxy-13- α - α -cyperene (48) [43]



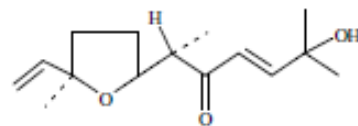
1 β ,5,12-Trihydroxygermacra-1(10),4(15),11(13)-triene (49) [43]



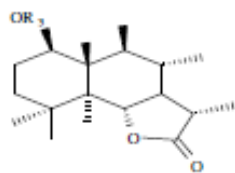
3 β -Hydroxy-8-oxo-6 β H,7 α H,11 β H-germacran-4(14),9(10)-dien-6,12-olide (50) [42]



7-Hydroxy-5,6-dehydro-4,5-dihydrolyratrol (51) [43]

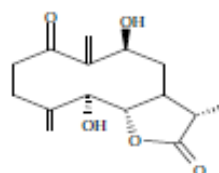


2,6,10-Trimethyl-Cis-7,10-oxido-dodeca-3E,11-dien-2-ol-5-one (52) [42]

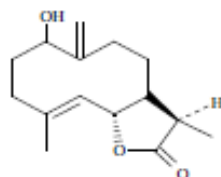


R1 = H, R2 = OH, R3 = Ac, R4 = H, R5 = H,
5a-Hydroxy-11,13-dihydroreynosin acetate (53)

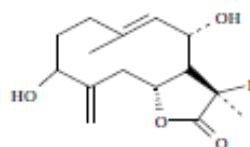
R1 = R2 = R3 = R4 = H, R5 = OH,
9b-Hydroxy-11,13-dihydroreynosin (54)
[43]



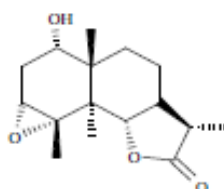
5β,9β-Dihydroxy-1-Oxo-germacra-1(10),4(15)-dien-12,6-olide (55)
[43]



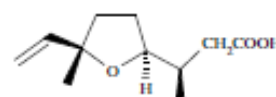
1β-Hydroxy-6βH,7αH,11αH-germacran-
4(5)-10(15)-dien-6,12-olide (56)
[42]



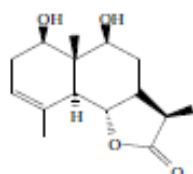
3β,8α-Dihydroxy-6βH,7αH,11βH-germacran-4(14),9(10)-dien-6,12-olide (57)
[42]



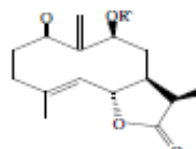
Herbalbin (58)
[45]



(3R,4S,7R)-3,7-Dimethyl-4,7-epoxynon-8-enoic acid (59)
[44]



9β-Dihydroxyeudesm-3-en-5α,6β,11βH-12,6-olide (60)
[44]



R = H, 1-Oxo-9β-Hydroxygermacra-4,10(14)-dien-6β,11βH-12,6-olide (6)
R = Ac, 1-Oxo-9β-Acetoxgermacra-4,10(14)-dien-6β,11βH-12,6-olide (6)
[44]

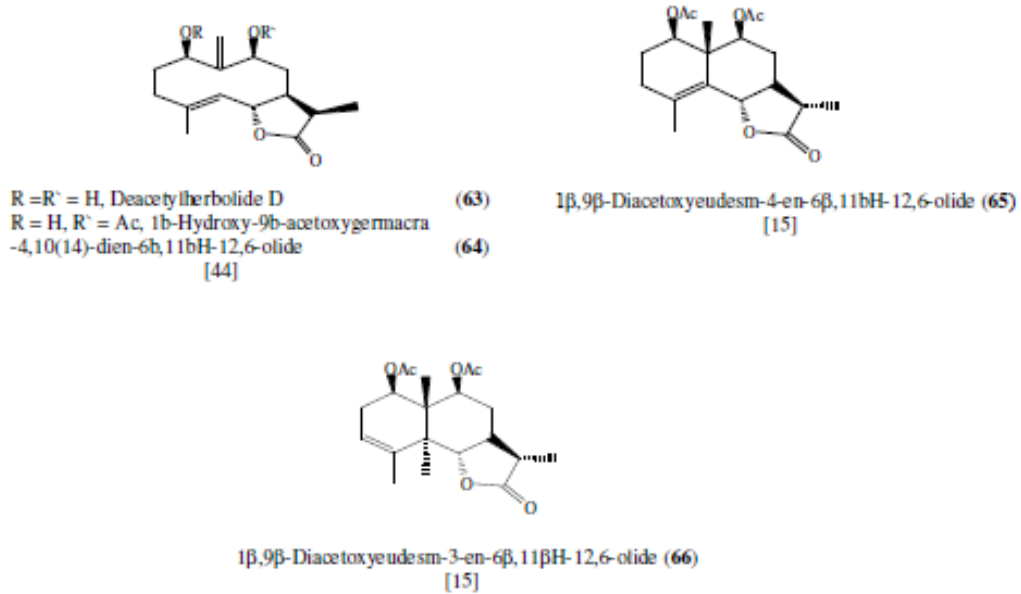


Figure 6 : Les sesquiterpènes lactones d'*Artemisia herba alba* poussant en Egypte, au Maroc, en Espagne et en Algérie. (Mohamed et al., 2010)

D'après la même référence (Mohamed *et al.*, 2010), les flavonoïdes détectés dans l'*Artemisia herba-alba* montrent une grande diversité structurale, allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes hautement méthylés.

II. Les métabolites secondaires

II. 1-Définition

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules organiques de grande diversité structurales, ils n'appartiennent pas au métabolisme primaire, c'est-à-dire ne sont pas directement impliquées dans la photosynthèse, la respiration et la croissance et le développement de la plante. Ce sont des outils très importants à la vie des plantes, elles les utilisent surtout contre les herbivores, les microbes (bactéries, champignons) et les virus (**Wink, 2009**).

En général, les termes : composés secondaires, composés phytochimiques et facteurs antinutritionnel sont été utilisées dans la littérature pour désigner ce groupe de composés (**Makkar et al, 2007**).

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**).

Sur la base de leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires végétaux peuvent être divisés en trois groupes principaux: (i) les flavonoïdes et composés polyphénoliques, (ii) les terpénoïdes (iii) les alcaloïdes contenant de l'azote et les composés qui contiennent du soufre (**Crozier et al, 2006**).

II. 2-Fonction écologique de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires jouent des rôles très importants et très variés. Ils peuvent servir de défense, d'attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (pollinisateurs) et peuvent également permettre la communication entre les plantes (**Figure 7**).

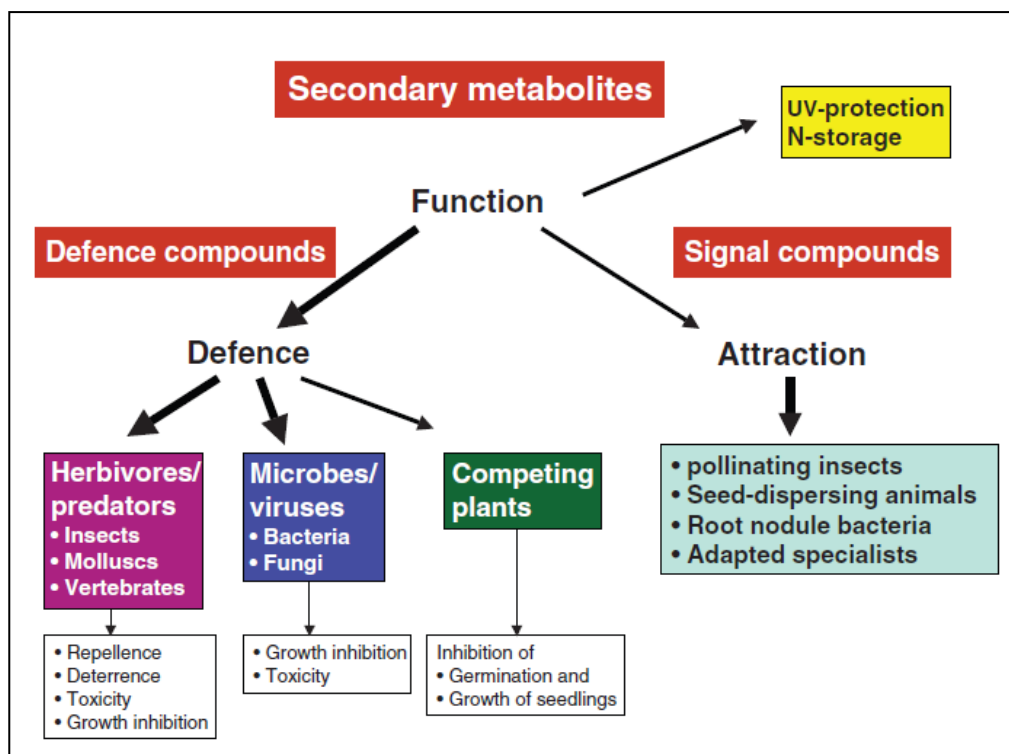


Figure 7 : Fonctions écologiques et physiologiques de métabolites secondaires des plantes (Wink, 2009).

II. 3 – Techniques d'extraction des métabolites secondaires

L'extraction initiale est la première étape de l'isolement et de l'analyse des métabolites secondaires. Elle est toujours réalisée sur une petite quantité de matière végétale pour obtenir un extrait primaire (figure 8).

Une fois le métabolite spécifique a été identifié dans l'extrait initial, il peut alors être souhaitable de l'isoler en plus grandes quantités.

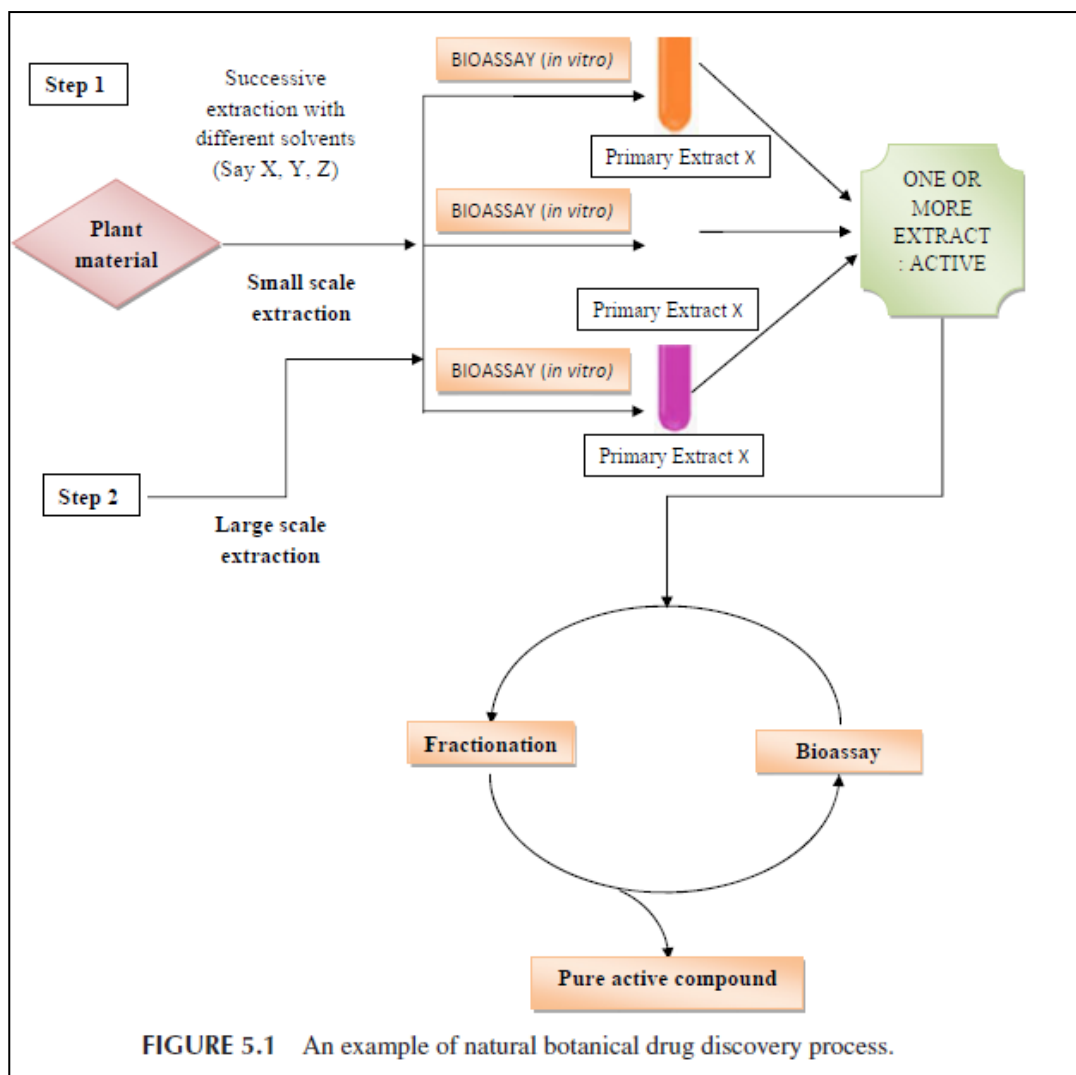


FIGURE 5.1 An example of natural botanical drug discovery process.

Figure 8 : Processus d'extraction des substances botaniques actives (Subhash et al, 2015)

En raison de la composition souvent très complexe de la matière végétale et la quantité infime des phytoconstituants présents, la sélection d'une technique d'extraction pertinente et stratégique est d'une importance primordiale.

En générale, la technique d'extraction des métabolites secondaires est la méthode et les moyens utilisés pour extraire sélectivement un (ou plusieurs) de ces composés d'un mélange initial, sur la base de la différence de leurs solubilités dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique (Penchev, 2010).

II. 3.1–Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide (SLE) est l'une des techniques les plus utilisées dans l'industrie des plantes médicinales et aromatiques. Elle repose sur le passage des principes actifs, présents dans la matière végétale, dans un solvant liquide par diffusion et dissolution (**figure 9**).

La macération, l'infusion et la décoction sont des méthodes d'extraction solide-liquide.

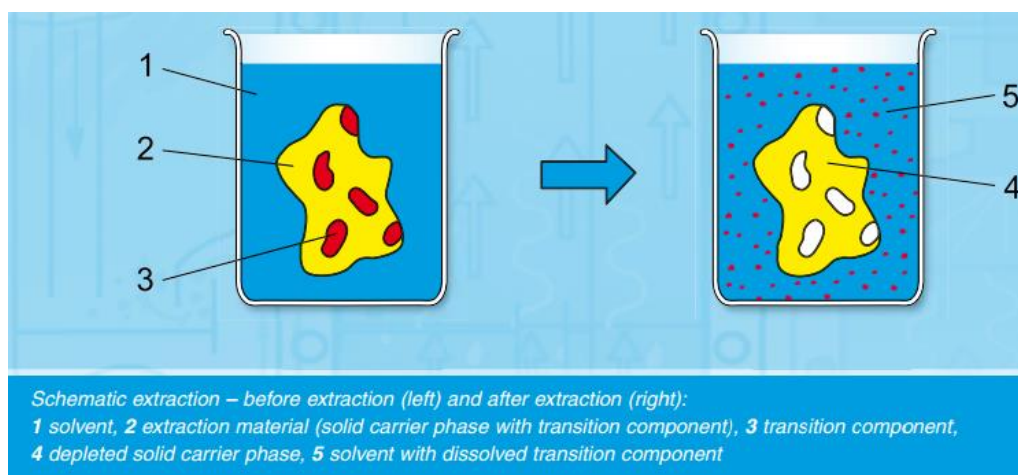


Figure 9 : Extraction solide-liquide

Avant l'extraction (à gauche) et après extraction (à droite). (**Site web N°2**)

II. 3.2–Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide (LLE), est un procédé de séparation des composés actifs en fonction de leurs solubilités relatives dans deux liquides différents ou non miscibles, habituellement de l'eau et un solvant organique.

Les substances actives sont séparées par transfert entre les deux phases liquides (**Figure 10**), et à la fin de cette opération, les deux phases séparées sont récupérées par décantation.

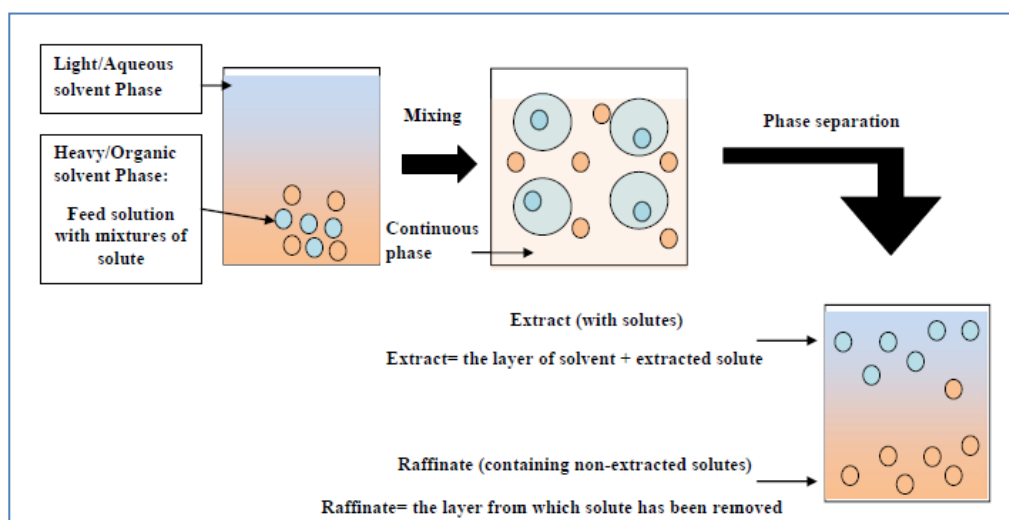


Figure 10 : distribution des composés à séparer entre les deux liquides de séparation (**Subhash et al., 2015**)

II. 4 –Techniques d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes

Il existe plusieurs techniques d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les plantes médicinales.

II. 4. 1–Extraction par macération

La poudre de la plante médicinale est macérée à température ambiante pendant quelques heures à une nuit dans des solutions aqueuses des solvants : éthanol, acétone, méthanol (**Mahmoudi et al., 2013 ; Talbi et al., 2015**).

II. 4. 2–Extraction avec de l'eau chaude

La matière végétale broyée est ajoutée à l'eau distillée et homogénéisée par une agitation douce manuelle. Ensuite le mélange est chauffé dans un bain-marie à 77 °C pendant 30 minutes. Enfin le mélange est refroidi à la température ambiante et filtré sur un papier filtre Wattman (**Nshimiyimana et He, 2010**).

II. 4. 3–Extraction par décoction

La matière végétale broyée est ajoutée à la solution du solvant d'extraction (éthanol, acétone ou méthanol). Chaque mélange est porté à ébullition dans un bain Marie durant 30 min puis filtré sur un filtre spécifique (**Mahmoudi et al., 2013**).

II. 4. 4–Extraction par Soxhlet

Le Soxhlet est un appareil qui porte le nom de son inventeur Franz von Soxhlet, il est utilisé pour l'extraction solide-liquide.

L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction (**Penchev, 2010**).

Karabegović et al., 2011, ont trouvé que les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes de deux espèces d'*Artemisia* sont plus élevées dans l'extrait de la méthode classique (macération) que l'extrait de Soxhlet.

II. 4. 5–Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : microwave assisted extraction » consiste à irradier par micro-ondes la matière végétale broyée, en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes(hexane) pour l'extraction de composés

apolaires. L'ensemble est chauffé sans atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement (Pan et al, 2003 ; Lucchesi, 2006).

II. 4. 6–Extraction assistée par ultrason

La poudre de la plante médicinale est mélangée avec un solvant (n-hexane ; méthanol ; acétone) dans un récipient en verre (tube à essai, bêcher...). Le récipient et son contenu sont plongés dans le bain à ultrasons contenant de l'eau ou de la glace. Cette extraction est généralement réalisée à 20-25 kHz et 150 W pendant 15 à 45 min à une température inférieure à 30 °C (Boizot et Charpentier, 2006 ; Adjé *et al.*, 2010 ; Da Porto *et al.*, 2013).

II. 5 – Facteurs influant sur la qualité globale d'un extrait

La **figure 11** représente les différents facteurs impliqués dans le processus d'extraction des substances actives à partir des plantes médicinales.

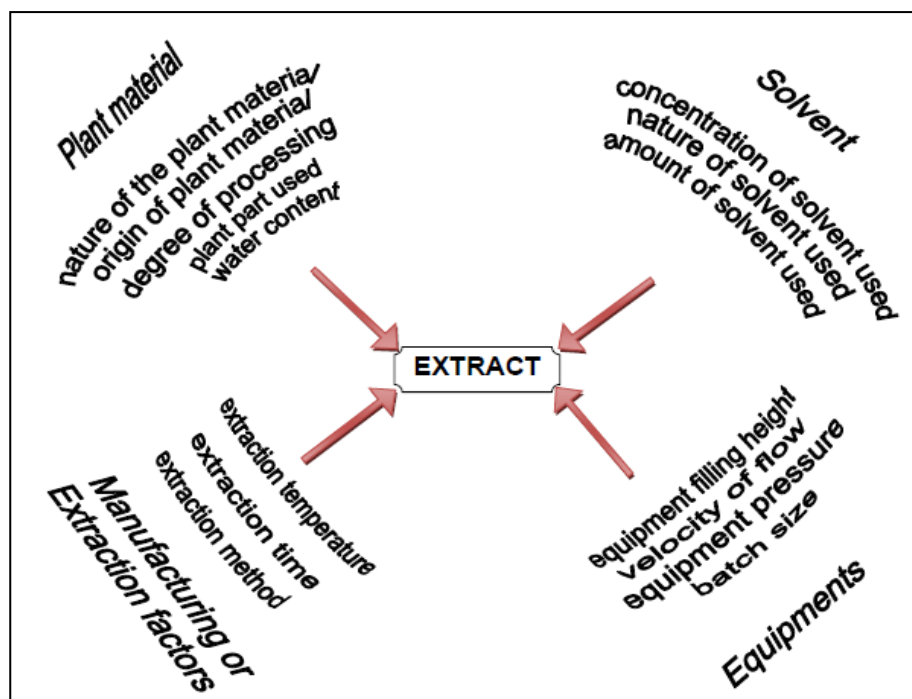


Figure 11 : Facteurs influant sur la qualité globale d'un extrait

(Subhash *et al.*, 2015)

II. 5. 1– Nature du matériel végétal

- La texture ou la dureté des matériaux formant les parois cellulaires végétales peuvent produire une résistance importante contre la pénétration du solvant dans la structure cellulaire de la plante.
- La taille des particules du matériel végétal a un effet sur le contact soluté-solvant et la pénétration du solvant dans la structure cellulaire de la plante.

- La teneur du matériel végétal en humidité forme un film mince d'eau qui gêne la pénétration du solvant dans la structure cellulaire de la plante.

II. 5. 2– Caractéristiques des solvants

L'extraction des principes actifs à partir d'un matériel végétal dépend en grande partie de :

- La nature du solvant utilisé : Toxicité (le solvant doit être moins toxique), évaporation à basse température, propriété de dissoudre ou d'extraire les substances actives sans les modifier chimiquement et sans lui-même se modifier...etc.
- Le rapport matière végétale/solvant.

Généralement, les solvants les plus utilisés dans les différentes extractions sont : l'éthanol, le méthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'éther diéthylique, le chloroforme et l'éther de pétrole.

II. 5. 2– Facteurs d'extraction

Plusieurs facteurs peuvent influencer de manière significative la procédure d'extraction, notamment l'extraction solide-liquide. Parmi ces facteurs on citera : la nature chimique des composés à séparer, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon, le pH, la température et le temps d'extraction (Telli *et al.*, 2010 ;Dent *et al.*, 2013).

A titre d'exemple, Telli *et al.*, 2010 ont observé que le teneur en polyphénols totaux de dattes a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction a été augmenté de 30 min à 5 h et de 5 h à 9 h (figure 12).

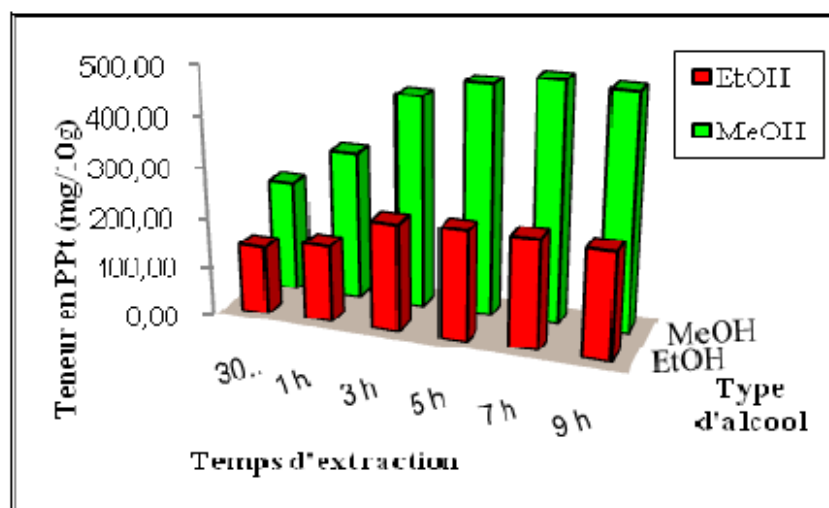


Figure 12 : Influence de type de solvant et du temps d'extraction sur la teneur polyphénols totaux

II. 5 –Les composés phénoliques et flavonoïdes

II. 5. 1–Les composés phénoliques

II. 5. 1. 1 –Définition des composés phénoliques

Les polyphénols sont des composés naturels présents dans toutes les plantes vasculaires, ils se caractérisent par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyle. On les trouve dans le thé, le raisin, l'huile d'olive, le café, le chocolat, les arachides et autres fruits et légumes (**Parisi *et al.*, 2014**).

Généralement, les composés phénoliques présents dans la nature sont conjugués à des sucres ou des acides organiques et peuvent être divisés en deux groupes principaux, à savoir les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (**Tableau 3**).

Tableau 3: Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (**Thayumanavan et Sadasivam, 2003**)

Class	No. carbon atoms	Basic carbon skeleton	Examples
1. Simple phenols	6	C ₆	Catechol, hydroquinone Phloroglucinol
2. Acetophenones Phenylacetic acid	8	C ₆ -C ₂	4-hydroxyacetophenone <i>P</i> -Hydroxyphenylacetate
3. Hydroxycinnamates	9	C ₆ -C ₄	Caffeic, ferulic
Coumarins	9	C ₆ -C ₃	Umbelliferone, esculetin
Isocoumarins	9	C ₆ -C ₃	Bergenin
Chromones	9	C ₆ -C ₃	Eugenin
4. Hydroxybenzoates	7	C ₆ -C ₁	Salicylic, gallic
5. Naphthoquinones	10	C ₆ -C ₃	Juglone, plumbagin
6. Xanthenes	13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Mangiferin
7. Stilbenes	14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Resveratrol
Anthraquinones	14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Emodin
8. Flavonoids	15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Cyanidin
Isoflavonoids	15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Genistein
9. Lignans	18	(C ₆ -C ₃) ₂	Pinoresinol
10. Biflavonoids	30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Amentoflavone
11. Hydrolyzable tannins	<i>n</i>	(C ₆ -C ₁) _{<i>n</i>} : Glc	Gallotannins
12. Condensed tannins	<i>n</i>	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _{<i>n</i>}	Catechin polymers
13. Lignins	<i>n</i>	(C ₆ -C ₃) _{<i>n</i>}	Guaiacyl lignins
14. Catechol melanins		(C ₆) _{<i>n</i>}	

II. 5. 1. 2–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 13** représente la voie métabolique de la production de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine.

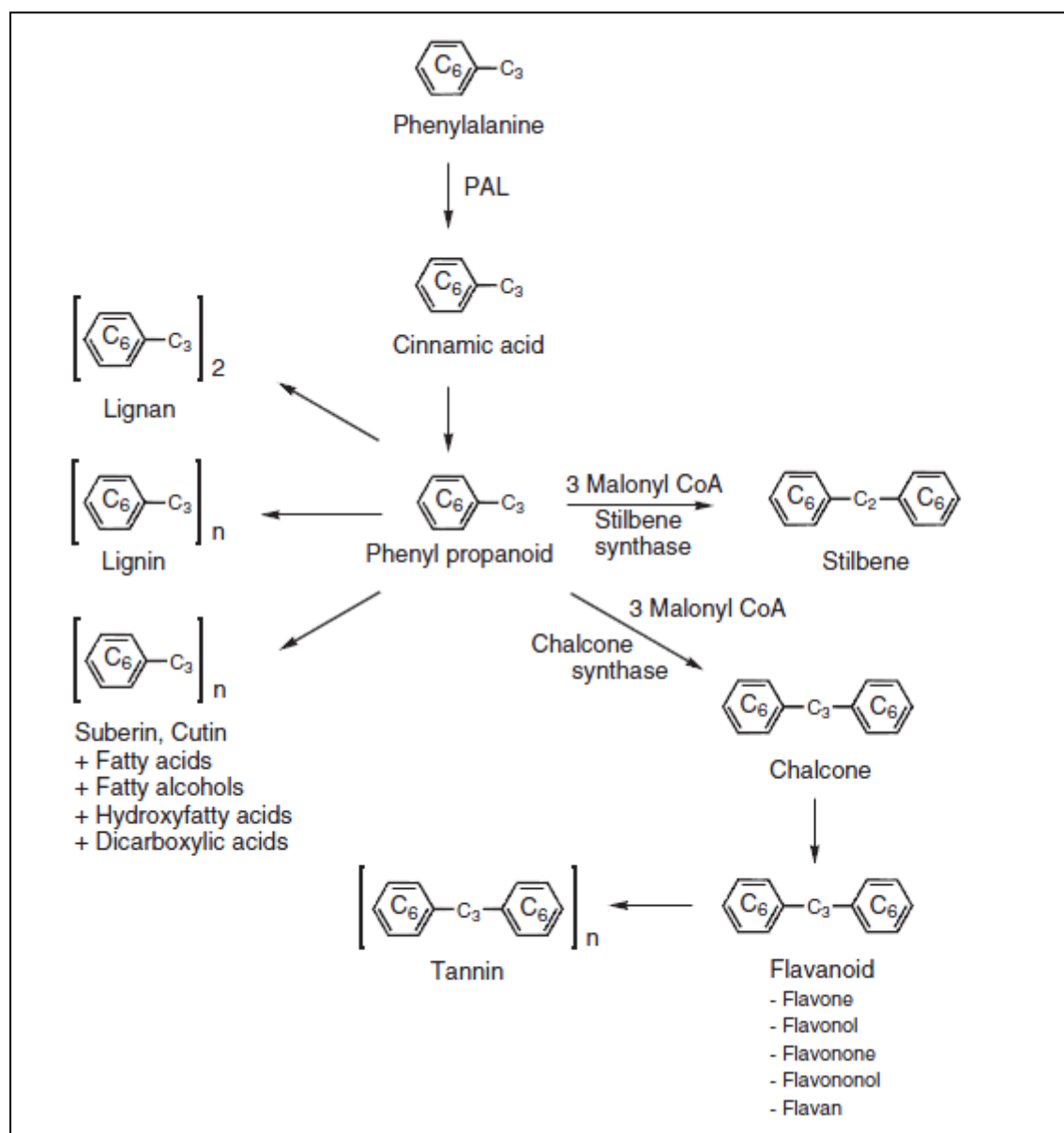


Figure 13: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (Naczki et Shahidi, 2003)

II. 5. 2–Les flavonoïdes

II. 5. 2. 1–Définition des flavonoïdes

Les flavonoïdes, appelés aussi bioflavonoïdes, sont des antioxydants polyphénoliques trouvés naturellement dans les plantes, ils sont à l'origine de la couleur vibrante de nombreuses fleurs et fruits (Keller, 2009). Ils jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes.

Les flavonoïdes jouent également un rôle très important dans la santé humaine, ils sont efficaces contre l'inflammation chronique, les maladies allergiques et les maladies coronariennes (Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005).

Certaines recherches indiquent que les flavonoïdes peuvent être nutritionnellement utiles en déclenchant des enzymes qui réduisent le risque de certains cancers, de maladies cardiaques et de maladies dégénératives liées à l'âge (Keller, 2009).

Les aliments qui contiennent des quantités élevées de flavonoïdes incluent les bleuets, les haricots rouges, les canneberges, les mûres, les noix, les fruits et les légumes rouges ou jaunes et certains thés (Keller, 2009).

II. 5. 2. 2–Structure et biosynthèse des flavonoïdes :

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). Le **Tableau 4** représente les différentes classes de ces composés.

Tableau 4 : Les différentes classes de flavonoïdes et leurs substitutions (Stalikas, 2007)

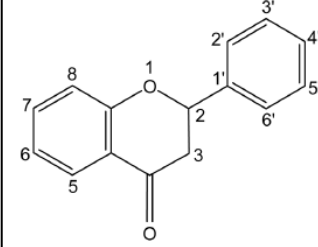
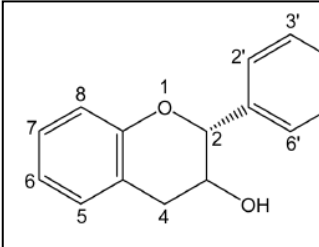
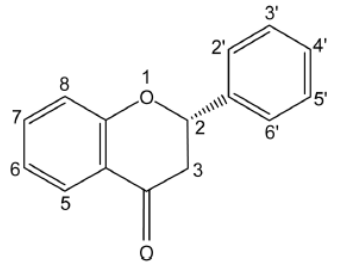
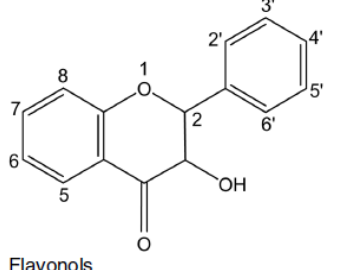
											
Flavones					Flavan-3-ols						
Position	5	7	3'	4'	Position	3	5	7	3'	4'	5'
Compound					Compound						
Apigenin	OH	OH	-	OH	(+)-Catechin	βOH	OH	OH	OH	OH	-
Luteolin	OH	OH	OH	OH	(-)-Epicatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	-
Chrysin	OH	OH	-	-	(-)-Epigallocatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	OH

Tableau 4 : (Suite...)



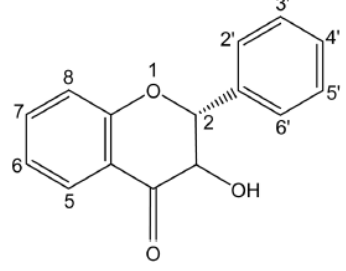
Flavanones

Position	5	7	3'	4'
Compound				
Naringenin	OH	OH	-	OH
Naringin	OH	O-Rha-Glu	-	OH
Hesperetin	OH	OH	OH	OCH ₃
Hesperidin	OH	O-Rha-Glu	OH	OCH ₃



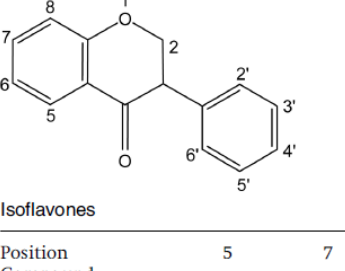
Flavonols

Position	5	7	3'	4'	5'
Compound					
Quercetin	OH	OH	OH	OH	-
Kaempferol	OH	OH	-	OH	-
Galangin	OH	OH	-	-	-
Fisetin	-	OH	OH	OH	-
Myricetin	OH	OH	OH	OH	OH



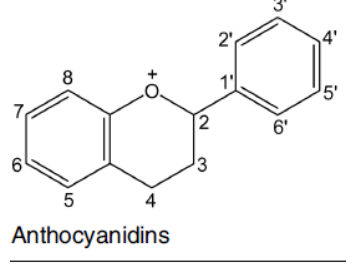
Flavanonol

Position	5	7	3'	4'
Compound				
Taxifolin	OH	OH	OH	OH



Isoflavones

Position	5	7	4'
Compound			
Genistein	OH	OH	OH
Genistin	OH	O-Glu	OH
Daidzein	-	OH	OH
Daidzin	-	O-Glu	OH
Ononin	OH	O-Glu	CH ₃



Anthocyanidins

Position	3	5	7	3'	4'	5'
Compound						
Cyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	-
Cyanin	O-Glu	OH	OH	OH	OH	-
Peonidin	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	-
Delphinidin	-	OH	OH	OH	-	OH
Pelargonidin	OH	OH	OH	-	OH	-
Malvidin	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃

La **figure 14** 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.

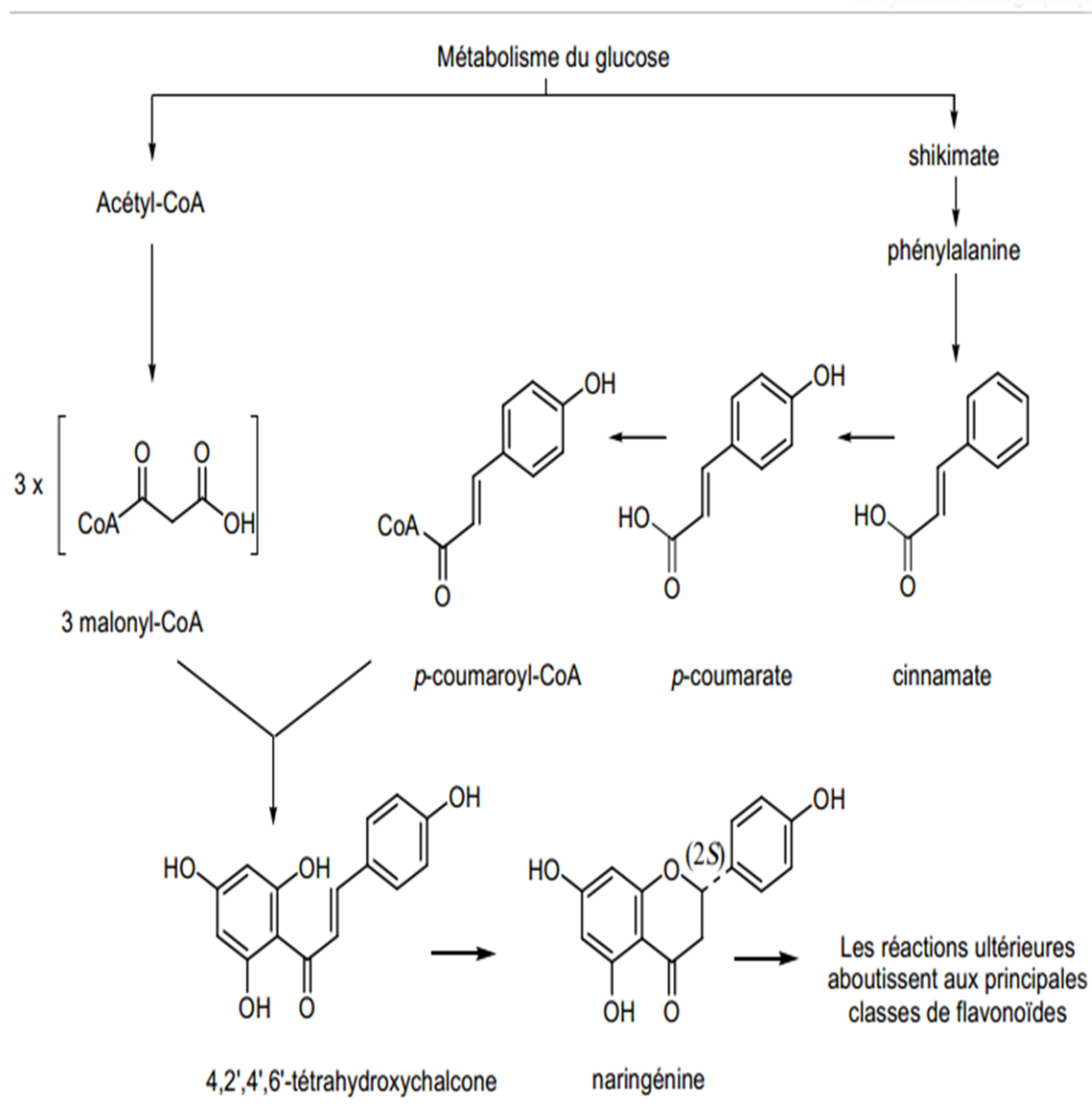


Figure 14: Voies de la biosynthèse des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993).

III. Activité antibactérienne

III. 1-Définition

L'activité antibactérienne naturelle est définie comme étant toute substance naturelle active possédant la capacité d'inhiber (bactériostatique) ou de détruire (bactéricide) certaines espèces bactériennes. Ces substances naturelles sont synthétisées par les plantes, les champignons et certaines bactéries.

III. 2-Activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes

Les plantes médicinales utilisent les principes actifs comme un moyen de défense naturel pour lutter contre les microorganismes indésirables. A titre d'exemple, plus de 64 plantes sont dotées des activités antibactériennes très importantes (**Aggarwal, 2009**).

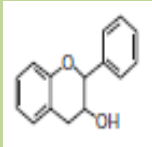
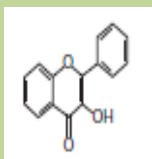
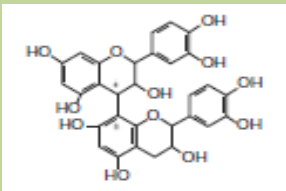
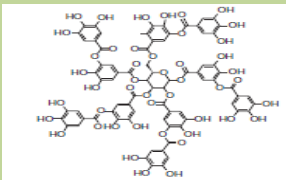
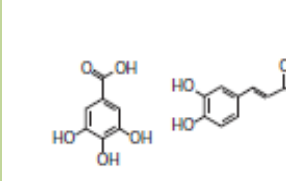
La recherche de substances végétales naturelles aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes est donc d'un grand intérêt, notamment pour l'industrie alimentaire. (**Amensour, 2010**).

L'utilisation de ces substances 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) (**Tajkarimi et al., 2010**).

Les agents antimicrobiens d'origine végétale peuvent être classés en plusieurs groupes : polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes, lectines, polypeptides et polyacétylènes.

Le **tableau 5** représente quelques composés phénoliques qui ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols.

Tableau 5. Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2011).

Composés phénoliques et leurs structures	Microorganismes sensibles	Exemples
 <p>Flavane-3-ol</p>	Bactéries	<i>V.cholerae</i> , <i>S.mutans</i> , <i>C.jejuni</i> , <i>C.perfringes</i> , <i>E.coli</i> , <i>B.Cereus</i> , <i>H.pylori</i> , <i>S.aureus</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>A.naeslundii</i> , <i>P.oralis</i> , <i>P.gingivalis</i> , <i>P.melaninogenica</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>C.pneumonia</i>
	Virus	Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.
 <p>Flavonole</p>	Champignons	<i>Candida albicans</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> .
 <p>Tannins condensés</p>	Bactéries	<i>S.mutans</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> .
	Virus	Virus de l'influenza A, type -1 herpes simplex virus (HSV).
 <p>Tannins hydrolysables</p>	Bactéries	Différentes souches de: <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E.coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i> .
	Virus	Le virus Epstein-Barr, les virus Herpes HSV-1 et HSV-2.
	Champignons	<i>Candida parapsilosis</i> .
 <p>Acides phénoliques</p>	Bactéries	<i>S.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> .

III. 3-Activité antibactérienne du genre *Artemisia*

Des études ont été menées au cours de ces dernières années pour évaluer l'activité antibactérienne du genre *Artemisia*. Elles ont révélé que les huiles essentielles de cette plante ont montré un potentiel antimicrobien contre une large gamme de bactéries Gram négatives, bactéries Gram-positives et des champignons (Aftab *et al.*, 2014).

D'après la même référence, l'activité inhibitrice significative de ces huiles a été prouvée et confirmée contre les souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterococcus hirae*.

Bencheqroun *et al.*, (2012) ont enregistré une forte activité inhibitrice, de l'huile essentielle extraite de l'*Artemisia mesatlantica*, vis-à-vis des sept microorganismes (**tableau 6**).

Tableau 6 : Activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de l'*Artemisia mesatlantica* Collectées au Maroc au mois de Mars 2010 dans la région d'Ifrane Boulmane

	Dilutions v/v							Témoin
	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	
Bactéries								
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
Moisissures								
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium expansum</i>	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium digitatum</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

(-) inhibition ; (+) croissance/développement

D'une part, **Mohamed et al., (2010)** ont noté que seule l'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* (Asso) a été révélée active contre certaines bactéries Gram-positives (*Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) et bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*). D'autre part, il est apparu que l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de cette plante a été également enregistrée vis-à-vis de certains microorganismes (**tableau7**).

Tableau 7: Activité antimicrobienne des extraits méthanoliques
(Boudj el al, 2013)

Souches	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	<i>Ajuga iva</i>	<i>Artemisia herba alba</i>	<i>Marrubium vulgare</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	12 ± 0.6	18 ± 0.7	16 ± 0.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25853	08 ± 0.2	14 ± 0.2	09 ± 0.1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11 ± 0.2	13 ± 0.6	12 ± 0.3
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	10 ± 0.3	15 ± 0.2	10 ± 0.1

MATERIELS ET METHODES

IV. Matériel et méthodes

IV. 1-Matériel végétal

Les échantillons de la plante *Artemisia herba alba* (Asso) ont été récoltés au mois de janvier (2016) à Ain Zada, région de Sétif (Nord-est de l'Algérie) (**Figure 15**). [Latitude 36° 10' 16.1" N. Longitude 5° 11' 17.85" E].

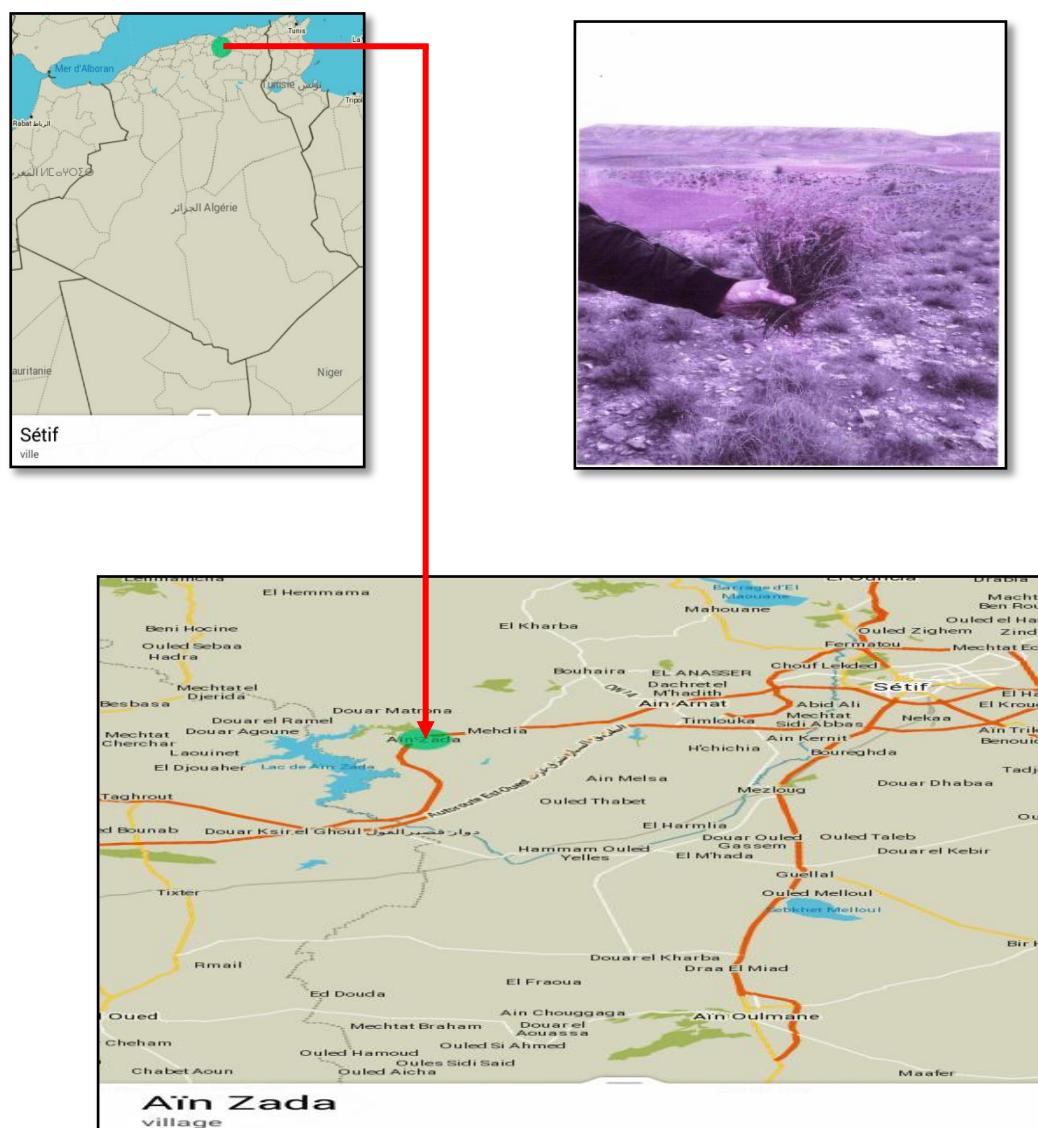


Figure 15: Ain Zada, région de Sétif (Nord-est de l'Algérie).

L'identification de la plante a été faite au laboratoire de botanique par le Pr. **Gharzouli Rachid** (Université de Sétif).

Le séchage de la partie aérienne de cette plante a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité, pendant 20 jours.

Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu (**figure 16**) 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 16 : Broyat des feuilles d'*Artemisia herba alba* (Asso).

IV. 2-Souches bactériennes

La souche bactérienne utilisée dans cette étude est *Escherichia coli* (ATCC 25922), bactéries à Gram⁻. Elle a été fournie par le laboratoire de microbiologie, Centre hospitalo-universitaire de Sétif.

La souche a été conservée à 4 °C sur gélose inclinée jusqu'à son utilisation.

IV. 3-Réactifs

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Méthanol (CH₃OH) ; Chloroforme (CHCl₃) ; Carbonate de sodium (Na₂CO₃) ; Acétate d'éthyle (C₄H₈O₂) ; Magnésium (Mg) ; Acide chlorhydrique (HCl) ; N-butanol (C₄H₉OH) ; Quercétine (C₁₅H₁₀O₇) ; Acide gallique (C₇H₆O₅) ; Ether de pétrole (Formule générique : CH₃-(CH₂)_n-CH₃) ; Trichlorure d'aluminium (AlCl₃) ; Acétone (C₃H₆O) ; Chlorure de fer (FeCl₃) ; Réactif de Folin-Ciocalteu.

IV. 4 - Optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

Dans ce travail, trois temps d'extraction ont été étudiés : 15, 30 et 45 minutes

L'étude comparative des ces trois temps d'extraction porte 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 ;

IV. 4. 1- Rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes

IV. 4. 1. 1-Extraction des composés phénoliques et flavonoïdes

Les composés phénoliques et flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles de l'*Artemisia herba alba* (Asso) par la méthode « extraction avec de l'eau chaude (77°C°).

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 méthode est le suivant (**Figure 17**) :

- Peser 30 gramme de la matière végétale ;
- Ajouté la matière végétale broyée au 300 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie à 77 °C pendant 15, 30, et 45 minutes ;
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sous vide (filtration sur Büchner, entonnoir à fond plat perforé que l'on recouvre d'un papier filtre Wathman n°1);
- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 300 ml eau distillée chaude);
- Les trois filtrats de chaque temps d'extraction sont placés dans un seul récipient.

Le filtrat obtenu de chaque temps d'extraction est débarrassé des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (v/v) pour donner une solution aqueuse (Kebièche *et al.*, 2011).

Le protocole de cette manipulation est le suivant :

- Ajouter 1/3 volume d'éther de pétrole au volume de filtrat obtenu (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.

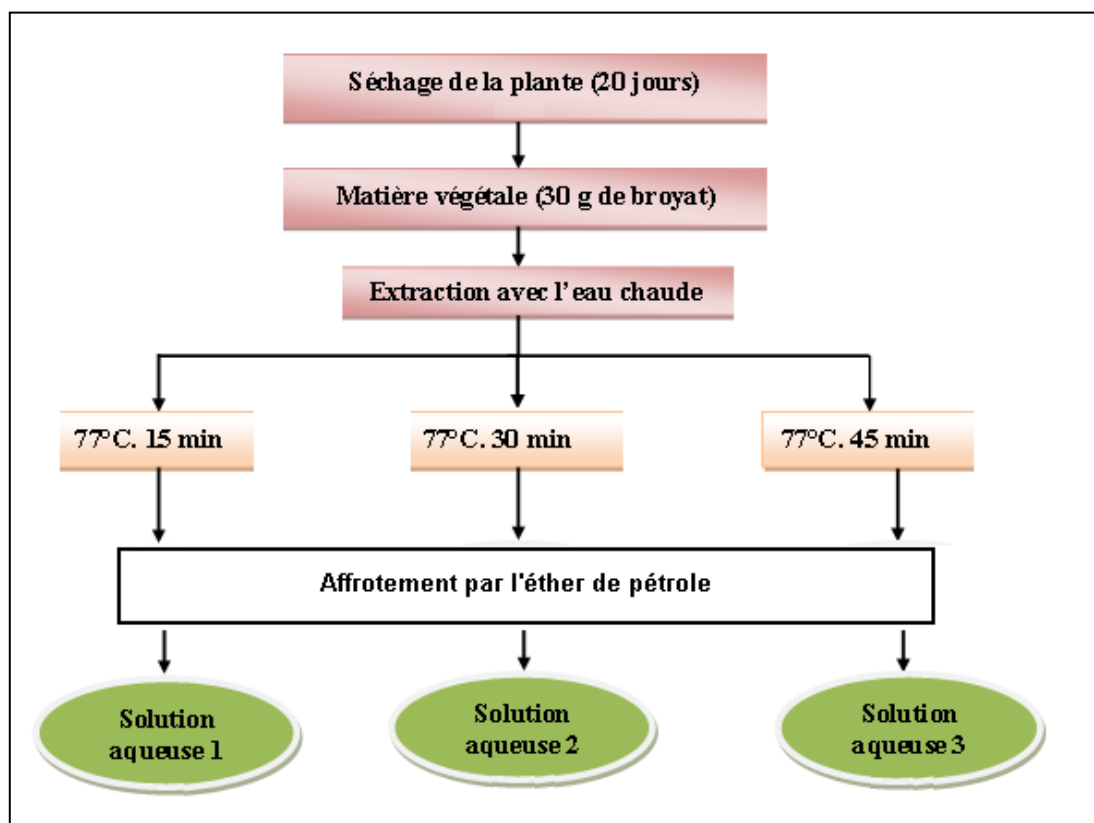


Figure 17 : Organigramme d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes avec de l'eau chaude (77°C, 15, 30 et 45 minutes)

Au total, trois solutions aqueuses ont été obtenues :

La solution aqueuse 1 = temps d'extraction, 15 min

La solution aqueuse 2 = temps d'extraction, 30 min

La solution aqueuse 3 = temps d'extraction, 45 min

IV. 4. 1. 2 - Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl₃)

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

a) Premier test (broyat)

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 FeCl₃ 10% (Bouquet et Fouret, 1975).

b) Deuxième test (solutions obtenues) : Placer 2 ml de chaque solution dans un tube à essai et ajouter quelques gouttes de FeCl₃ 10% (BÉKRO et al., 2007)

IV. 4. 1. 3 - Détection 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 temps d'extraction, placer 2 ml de chaque solution 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 trois solutions est indiquée par l'apparition des couleurs suivantes : Rose-orange ou violacée.

IV. 4. 1. 4- Extraction des flavonoïdes

50 ml de chaque solution ont été utilisés pour l'extraction des différents types de flavonoïdes, le reste de la solution a été lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur (figure 18).

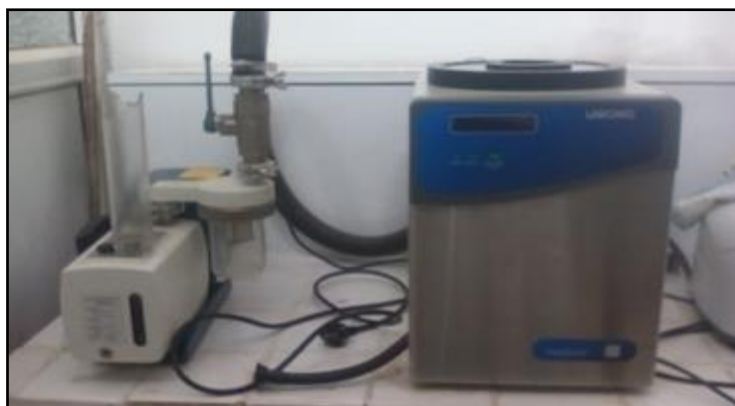


Figure 18 : Lyophilisateur (Labconco).

Concernant l'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 *et al.*, 2009).

Cette étape est caractérisée par la spécificité et la polarité du solvant organique (figure 19).

IV. 4. 1. 4. 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 (figure 19):

- Ajouter 50 ml de la solution (v/v) aux 1/3 ml d'éther di éthylique ;
- Bien agiter et laisser reposer le mélange au moins 20 minute 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.

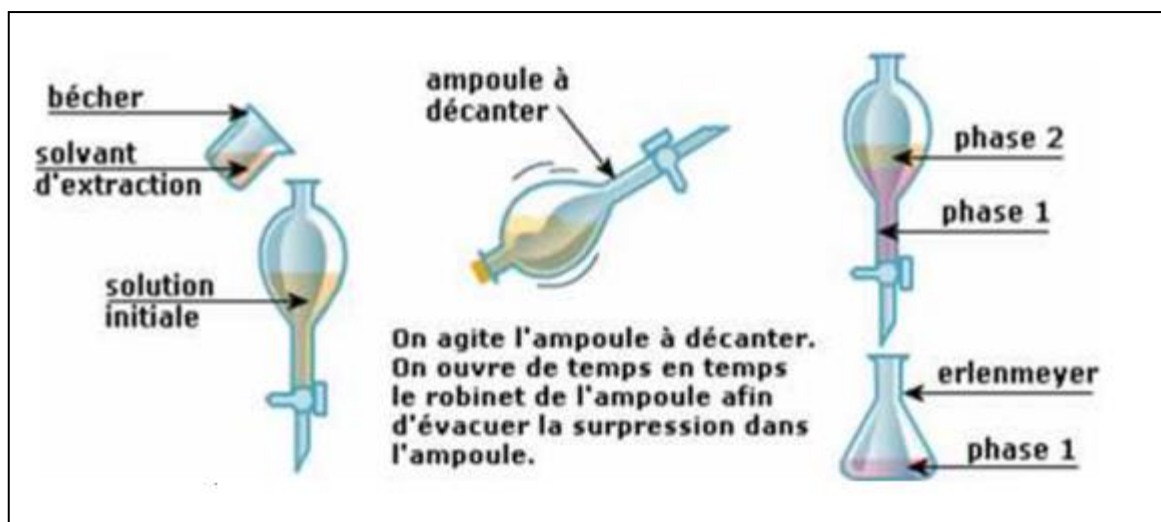


Figure 19 : Processus d'extraction des aglycones
(Extraction liquide-liquide)

IV. 4. 1. 4. 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 ($T^{\circ}=40^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

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

IV. 4. 1. 4. 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 ($T^{\circ}=45^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

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.

IV. 4. 1. 4. 4 -Evaporation

Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Peser le ballon vide (avant évaporation) afin de calculer le rendement d'extraction ;

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (T° , vitesse de rotation) ;
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid ;
- Peser le ballon (après évaporation) ;
- Recueillir l'extrait dans 6 ml de méthanol;

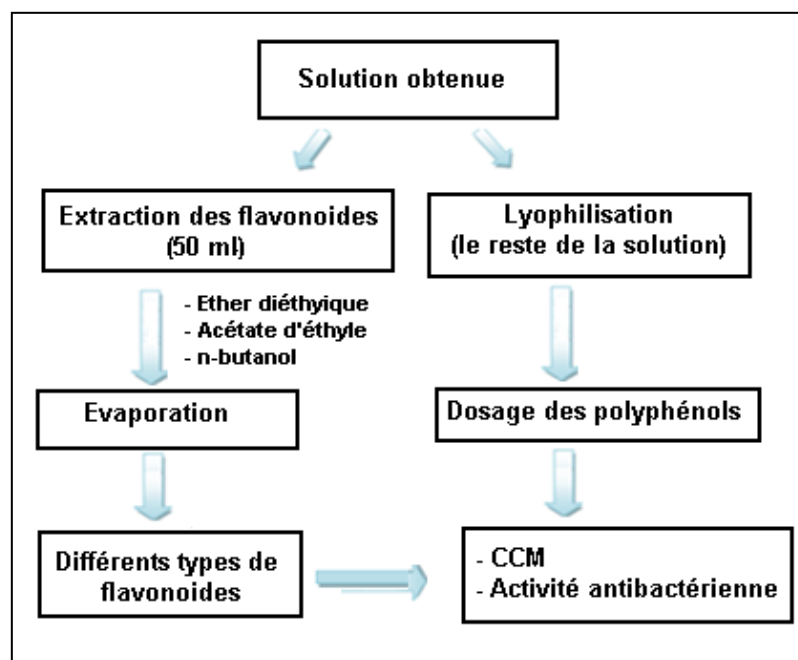


Figure 20 : Extraction, dosage et activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes

IV. 4. 1. 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).

Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante (Angelov et al., 2007):

$$w(\%) = \frac{m_{ex}}{m_{rm}} \cdot 100$$

m_{ex} (extracted mass) = masse de l'extrait sec, déterminée par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

m_{rm} (mass of the raw material) = masse du broyat frais (matière végétale utilisé, 30 g).

IV. 4. 2- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux

IV. 4. .2 1-Dosage des composés phénoliques totaux

Le contenu en polyphénols totaux dans les solutions aqueuses obtenues (lyophilisées) a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

Les différentes solutions à doser et la gamme étalon sont préparées de la même manière et dans les mêmes conditions.

Le protocole de cette manipulation est le suivant :

- Mélanger 200 μ l de la solution à doser avec 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) ;
- Après 4 min, ajouter 800 μ l de carbonates de sodium (7.5 %) ;
- Ajuster ensuite à 3 ml avec de l'eau distillée ;
- Agiter et placer les tubes dans l'obscurité, à 37°C pendant 2 heures ;
- Mesurer l'absorbance à 760 nm par spectrophotomètre UV (JENWAY6300).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de broyat en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (gamme étalon) a été préparée en utilisant des solutions de cet acide de différentes concentrations de 0 jusqu'à 1 mg. mL⁻¹.

IV. 4. .2 2-Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon le protocole suivant **(Clémentine et al., 2012)**:

- Mélanger 1 ml de la solution à doser avec 1 ml de la solution de chlorure d'aluminium (ALCl₃, 2%) ;
- Agiter et incuber les tubes dans l'obscurité, à 37°C pendant 10 minutes ;
- Mesurer l'absorbance à 430 nm par spectrophotomètre UV.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de broyat en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

La courbe d'étalonnage de la quercétine (gamme étalon) a été préparée en utilisant des solutions de cette molécule de différentes concentrations de 0 jusqu'à 1 mg. mL⁻¹.

IV. 4. 3- 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 solutions obtenus afin de vérifier s'il y a une différence d'efficacité entre les différents temps d'extraction.

Les principaux éléments de cette technique sont :

- ❖ Cuve à chromatographie : Un récipient en verre fermé par un couvercle étanche
- ❖ Phase stationnaire : Plaque CCM, support en aluminium sur lequel a été étalé un gel de silice en couche uniforme. L'épaisseur de cette couche est de l'ordre de 0,2 mm (200 µm)
- ❖ Phase mobile : Les différentes phases mobiles utilisées dans cette étude sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 8: Systèmes solvants utilisés pour la CCM

Extrait	Système solvant (v : v : v : v)
Phase aqueuse	Acétate d'éthyle / 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)

- ❖ Echantillons à analyser : Les extraits des différentes phases obtenues, la phase aqueuse (lyophilisée), la phase éther diéthylique, la phase acétate d'éthyle, la phase n-butanol ;
- ❖ Révélateurs : Solution d'acide sulfurique + chaleur ; lampe UV 254 nm.
- ❖ Développement du chromatogramme :

Le protocole de cette manipulation et le suivant (**figure 21**):

- 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 0,5 μ l de chaque échantillon, le diamètre de la tâche 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 supérieur ;
- Sécher le chromatogramme à l'air libre ;

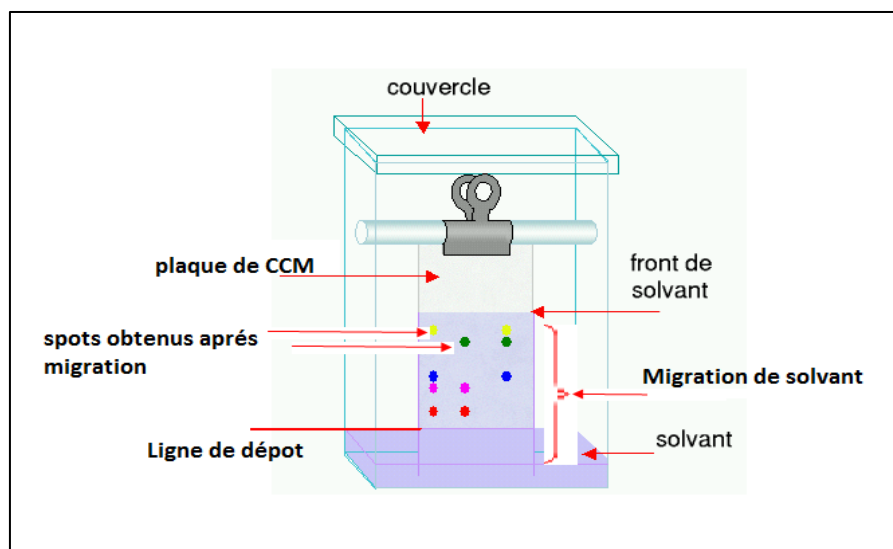


Figure 21 : Développement du chromatogramme (site web N°3).

- ❖ **Révélation et calcul du rapport frontal (Rf)**

Après séchage à l'air libre, les plaques ont été révélées 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 (Rf) pour chaque spot par la relation suivante :

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

IV. 4- Activité antibactérienne des extraits obtenus

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les différents extraits obtenus. Ce test a été utilisé pour vérifier également s'il ya une différence d'efficacité entre les trois temps d'extraction étudiés.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Athamena, 2009 ; Bassole *et al.*, 2011). 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 dans l'obscurité, à 37°C pendant 24 h.

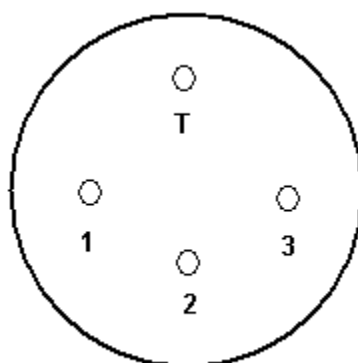
❖ Préparation des disques

- ✓ 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 18 ml;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification ;

- Ouvrir le tube contenant l'inoculum devant le bec bunsen et ensemercer les boites de pétri par stries serrées à l'aide d'un écouvillon stérile ;
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séché ;
- Déposer les disques imprégnés d'extraits délicatement sur la surface de gélose (Quatre disques par boîte) (**figure 22**);



Figur 22 : Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'extraits obtenus

T = disque imprégné de méthanol (témoin)
1 = disque imprégné d'extrait (temps d'extraction, 15 min)
2 = disque imprégné d'extrait (temps d'extraction, 30 min)
3 = disque imprégné d'extrait (temps d'extraction, 45 min)

- Placer les boites de pétri à basse température (+4°C) pendant 15 à 30mn afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier ;
- Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h. Les boites doivent être placées couvercle en bas.

Nous rappelons, que le méthanol a été utilisé comme solvant de conservation des extraits obtenus. Il a été utilisé, également comme témoin dans les tests antibactériens de ces extraits.

❖ Lecture des résultats

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

RESULTATS ET DISCUSSIONS

V. Optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

Nous rappelons que l'objectif principale de notre étude était de comparer trois temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante *Artemisia herba alba* (Asso).

La méthode d'extraction qui a été utilisée dans ce travail est l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) et les trois temps qui ont été évalués sont : 15 min, 30 min et 45 min.

A la fin de cette manipulation, trois solutions aqueuses ont donc été obtenues :

Solution aqueuse 1 = temps d'extraction, 15 min

Solution aqueuse 2 = temps d'extraction, 30 min

Solution aqueuse 3 = temps d'extraction, 45 min

L'étude comparative des ces trois temps d'extraction porte 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.

V. 1- Rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes

V. 1. 1- Tests de détection des composés phénoliques et flavonoïdes

La présence des composés phénoliques et flavonoïdes dans la matière végétale étudiée (*Artemisia herba alba* (Asso), a été vérifiée par trois tests phytochimiques (réactions qualitatives) : deux tests (Réaction au FeCl_3) pour la mise en évidence des composés phénoliques et un test (Réaction à la cyanidine) pour la mise en évidence des flavonoïdes.

Ces tests, ont donné les résultats que nous présentons dans le **tableau 9**.

D'après ces résultats, on peut effectuer les observations suivantes :

- Les trois solutions montrent une présence des composés phénoliques plus importante que celle des flavonoïdes. Ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité ou à la diversité des polyphénols.
- La réaction au FeCl_3 est très positive (+++) dans le broyat et dans toutes les solutions obtenues, ce qui indique que la matière végétale de la plante utilisée dans cette étude renferme des composés phénoliques en abondance.

- La présence des composés phénoliques et des flavonoïdes a été confirmée par l'apparition d'une coloration vert-noirâtre et orange, respectivement. Ce résultat est en accord avec celui de **Bouquet et Fouret (1975)**.

Tableau 9 : Tests de détection des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la matière végétale d'*Artemisia herba alba* (Asso)

	Composés phénoliques		Flavonoïdes	
	Couleur	Quantité relative	Couleur	Quantité relative
Broyat	Vert noirâtre	+++		
Solution 1 (15 min)	Vert noirâtre	+++	Orange	++
Solution 2 (30 min)	Vert noirâtre	+++	Orange	++
Solution 3 (45 min)	Vert noirâtre	+++	Orange	++

+++ : Présence en forte quantité

++ : Présence en quantité moyenne

V. 1. 2- Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement est calculé par le rapport de la masse de l'extrait sec (contenant les composés phénolique et les flavonoïdes) obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction (30 g).

V. 1. 2. 1- Détermination du rendement en composés phénoliques

Les résultats de cette expérience sont présentés dans le suivant :

Tableau 10 : Masse et rendement des extraits obtenus après lyophilisation

	Masse d'extrait sec (g)	Rendement (%) Par rapport au poids du broyat
Temps d'extraction (15 min)	2.65	8.83
Temps d'extraction (30 min)	3.62	12.06
Temps d'extraction (45 min)	2.01	6.7

D'après ce résultat, nous pouvons déduire que l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) pendant 30 min donne le meilleur rendement en substances naturelles. Il est presque égal au double du rendement obtenu en 45 min d'extraction.

Ce résultat est en bon accord avec ceux de **Rhazi et al., (2015)**, qui ont constaté que l'allongement du temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extraction et qu'ils ont attribué à une possible dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols.

Il y a également une autre raison qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est l'évaporation du solvant utilisé (eau d'extraction) qui augmente avec le prolongement du temps d'extraction (**Dent et al., 2013**).

V. 1. 2- Détermination du rendement en flavonoïdes

Nous rappelons que les différents types de flavonoïdes, ont été extraits par un processus de séparation liquide-liquide avec des solvants de polarité croissante : éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol.

Le rendement de chaque phase d'extraction a été déterminé par la même procédure que pour les composés phénoliques.

Les résultats de cette manipulation sont rassemblés dans **le tableau 11**.

Tableau 11 : Rendement des trois phases : Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

Phase d'extraction	Rendement (%)		
	15 min	30 min	45 min
Ether diéthylique	1.06	2.66	7.46
Acétate d'éthyle	1.8	4.66	19.96
n-butanol	3.30	6	11.26

Les résultats obtenus nous permettent de tirer les informations suivantes :

1. Le rendement en flavonoïdes a considérablement augmenté quand le temps d'extraction a été allongé de 30 min à 45 min, et ceci avec les trois solvants (**figure 23**);
2. Le rendement en flavonoïdes le plus élevé, après 45 minutes d'extraction, a été observé avec l'extrait d'acétate d'éthyle (19.96 %), suivi par l'extrait n-butanol (11.26 %), et

enfin l'extrait d'éther diéthylique qui possède le plus faible rendement avec (7.46 %m).

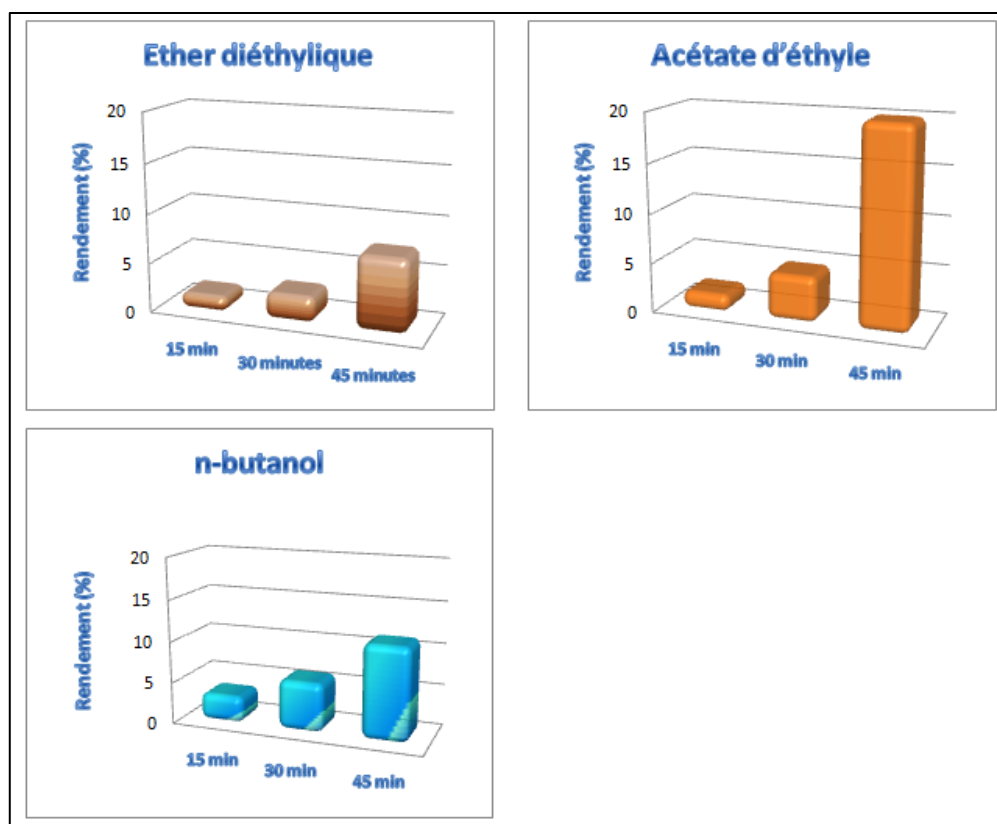


Figure 23 : Rendement des trois phases : Éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol

V. 2- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux

V. 2. 1- Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux présents dans les extraits des trois solutions aqueuses obtenues (lyophilisées) a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu. Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) du réactif de Folin par les groupements réducteurs des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de couleur bleue (Boizot et Charpentier, 2006 ; Clémentine et *al.*, 2012; Mahmoudi et *al.*, 2013).

Nous avons calculé la concentration moyenne des composés phénoliques présents dans les extraits en "mg équivalent acide gallique/mL de la solution d'extrait" en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure 24**). La courbe d'étalonnage est une droite de pente égale à 1,346 et d'intersection à l'origine égale à 0,021. L'absorbance varie donc linéairement avec la concentration.

$$Y = 1,346x + 0,021 \text{ avec } R^2 = 0,945$$

x = la concentration de la solution d'acide gallique (mg / ml).

y = l'absorbance à 760 nm.

R² est le Coefficient de corrélation. $R^2 = 0,945$ étant proche de 1, on peut affirmer qu'il y a une corrélation linéaire significative entre x et y.

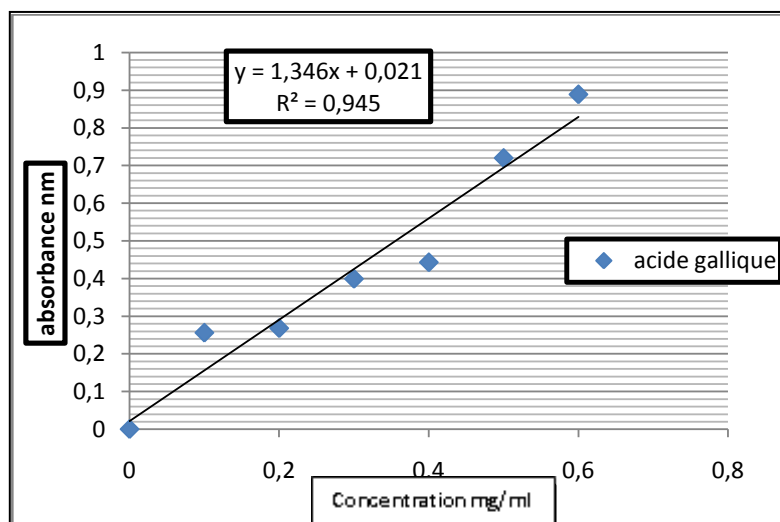


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique, à 760 nm.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Teneur en composés phénoliques (mg EAG/ml E)

Temps d'extraction (min)	Teneur en polyphénols (mg EAG/ml E)
15	1.949 ± 0.120
30	2.749 ± 0.048
45	0.213 ± 0.031

EAG = équivalent acide gallique ; E = solution de l'extrait

Ces résultats peuvent être exportés sous Excel pour les convertir en quantité (mg) d'équivalent acide gallique par g de broyat (**Boizot et Charpentier, 2006**).

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

- Les teneurs en composés phénoliques des extraits vont de 0.213 mg EAG/ml E pour le temps d'extraction 45 min à 2.749 mg EAG/ml E pour le temps d'extraction 30 min.
- Ces teneurs diminuent dans l'ordre suivant : temps d'extraction, 30 min > temps d'extraction, 15 min > temps d'extraction, 45 min.

Au vu de ces deux remarques, on peut déduire que le facteur temps d'extraction a un impact important sur la concentration des composés phénoliques extraits à partir de la plante *Artemisia herba alba* (Asso). Cette conclusion est en parfait accord avec les résultats de certains travaux de recherche avec d'autres plantes médicinales (**Turkmen et al., 2007 ; Singh et al., 2012 ; Soni et al., 2015**).

La concentration en composés phénoliques la plus élevée a été observée dans le temps d'extraction de 30 min (2.749 mg EAG/ml E). Ce résultat confirme ce que nous avons obtenu précédemment, l'extraction avec de l'eau chaude (77°C) pendant 30 min donne un meilleur rendement en substances naturelles.

V. 2. 2- Dosage des flavonoïdes totaux

La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode au trichlorure d'ammonium et les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine/ mL de la solution d'extrait en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Figure 25**).

La concentration des flavonoïdes a été estimée par l'équation suivante :

$$C = 0,529 \text{ Absorbance} + 0,019 \text{ avec } R^2 = 0,976$$

Les résultats de cet essai sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Teneur en flavonoïdes
(mg EQ/ml E)

Temps d'extraction (min)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/ml E)
15	0.234 ± 0.187
30	0.132 ± 0.050
45	0.1290 ± 0.068

EQ = équivalent quercétine ; E = solution de l'extrait

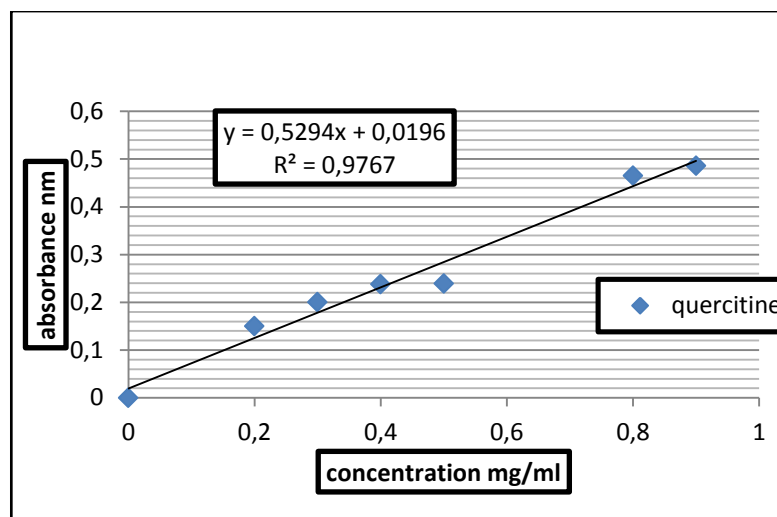


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la quercétine, à 430 nm.

Ces résultats indiquent que :

- Les teneurs des composés phénoliques dans les extraits s'échelonnent de 0,1290 mg EQ/ml E pour un temps d'extraction de 45 min à 0,234 mg EQ/ml E pour un temps d'extraction de 15 min.
- Les teneurs diminuent dans l'ordre suivant : temps d'extraction, 15 min > temps d'extraction, 30 min > temps d'extraction, 45 min.

La concentration en composés phénoliques la plus élevée a été observée pour un temps d'extraction de 15 min (0.234 mg EQ/ml E). Les concentrations pour les deux autres temps, 30 min et 45 min sont proches (0.132 et 0,1290 mg EQ/ml E, respectivement).

Ce résultat semble contradictoire avec le résultat obtenu précédemment, basé sur la masse de l'extrait sec, où le rendement en flavonoïdes augmente considérablement quand le temps d'extraction est allongé de 30 min à 45 min.

Cette contradiction est due probablement aux conditions de la manipulation, puisque la concentration en flavonoïdes dans le temps 15 min (0.234 mg EQ/ml E) est plus élevée que celle en composés phénoliques pour le même temps, alors que normalement c'est l'inverse qui se produit, puisque les composés phénoliques regroupent les flavonoïdes et d'autres classes de substances très diversifiées (**Macheix, 1996**).

V. 3- Criblage chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes

La séparation des composés phénoliques et des flavonoïdes présents dans les différents extraits obtenus, a été effectuée à l'aide d'une chromatographie sur couche mince. Les chromatogrammes obtenus sont examinés après pulvérisation d'acide sulfurique et sous lumière ultra violette (254 nm). Les spots observés ont été entourés et les fluorescences visualisées à l'œil nu ont été notés.

Les résultats de cette analyse chromatographique sont représentés sur la **figure 26** et dans le **tableau 14**.

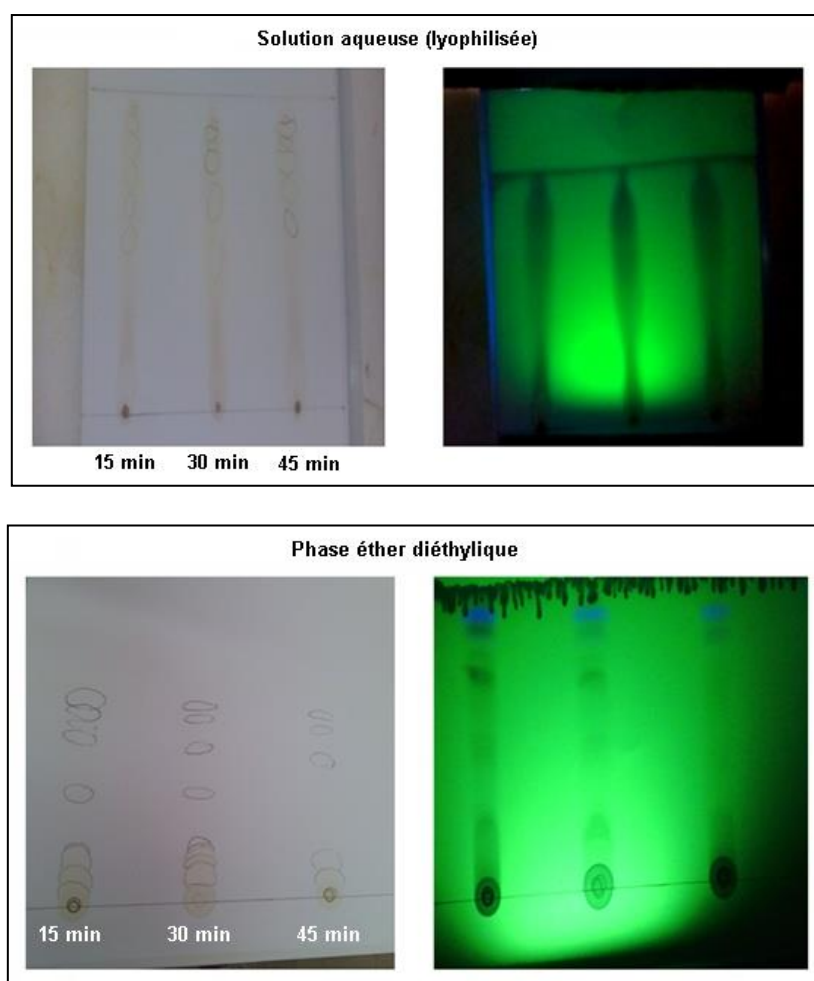


Figure 26 : Résultats de la CCM, séparation des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les feuilles de la plante *Artemisia herba alba* (Asso).

Révélation chimique (Solution d'acide sulfurique + chaleur)

Révélation physique (lampe UV 254 nm)

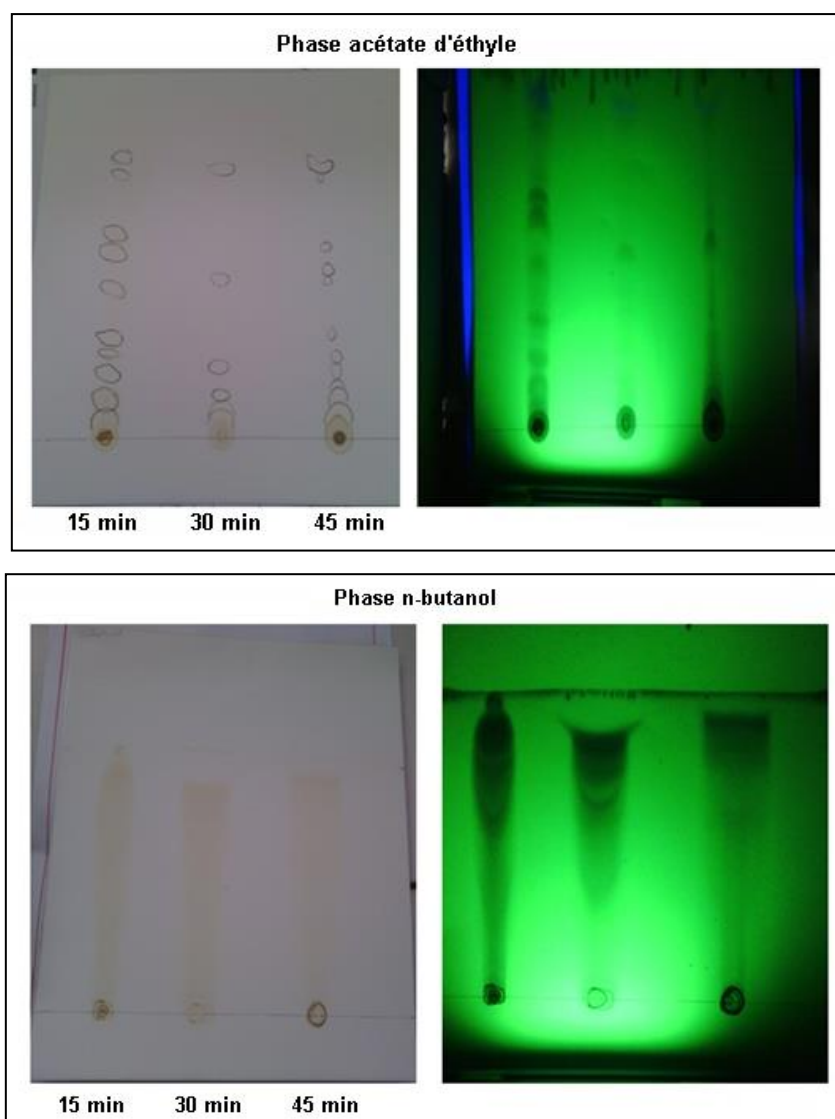


Figure 26 : (Suite...)

Tableau 14 : Résultats de la CCM, séparation des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les feuilles de la plante *Artemisia herba alba* (Asso)
 Révélation chimique (Solution d'acide sulfurique + chaleur)
 Révélation physique (lampe UV 254 nm)

Phases d'extraction	Spots	15 min		30 min		45 min	
		Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur
Solution (lyophilisée)	1	0.51	jaune	0.48	jaune	0.6	jaune
	2	0.62	orange	0.65	orange	0.7	orange
	3	0.72	bleu	0.79	orange	0.79	bleu
	4	0.82	bleu noir	0.83	bleu	0.86	bleu
	5	0.5	bleu	0.87	bleu	0.89	bleu
	6	0.93	violet	0.92	violet	0.95	violet
Phase éther diéthylique	1	0.09	orange	0.13	jaune	0.10	jaune
	2	0.14	jaune	0.18	jaune	0.19	jaune
	3	0.20	jaune	0.228	jaune	0.65	sobre
	4	0.25	sobre	0.26	jaune	0.80	bleu
	5	0.48	sobre	0.45	sobre	0.88	violet
	6	0.72	sobre	0.69	sobre		
	7	0.79	sobre	0.83	bleu		
	8	0.85	bleu	0.9	violet		
	9	0.93	violet				
Phase acétate d'éthyle	1	0.064	sobre	0.058	jaune	0.07	orange
	2	0.10	orange	0.083	jaune	0.12	orange
	3	0.18	orange	0.11	jaune	0.14	jaune
	4	0.21	jaune	0.19	sobre	0.18	jaune
	5	0.22	jaune	0.43	sobre	0.22	jaune
	6	0.26	jaune	0.77	bleu	0.28	sobre
	7	0.42	jaune			0.43	sobre
	8	0.52	jaune			0.45	sobre
	9	0.58	jaune			0.53	sobre
	10	0.77	sobre			0.74	sobre
	11	0.83	bleu			0.79	bleu
Phase n-butanol	1	0.063	sobre	0.45	bleu foncé	0.79	bleu foncé
	2	0.13	bleu	0.59	bleu foncé	0.81	bleu
	3	0.68	bleu	0.71	bleu claire	0.83	bleu claire
	4	0.76	bleu	0.80	bleu claire	0.88	bleu claire
	5	0.81	bleu noire	0.85	bleu claire	0.95	bleu claire
	6	0.89	bleu noir	0.89	bleu		
	7	0.99	bleu				

Les résultats de cette analyse ont révélé que les différents extraits obtenus contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes. La présence de ces composés a été confirmée par la coloration des spots surtout en bleu, jaune et orange (**Dohou et al., 2004 ; Mamyrbekova-Bekro et al., 2012**).

A partir de ces résultats, on remarque que le nombre total de spots représentant les flavonoïdes (N = 27) dans le temps 15 min est élevé que ceux dans les deux autres temps, 30 min (N = 20) et 45 min (N = 21). Cela confirme ce que nous avons obtenu précédemment (§ V. 2. 2).

Enfin, nous pouvons conclure que les résultats de la CCM confirment, d'une part la présence des composés phénolique et flavonoïdes dans les différents extraits obtenus, et d'autre part l'effet du facteur temps sur l'extraction des ces métabolites à partir des feuilles de la plante médicinale *Artemisia herba alba* (Asso).

V. 4- Activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton) a pour but d'évaluer le pouvoir antibactérien de différents extraits obtenus, contre la bactérie *Escherichia coli* (ATCC 25922) et de comparer les trois temps d'extraction étudiés (15 min, 30 min et 45 min). Nous avons calculé le pouvoir antibactérien par la différence entre le diamètre de la zone inhibitrice de chaque extrait et celui de la zone inhibitrice du témoin (méthanol). Cette méthode a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le **tableau 15** et **figure 27**.

Tableau 15 : Pouvoir antibactérien des différents extraits obtenus à partir des feuilles d'*Artemisia herba alba* (Asso).

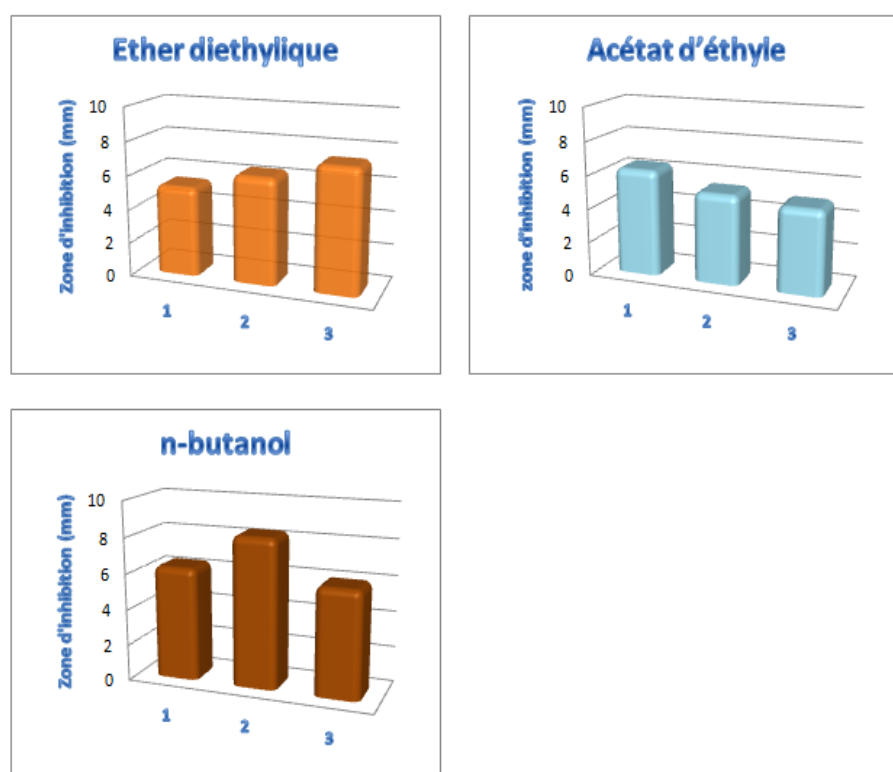
Phase d'extraction	Zone d'inhibition (mm)		
	15 minutes	30 minutes	45 minutes
Solution aqueuse	0	0	0
Ether diéthylique	5.33 ± 1.15	6.33 ± 2.08	7.33 ± 0,58
Acétat d'éthyle	6.33 ± 1.15	5.33 ± 0.58	5 ± 1
n-butanol	6.33 ± 1.53	8.33 ± 2,52	6 ± 1

D'après les résultats du tableau 15, le diamètre des zones d'inhibition diffère d'un extrait à un autre. Cette variation de l'activité antimicrobienne explique la diversité en compositions chimiques des différents extraits obtenus.

Le plus grand diamètre est observé dans le cas de l'extrait n-butanol avec le temps d'extraction 30 min ($8.33 \pm 2,52$). Ce résultat renforce également ce que nous avons obtenu précédemment dans les deux cas, en l'occurrence CCM et rendement d'extraction.

La solution aqueuse (lyophilisée) n'a pas donné de zones d'inhibition. Cette observation est en accord avec celle rapportée par **Seddik et al (2010)**.

Enfin, et en se basant sur les résultats observés, on peut dire qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) au-delà de 30 minutes.



1 = 15 minutes ; 2 = 30 minutes ; 3 = 45 minutes

Figure 27 : Pouvoir antibactérien des différents extraits obtenus à partir des feuilles d'*Artemisia herba alba* (Asso).

Conclusion et perspectives

Une étude sur l'influence du temps de contact sur le rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante *Artemisia herba alba* (Asso), a été réalisée. Il s'agit, en l'occurrence, de l'extraction de ces métabolites avec de l'eau chaude, maintenue à la température fixe de 77 °C, pendant 15, 30 et 45 minutes, respectivement.

La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique, le dosage quantitatif de ces métabolites et l'activité antibactérienne des extraits obtenus.

Les tests phytochimiques ont révélé que les feuilles de cette plante sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, comme en témoigne l'apparition de colorations vert-noirâtre et orange, par addition de FeCl₃ et de cyanidine, respectivement.

L'étude comparative a montré que l'extraction pendant 30 min donne le meilleur rendement en composés phénoliques, alors que le rendement en flavonoïdes a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction a été allongé de 30 min à 45 min.

Le dosage quantitatif de ces métabolites a révélé que la concentration la plus élevée en composés phénoliques a été observée pour un temps d'extraction de 30 min (2.749 mg EAG/ml E) et celle en flavonoïdes pour un temps d'extraction de 15 min (0.234 mg EQ/ml E).

L'analyse qualitative, après séparation par CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm, a confirmé d'une part la présence de ces métabolites dans les différents extraits, et d'autre part l'effet du facteur temps sur leur extraction.

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton) a montré que le plus grand pouvoir contre la bactérie *Escherichia coli* (ATCC 25922) a été observé dans l'extrait n-butanol, temps d'extraction 30 min (diamètre de la zone d'inhibition = 8,33 ± 2,52). Ce résultat conforte les résultats obtenus par CCM et par détermination du rendement d'extraction.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, on peut affirmer qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) au-delà de 30 minutes.

Les résultats obtenus sont très encourageants et incitent à la poursuite de ce travail. Ainsi, nous espérons réaliser, dans un avenir proche, des études sur l'influence de la température sur

le rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de cette plante, *Artemisia herba alba* (Asso).

Références bibliographique

Références bibliographiques

(A)

Adjé. F, Lozano. Y. F, Lozano. P, Adima. A, Chemat. F, Gaydou. E. M. (2010) Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction, *Industrial Crops and Products*. ScienceDirect.

Aftab. T, Jorge. F. S, Ferreira. M, Masroor. A, Khan. M, Naeem. E. (2014) *Artemisia annual*. Pharmacology and Biotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN.158-172.

Aggarwal. S. (2009) *Advances in Medicinal Plants*. Oxford Book Company, Jaipur India. ISBN: 01-310.

Amensour. M. (2010) Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits des plantes médicinales d'origine marocaine. Application biotechnologique à l'amélioration de la qualité des produits alimentaires. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences- Université Abdelmalek Essaadi. Tetouan.

Angelov. G, Penchev. P, Condoret. J. S. (2007) Optimization of operational conditions of ethanol extraction of rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis L.*) scientific PAPERS. Vol: 35.

Ansm. (2014) Liste a des plantes médicinales utilisées traditionnellement. 1-33.

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

(B)

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. *PharmMédTrad* : 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 pulcherrima* (baill.) herend et zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & nature*. 4 (2) : 217 – 225.

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

Boizot. N, Charpentier. J. P. (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. 79-82.

Boudjelal. A. (2013) Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar - Annaba.

Bougoutaia. Y, Nedjimi. B, Adda. A, Kaid. H. M. (2014) Etude caryologique et moléculaire de deux populations algériennes d'*Artemisia herba alba* (Asso). (Asteraceae). Revue agriculture. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 08 : 21 – 25.

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

(C)

Crozier. A, Clifford. M. N, Ashihara. H. (2006) Plant Secondary Metabolites. Blackwell Publishing, Oxford.

Clementine. B, Mathieu. S, Elena. V, Ilonka. S. (2012) Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea* L. Revue de Génie industriel. p : 37.

(D)

Daglia. M. (2011) Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23, 1-8.

Da Porto. C, Porretto. E, Decorti. D. (2012) Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. Ultrasonics Sonochemistry, SciVerse ScienceDirect

Dent. M, Uzelac. V. D, Penic. M, Brncic. M, Bosiljkov. T, and Levaj. B. (2013) The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in dalmatian wild sage (*Salvia officinalis L.*) extracts. *Polyphenols from Dalmatian Wild Sage*, Food Technol. 51(1) 84–91.

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

Djellouli. M, Moussaoui. A, Benmehdi. H, Ziane. L, Belabbes. A, Badraoui M, Slimani. N, Hamidi. N. (2013) Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of south west Algeria. *University of Bechar*. 2:59-65.

Dohou. O. N, Yamni, Gmira. N, Idrissi. H. L. M. (2004) Etude des polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaealythroides*. *Acta botanica malacitana* 29:233-239.

(E)

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

Ehrhart N, Anne. S. (2003) La phytothérapie : se soigner par les plantes. Eyrolles Paris.

El Azzouzi. F, Zidane L. (2015) La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni Mellal (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*. 91 : 8493 – 8502.

(G)

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

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

(H)

Heller. W, Forkmann. G. (1993) The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. *Secondary Plant Products*. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425.

Hota. D. (2007) bioactive medicinal plants. Gene-Tech Books New Delhi - 110 002.

(K)

Karabegoviü. I. (2011) Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of the Artemisiasp. Recovered by Different Extraction Techniques.19:504-511.

Kàre. B. (1994) asteraceae, cladistics & classification.

Kebièche. M, Lakroun. Z, Mraïhi. Z, 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.

Keller. R. B. (2009) Flavonoids: biosynthesis, biological effects and dietary sources. Nova Science Publishers.

Kouakou. L. Kouakou. J. C. Traore. F, Ehouan. E. (2008) Effet antihypertensif de BpF2, une fraction d'extrait aqueux de feuilles de *Bidenspilosa*. (Asteraceae) chez le lapin. *Sciences et Nature*. 5 : 29 – 37.

(L)

Lucchesi. M. E. (2006) Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.

(M)

Macheix. J. J (1996) Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta BotanicaGallica*.143:6, 473-479.

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

Makkar. H. P. S, Siddhuraju. P, Becker. K. (2007) Methods in molecular biology, Plant Secondary Metabolites.

Mamyrbekova. B. 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. A. (2015) Utilisation de l'armoise et de l'eau de riz en traitement adjuvant de la coccidiose chez le poulet de chair. Thèse de Doctorat. Université Frères Mentouri Constantine.

Mohamed.A. El-H. H, El-Sayed. M. A,Hegazy. M. E,Helaly. S. E, Esmail. A. M and Mohamed. N. S. (2010) Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. Records of natural products.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 BakrBelkaïd, Tlemcen.

(N)

Nawwar.M. A. M, El-Mousallamy A. M. D, Barakat.H. H, Buddrus. J, Linscheid. M. (1989) Flavonoid lactates fromleaves of Marrubiumvulgare. Phytochemistry.28

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

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)

Okafor. I. C, andHam. R.(1999) Identification, utilisation et conservation des plantes medicinales dans le sudest du Nigeria. Thèmes de la biodiversité africaine, Numéro 3.

(P)

Pan. Y, Wang. K, Huang. S, Wang. H, Xiaomei. M, Chunhuan. H, Xiaowen. J, Zhang. J, Huang. F. (2003) Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. sciencedirect, food chemistry.

Parisi. O. I, Puoci.F, Restuccia. D, Farina. G, Iemma. F and Picci.N. (2014) Polyphenols and Their Formulations: Different Strategies to Overcome the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability. Academic Press is an imprint of Elsevie.29-45.

Penchev. (2010) Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.

(R)

Rwangabo. P. C. (1993) La médecine traditionnelle au Rwanda. Karthala Editions.

(S)

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

Sell. P, Murrell. G. (2005) Flora of Great Britain and Ireland. Department of Plant Sciences. University of Cambridge. 62-63.

Simpson. M. G. (2010) Plant Systematics, Second Edition, Academic Press is an imprint of Elsevier. 428-432.

Singh. B, Harish. K.S, Bhavesh. C. S. (2011) Optimization of extraction of antioxidants from wheat bran (*Triticum spp.*) using response surface methodology. *J Food Sci Technol* 49(3):294–308.

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

Soni. S, Sharma. H.K, Kaushal. P, and Singh. C. (2015) Effect of process parameters on the antioxidant activities of bioactive compounds from Harad (*Terminalia chebularetz.*). *AgricEngInt, CIGR Journal*, Vol. 17, N°2: 205.

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

Subhash.C, Mandal. M. (2015) Essentials of Botanical Extraction Principles and Applications. Academic Press is an imprint of Elsevier. 63-71.

(T)

Talbi.H, Boumaza. A, El-mostafa. K. Talbi.J.Hilali A. (2015) Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physicochimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical

composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci.* 6 (4):1111-1117.

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

Telli. A, Mahboub. N, Boudjeneh. S, Siboukeur. O. E. K, Moulti-mati. F. (2010) Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de Dated lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L.) variétés ghars. *Annales des Sciences et technologie.* Vol. 2, N° :107-114.

Treki. A. 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.

Turkmen. N, Sedat Velioglu. Y, Sari. F and Polat. G. (2007) Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea, *Molecules* 12, 484-496.

(V)

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

Valnet. J. (2001) la phytothérapie-traitement des maladies par les plantes – Se soigner par les plantes. Ed. Vigot. ISBN :2-253-03790-7. In : **Haddouchi. F. (2007)** Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Thymus Fontanesii* (Zaâteur) de la région de Mostaganem et de *Laurus nobilis* (Rend) de la région de Tlemcen (Nedroma). Activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur conservation.

(W)

Wink. M. (2010) Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 1-17.

(Z)

Zouari. S. Ayadi. I, Fakhfakh. N, Jdir H. Aloui. L, Kossentini. M, Zouari N. A. R. (2014) Essential oil variation in wild populations of *Artemisia saharae* (Asteraceae)

from Tunisia: chemical composition, antibacterial and antioxidant properties. BotanicalStudies, 55:76.

Sites web

Site web N°1: https://fr.wikipedia.org/wiki/Armoise_herbe_blanche#cite_note2

(consulter le 01/05/2016).

Sit web N°2: www.gunt.de/download/extraction_english.pdf

(Consulter le 22/04/2016).

Site web N°3:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d0/Cromatography_tank_fr.png(

Consulter le 17/05/2016).

الملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة تأثير زمن التماس على مردود استخلاص المركبات الفينولية والفلافونويدات من نبات *Artemisia herba alba* (Asso) : أجريت عملية الاستخلاص بواسطة الماء الساخن تحت درجة حرارة ثابتة 77°C ، لمدة 15 ، 30 و 45 دقيقة على التوالي.

وترتكز المقارنة على مردود استخلاص هذه المركبات الأيضية ، الفحص الكروماتوغرافي ، تقدير كمية هذه المركبات ، فعالية المستخلصات المتحصل ضد البكتيريا.

في الجزء الأول من هذه الدراسة، تم التأكد من تواجد هذه المركبات في مسحوق المادة النباتية بواسطة ثلاثة من الاختبارات الكيميائية النباتية (تفاعل FeCl_3 و تفاعل cyanidine).

في الجزء الثاني، أظهرت الدراسة المقارنة بأن عملية الاستخلاص لمدة 30 دقيقة أعطت أفضل مردود من المركبات الفينولية، وأن مردود الفلافونويدات قد زاد بشكل كبير عند تمديد زمن الاستخلاص من 30 دقيقة إلى 45 دقيقة .

تم تقدير تركيز المركبات الفينولية الفلافونويدات في مختلف المستخلصات المتحصل عليها بطريقتين: Folin-Ciocalteu و trichlorure d'ammonium على التوالي. و قد لوحظ أن تركيز المركبات الفينولية الأعلى قد ظهر في زمن الاستخلاص 30 دقيقة (2.749 mg EAG/ml E) و أن تركيز الفلافونويدات الأعلى قد ظهر في زمن الاستخلاص 15 دقيقة (0.234 mg EQ/ml E).

أكد التحليل النوعي من جهة، بعد عملية الفصل بواسطة CCM و الإظهار تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 254 nm، بتواجد هذه المركبات الأيضية في مختلف المستخلصات المتحصل عليها، ومن جهة أخرى تأثير زمن التماس على عملية الاستخلاص.

و في الجزء الأخير من هذا العمل، بينت طريقة أقراص الانتشار على البيئة الصلبة (Müller-Hinton) بأن أكبر قوة تأثير ضد البكتيريا *Escherichia coli* (ATCC 25922) قد ظهرت في المستخلص n-butanol عند الزمن 30 دقيقة (قطر منطقة التثبيط = 8.33 ± 2.52). هذه النتيجة تؤكد النتائج المتحصل عليها في حالة CCM و أيضا نتائج مردود الاستخلاص.

وفي الختام، واستنادا على النتائج المتحصل عليها، يمكننا أن نؤكد بأنه ليس من المفيد تمديد الاستخلاص بواسطة الماء الساخن (77°C درجة مئوية) إلى ما بعد 30 دقيقة.

الكلمات المفتاحية : *Artemisia herba alba* ، زمن الاستخلاص ، CCM ، المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، *Escherichia coli*.

Résumé

L'objectif principale de notre travail est l'étude de l'influence du temps de contact sur le rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante *Artemisia herba alba* (Asso) : L'extraction a été effectuée avec de l'eau chaude, maintenue à la température fixe de 77 °C, pendant 15, 30 et 45 minutes, respectivement.

La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique, le dosage quantitatif de ces métabolites et l'activité 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 trois tests phytochimiques (deux réactions au FeCl₃ et une réaction à la cyanidine).

Dans la seconde partie, l'étude comparative a montré que l'extraction pendant 30 min donne le meilleur rendement en composés phénoliques et que le rendement en flavonoïdes a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction a été allongé de 30 min à 45 min.

La concentration des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les différents extraits obtenus, a été estimée par deux méthodes : Folin-Ciocalteu et trichlorure d'ammonium respectivement. La concentration la plus élevée en composés phénoliques a été observée pour un temps d'extraction de 30 min (2.749 mg EAG/ml E) et celle en flavonoïdes dans le temps d'extraction de 15 min (0.234 mg EQ/ml E).

L'analyse qualitative après séparation par CCM, visualisation sous UV à 254 nm, a confirmé d'une part la présence de ces métabolites dans les différents extraits obtenus, et d'autre part l'effet du facteur temps sur leur extraction.

Dans la dernière partie de ce travail, la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton) a montré que le plus grand pouvoir contre la bactérie *Escherichia coli* (ATCC 25922) a été observé dans l'extrait n-butanol, temps d'extraction 30 min (diamètre de la zone d'inhibition = 8,33 ± 2,52). Ce résultat conforte les résultats obtenus par CCM et par détermination du rendement d'extraction.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, on peut affirmer qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) au-delà de 30 minutes.

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

Abstract

The main objective of our work is to study the influence of contact time on the extraction yield of phenolic compounds and flavonoids from the plant *Artemisia herba alba* (Asso): The extraction was carried out with hot water maintained at fixed temperature, 77 °C for 15, 30 and 45 minutes, respectively.

The comparison focuses on the extraction yield of target metabolites, chromatographic screening, quantitative determination of these metabolites and the antibacterial activity of extracts obtained.

In the first part of this study, the presence of these compounds in the grinded plant material has been established by three phytochemicals tests (two reactions by FeCl₃ and one reaction by cyanidine).

In the second part, the comparative study showed that the extraction for 30 minutes gives the best performance in phenolic compounds, and that the yield of flavonoids has been substantially increased when the extraction time was elongated from 30 min to 45 min.

The concentration of phenolic compounds and flavonoids in the different extracts obtained was estimated by two methods: Folin-Ciocalteu trichloride and ammonium respectively. The highest concentration of phenolic compounds was observed for an extraction time of 30 min (2.749 mg EAG/ml E) and the flavonoids in the extraction time of 15 min (0.234 mg EQ/ml E)..

Qualitative analysis after separation by CCM, UV visualization at 254 nm, confirmed on the one hand the presence of these metabolites in the different extracts obtained, and on the other hand the effect of time on extraction.

In the last part of this work, the method of diffusion disks on solid medium (Mueller-Hinton) showed that the greatest power against the bacteria *Escherichia coli* (ATCC 25922) was observed in the n-butanol extract, time extraction 30 min (Diameter of the inhibition zone = 8.33 ± 2.52). This result confirms the results obtained by CCM and determination of extraction efficiency.

In conclusion and based on the results obtained, we can affirm that it is not useful to extend the extraction with hot water (77 ° C) beyond 30 minutes.

Keywords: *Artemisia herba alba*, extraction time, CCM, phenolics, flavonoids, *Escherichia coli*.

Optimisation du temps d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* (Asso)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé.

Résumé

L'objectif principale de notre travail est l'étude de l'influence du temps de contact sur le rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante *Artemisia herba alba* (Asso) : L'extraction a été effectuée avec de l'eau chaude, maintenue à la température fixe de 77 °C, pendant 15, 30 et 45 minutes, respectivement.

La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage chromatographique, le dosage quantitatif de ces métabolites et l'activité 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 trois tests phytochimiques (deux réactions au FeCl₃ et une réaction à la cyanidine).

Dans la seconde partie, l'étude comparative a montré que l'extraction pendant 30 min donne le meilleur rendement en composés phénoliques et que le rendement en flavonoïdes a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction a été allongé de 30 min à 45 min.

La concentration des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les différents extraits obtenus, a été estimée par deux méthodes : Folin-Ciocalteu et trichlorure d'ammonium respectivement. La concentration la plus élevée en composés phénoliques a été observée pour un temps d'extraction de 30 min (2.749 mg EAG/ml E) et celle en flavonoïdes dans le temps d'extraction de 15 min (0.234 mg EQ/ml E).

L'analyse qualitative après séparation par CCM, visualisation sous UV à 254 nm, a confirmé d'une part la présence de ces métabolites dans les différents extraits obtenus, et d'autre part l'effet du facteur temps sur leur extraction.

Dans la dernière partie de ce travail, la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton) a montré que le plus grand pouvoir contre la bactérie *Escherichia coli* (ATCC 25922) a été observé dans l'extrait n-butanol, temps d'extraction 30 min (diamètre de la zone d'inhibition = 8,33 ± 2,52). Ce résultat conforte les résultats obtenus par CCM et par détermination du rendement d'extraction.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, on peut affirmer qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction avec de l'eau chaude (77 °C) au-delà de 30 minutes.

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

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Y. NECIB	(Professeure - UFM Constantine).
Rapporteur :	B. BOUSEBA	(MC-B- UFM Constantine).
Examineur :	S. CHIBANI	(MC-A - UFM Constantine).

Date de soutenance : 16/06/2016