

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et la recherche Scientifique



71240-181

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la
Matière

Département des Sciences de la Matière

Mémoire de Projet de Fin d'Etude

2ème Année Master

Extraction et purification de métabolites secondaires issues de
l'extrait hydro-alcoolique d'*Artemisia herba-alba*

Filière : Science de Matière

Spécialité : Chimie physique et analytique

Présenté par : BELMIR Fatma

Sous la direction de :

Dr.Kolli El hadj

Juin 2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mon

Très chère père Abd Al Kader

'Dieu le bénisse'

Qui m'a toujours soutenu, et qu'a été

Toujours présent pour

Moi

A la plus chère au monde,

ma mère Jamila qui a

toujours m'encouragé durant

mes études

A mes frères Salah Eddine, Hamza

A mon fiancé Housseem

A toutes mes amies, mes famille

A toute personne qui me connaît.

Remerciements

Ce travail de mémoire présenté a été réalisé au sein laboratoire de recherche de chimie physique à l'université 08 mai 1945 Guelma.

Je voudrais adresser mes profonds remerciements.

Toute ma gratitude à monsieur le Dr : Kolli El hadj d'avoir accepté la direction de ce mémoire, pour son aide, pour m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail dans un environnement aussi enrichissant tant sur le plan scientifique que personnel, par Ses conseils et Ses encouragements.

Nous souhaitons remercier les membres du jury pour L'attention qu'ils ont porté à notre travail.

Nous remercions tout le personnel du laboratoire pour sa contribution au succès de mon travail.

Enfin, j'exprime de vifs remerciements aux personnes qui me sont proches et qui ont contribué par leur soutien à L'aboutissement de ce travail.

Liste des figures

Figure	Titer	Page
		07
I.1	Composé Benzo- α -pyrone	08
I.2	Structure générale des coumarines	10
I.3	Structure chimique de Xanthylétine : pyran coumarine linéaire	10
I.4	Structure chimique de quelques pyran coumarine angulaire	11
I.5	Structure chimique des acides gallique et ellagique	13
I.6	Flavone ou 2-phénylchromone	15
I.7	Différent classe des flavonoïdes	18
I.8	Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique	21
I.9	Exemples de quelques sesquiterpènes	22
I.10	Squelettes de base des triterpènes	27
II.1	L'Armoise ; <i>Artemisia herba-alba</i> (A) à la fin de la saison de fleuraison; (B) après séchage	38
III.1	Localisation de la commune de Dhaya dans L'Algérie	38
III.2	Localisation de la commune de Dhaya dans la wilaya de Sidi Bel Abbes	40
III.3	<i>Artemisia herba alba</i> (chih) avant et après la récolte	40
III.4	séchage des feuilles d' <i>artemisia herba alba</i>	41
III.5	Evaporateur rotatif	43
III.6	Protocole de préparation de différents extraits de la partie Aérienne d' <i>artemisia herba alba</i>	55
III.7	Structure partielle du composé FB1	56
III.8	Structure partielle du composé FB2	57
III.9	Structure partielle du composé FB3	58
III.10	Structure partielle du composé FB4	

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
	principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone	05
I.1	principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone	06
I.2	Principaux acides hydroxy cinnamiques	08
I.3	Structure chimique des coumarines simples hydroxylés en C6, C7 ou C8	16
I.4	Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures Flavoniques	17
I.5	La relation entre le Rf et la structure flavonique	18
I.6	Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes	19
I.7	les différentes classes de terpénoïdes	27
II.1	la distribution de quelques espèces du genre <i>Artemisia</i> dans le monde	32
II.2	Quelques Composés sesquiterpéniques isolés du genre <i>Artemisia</i>	33
II.3	Composés flavoniques isolés à partir des feuilles de <i>l'Artemisia herba-alba</i>	44
III.1	systèmes de solvants utilisés pour la CCM.	45
III.2	Essais chromatographiques sur CCM pour l'extrait chloroformique	46
III.3	les systèmes préférés pour l'extrait chloroformique	47
III.4	Essais chromatographiques sur CCM pour l'extrait acétate d'éthyle	48
III.5	les systèmes préférés pour l'extrait acétate d'éthyle	48
III.6	Résultats des fractions récoltées de la colonne de l'extrait Acétate d'éthyle <i>d'artemisia herba alba</i>	49
III.7	les masses des différentes fractions obtenues	50
III.8	Chromatogrammes des fractions de la colonne	50
III.9	Regroupement des fractions issues de la colonne	51
III.10	Chromatogrammes des fractions de (A-H)	52
III.11	Plaque sous lampe UV, $\lambda = 254$ nm	53
III.12	Plaque sous lampe UV, $\lambda = 312$ nm	53
III.13	Chromatogrammes des produits isolés	54
III.14	Les valeurs de Rf pour les composés isolés	54

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : degré Celsius

C : carbone

UV : ultra-violet

Rf : Rapport frontal

mg : Milligramme

ml : Millilitre

V/V : Volume/Volume

λ : Longueur d'onde

CTV : composés terpénique volatils

COSY : corrélation spectroscopie

HSQS: Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy

NaOH : Hydroxide de Sodium

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

H₃BO₃ : Acide Borique

HCl : Acide chlorhydrique

MeOH : Méthanol

ACoEt : Acetate d'ethyle

Na₂SO₄ : sulfate de sodium anhydre

CCM: Chromatographie sur couche mince

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

CH₃COOH : Acide Acétique

MeC: Méthyléthylcétone

SOMMAIRE

Dédicace

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE.....1

Références bibliographiques.....3

CHAPITRE I : Les composés phénoliques et terpéniques

I.1. Introduction.....4

I.2.les composés phénoliques5

I.2.1.Définition.....5

I.2.2.Classification5

I.2.2.1. les acides phénoliques6

I.2.2.1.1. Définition et classification.....6

a. Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C₆-C₁).....6

b. Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C₆-C₃).....6

I.2.2.2. les Coumarines.....7

I.2.2.2.1.Définition.....7

I.2.2.2.2.Structure chimique et classification.....7

a) Coumarines simples.....8

b) Coumarines complexes8

b.1) Les furanocoumarines.....8

b.2) pyranocoumarine9

I.2.2.3. les tanins10

I.2.2.3.1. Définition.....	10
I.2.2.3.2. les tanins hydrolysables.....	11
I.2.2.3.3. tanins condensés ou tanins catechiques ou proanthocyanidols.....	11
I.2.2.4. les lignines	11
I.2.2.4.1. Définition.....	11
I.2.2.4.2. Classification	12
I.2.2.5. Les flavonoïdes	13
I.2.2.5.1. Définition.....	13
I.2.5.2. Classification des flavonoïdes.....	13
• Les flavones, flavonols	13
• Les flavan-3-ols ou flavanols	14
• Les flavanones	14
• Les isoflavones	14
• Les chalcones, aurones	14
• Les anthocyanes	14
I.2.5.3. Méthodes d'analyse des flavonoïdes	16
I.2.5.3.a. la fluorescence sous lumière de Wood.....	16
I.2.5.3.b. Facteur de retardement et comportement chromatographique.....	17
I.2.5.3.c. La spectrophotométrie UV-Visible	19
I.3. Les composés terpéniques	19
I.3. 1. Introduction.....	19
I.3. 2. Classification des terpènes	19
I.3. 2. 1. Les sesquiterpènes	20
a) les sesquiterpènes acycliques	20
b) les sesquiterpènes monocycliques	20
c) les sesquiterpènes polycycliques.....	20
I.3. 2. 2. Les Triterpènes	21

Référence Bibliographique.....	23
--------------------------------	----

CHAPITRE II : Propriété biologique et travaux antérieur sur l'espèce *Artemisia*

II.1.Introduction	26
II.2. Les propriétés biologiques du genre <i>Artemisia</i>	27
II.2.1. Etudes pharmacologiques.....	28
a. Effets spasmolytiques.....	28
b. Effet Hypotensif.....	28
c. Effet hypoglycémique.....	28
d. Effet antivenimeux	28
e. Activité Cytotoxique.....	29
f. Activité antioxydante.....	29
II.2.2. Etudes microbiologiques.....	29
II.3. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	29
II.4. Toxicité	30
II.5. Etude bibliographique sur l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>.....	30
II.5.1. Famille des asteraceae.....	30
II.5.2. Genre <i>Artemisia</i>	30
II.5.3. Espèce <i>Artemisia herba Alba</i>	30
II.5.3.1. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>	31
a) Les sesquiterpènes lactones.....	31
b) Les flavonoïdes	33
Références bibliographiques.....	34

CHAPITRE III : Etude Phytochimique et résultats et discussion

III.1. Récolte du matériel végétal.....	38
III.2. Dénominations.....	39
III.3. Description Botanique du genre Artemisia.....	39
III.4. Description Botanique de l'espèce Artemisia herba-alba.....	39
III.5. Place dans la Systématique.....	39
III.6. Préparation du matériel végétal.....	40
III.7. Extraction par macération dans le méthanol aqueux	41
III.7. 1. Extraction solide/liquide.....	41
III.7.2. Détermination du rendement.....	41
III.7. 3. Extraction liquide/liquide.....	42
III.8. Séparation et purification.....	44
III.8.1. Tests chromatographiques sur CCM.....	44
III.8.2. Développement du chromatogramme.....	44
III.8.3. Révélation et calcul du rapport frontal (Rf).....	44
III.8.4. Les essais chromatographiques préliminaires sur CCM pour l'extrait chloroformique	45
III.8.5. Les essais chromatographiques préliminaires sur CCM Pour l'extrait Acétate d'éthyle	46
III.8.6. Séparation chromatographique sur colonne.....	48
III.8.7.Séparation chromatographique sur couche mince.....	52
III.8.7.1. Etude de la fraction E.....	52

III.8.7.1. a. Mode opératoire.....	52
III.8.7.1. b. Calcul du Rf.....	54
IV. Détermination de la structure partielle des produits isolés.....	54
IV .1 . Le composé FB1.....	54
IV .2 . Le composé FB2.....	55
IV .3 . Le composé FB3.....	56
IV .4 . Le composé FB4.....	57
Références bibliographiques.....	59
Conclusion Générale	60

• Résumé

Artemisia herba alba est un arbuste qui appartient à la famille des Astéracées. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Ce travail est consacré à l'étude phytochimique de cette plante du genre *Artemisia*, Ce genre très réputé pour accumuler de métabolites secondaires de type lactones sesquiterpéniques et de type flavonique, Ces deux classes de substance naturelles sont connues pour leurs activités biologiques diverses notamment l'activité cytotoxique et antioxydante.

La partie aérienne de la plante (tige et feuilles) a été soumise à une macération dans le méthanol, l'investigation phytochimique des extraits obtenus de cette plante utilisant les différentes méthodes de séparation chromatographique telles que la chromatographie sur colonne et couche mince de gel de silice ont permis l'isolement de quatre produits à l'état pur de type flavone, flavonol, flavonol substitué en 3 et un aurone.

La détermination de la structure partielle de ces composés flavoniques on été basées principalement sur la fluorescence sous lumière UV, la spectrophotométrie UV-Visible et la valeur de Rf dans différents systèmes de solvants.

Introduction

Générale

- **Introduction générale**

La médecine moderne et surtout thérapie chimique présente un risque contre l'équilibre de la santé de l'homme par ses effets secondaires dont résultent d'autres maladies de ce fait, l'homme a souvent eu recours à la médecine traditionnelle qui présente généralement moins de toxicité, moins contre-indications et peu de risque de sur dosage. Elle est basée sur l'utilisation des plantes médicinales et leurs substances actives [1].

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [2].

Dans le monde, près de 80 % de la population ont recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. Aujourd'hui, la savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages [3].

En Algérie, l'industrie pharmaceutique, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que les principes actifs sont étudiés depuis plusieurs années [4,5].

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

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

Les composés phénoliques principalement les flavonoïdes, acides phénoliques, constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire,

Références bibliographique

- [1] **Svoboda, K., Svoboda, T., (2000).** Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: microscopix Publications: 7-12.
- [2] **Tyihak, E., Moricz, A.M. and Ott, P.G.(2007).**Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in Phytochemistry.CRC Press.
- [3] **Pelt, J.M. (2001).** Les nouveaux actifs naturels, Marabout, Paris.
- [4]**Bouattoura, N., (1988).** Les ressources phytogénétiques. Importance-Préservation- Utilisation. Annales, INA, El Harrach-Alger, 12 (1), T 1 : 43-63.
- [5] **Djebaili, S., (1984).** Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Ben Aknoun, Alger : 177.
- [6] **Nkhili, E. (2009).**Polyphénols de l'alimentation : extraction, interaction avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant.Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad –Marrakech.
- [7] **Mahmoudi, S., Khali, M et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus*). Nature &technologie. B-science agronomiques et biologiques, N°09 : 35-40.

Chapitre I

*Les composés phénoliques et
terpéniques*

I.1. Introduction

Les plantes sont dites médicinales, lorsqu'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. On n'utilise généralement qu'une partie de la plante : la racine, la feuille, la fleur, la graine. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication [1].

Les plantes médicinales contiennent un grand nombre de molécules utilisées dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, notamment les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes [2].

Dans le monde végétal, les molécules naturellement synthétisées peuvent être classifiées en deux grandes catégories : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

Les molécules issues du métabolisme primaire ce sont des composés qui sont produits dans toutes les cellules et qui jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème [3]. Ces molécules comprennent : les acides aminés communs, les acides gras et les sucres.

Les molécules issues du métabolisme secondaire sont des molécules essentielles dans la vie végétale et interagissent avec l'environnement, ils sont aussi des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes [4].

Leurs produits ont été trouvés dans toutes les parties des plantes. Et répartis selon leurs rôles de défense, et cette répartition varie d'une plante à l'autre.

Ils se classent en trois grands groupes :

- ❖ les composés phénoliques : tanins, lignines, coumarines, flavonoïdes.
- ❖ Les terpènes : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40), et polyterpènes (plus que C40).
- ❖ les composés azotés : alcaloïdes, bétalaine, hétérosides, cyanogènes et glucosinolates.

I.2. les composés phénoliques

I.2.1. Définition

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques du règne végétal. Plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés [5]. Ils se trouvent dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de toutes les plantes. Les principales sources de nourriture sont les fruits et légumes, les boissons, les céréales, les oléagineux et les légumineuses [6], Ils forment un très vaste ensemble de substances avec des structures diverses qui sont difficiles à définir [7].

Les polyphénols ou composés phénolique sont subdivisés en phénols simples, acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique) et coumarines, en flavonoïdes, et en formes polymérisées : lignanes, lignines, tanins.. leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires[8],cardiovasculaires et neurodégénératives [9]. Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [10].

I.2.2. Classification

On peut dégager les principales classes de composés phénoliques dans le tableau suivant :

Nombre de C	Classe	Exemples/origine
C6	Phénols simples	Hydroquinine, catéchol
C6 - C1	Acides phénols	Acide salicylique Acide <i>p</i> (OH) benzoïque
C6 - C3	Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes	Acides caféique, férulique (café,pomme) Esculétine,scopolétine(citron),Eugénol (Giroflier)
(C6 - C3)2	Lignane	Pinorésinol (pin)
(C6 - C3) n	Lignine	Bois , noyau des fruits
C6 -C3 - C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine,lutéoline, quercétine (fruits) Génistéine (soja, pois),Pélargonidine, cyanidine et delphinidine (Fleurs, fruits rouges)
(C6 - C3 - C6)2	Bitlavonoïdes	Amentoflavone
(C6 - C3 - C6)n	Proanthocynes	Procyanidines, Prodelphinidines (Raisin rouge)

Tableau I.1 : principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone [11].

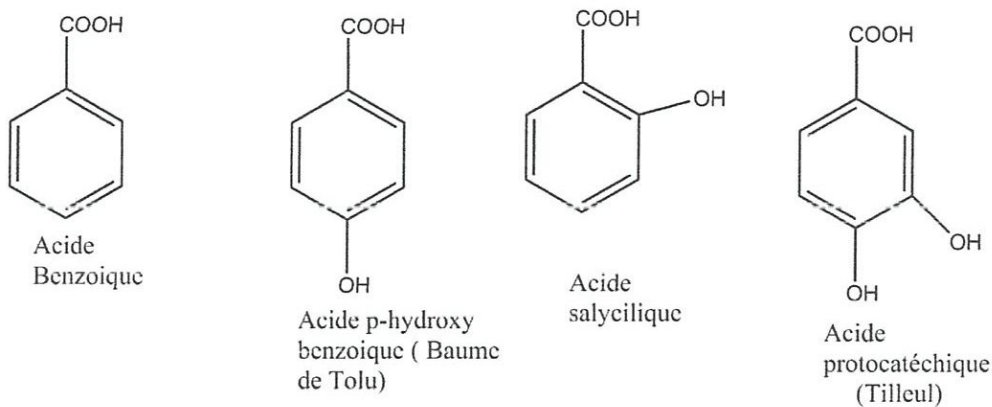
I.2.2.1. les acides phénoliques

I.2.2.1.1. Définition et classification

Les acides phénoliques sont des composés organiques qui ont au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En chimie botanique l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [12].

a. Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C₆-C₁)

Sa structure générale de type C₆-C₁ est très présente dans le règne végétal soit sous forme libre soit en combinaison avec l'état ester ou d'hétéroside [13].



b. Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C₆-C₃)

Les acides phénoliques en C₆-C₃ comme (acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés [7].

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

Tableau I.2: Principaux acides hydroxy cinnamiques [14].

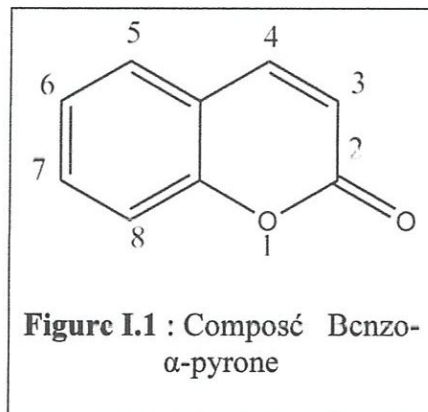
I.2.2.2. les Coumarines

I.2.2.2.1. Définition

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C₆-C₃, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone [15] et toutes sont substituées en 7 par hydroxyle. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [16].

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses [17].

Elles présentent un grand intérêt en raison de leurs propriétés pharmacologiques. En particulier, leur activité physiologique, bactériostatique et antitumorale [18]. Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [19].



I.2.2.2.2. Structure chimique et classification

Les coumarines possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques.

Les hydroxyles de ces coumarines peuvent être libres, étherifiés ou engagés dans une liaison hétérosidique.

On les divise en deux:

- Coumarines simples.
- Coumarines complexes.

a) Coumarines simples:

Ces composés sont très répandus dans le règne végétal, plus de 700 structures sont déjà décrites et possèdent des substituions(OH ou OCH₃) en 6 ou 7 [20].

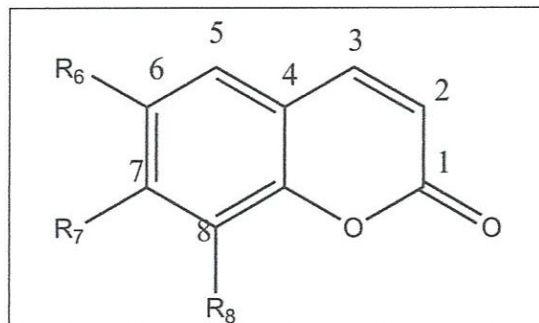


Figure I.2 : Structure générale des coumarines.

Composé	R6	R7	R8
Ombéliférone	H	OH	H
Daphnétine	H	H	OH
Esculétine	OH	H	OH
Esculétol	OH	OH	H

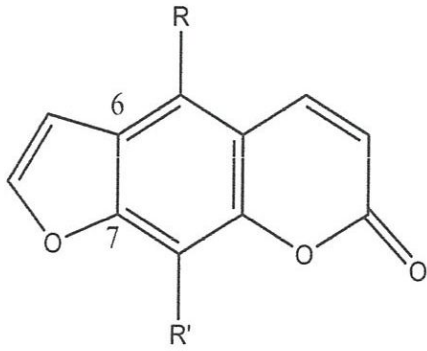
Tableau I.3: Structure chimique des coumarines simples hydroxylés en C6, C7 ou C8 [21].

b) Coumarines complexes

b.1) Les furanocoumarines ou furocoumarines

La furocoumarine, est un ensemble de substances toxiques, elles sont obtenues à partir de la fusion du noyau d'un composé chimique (furane) et d'une substance organique aromatique (coumarine) [22].

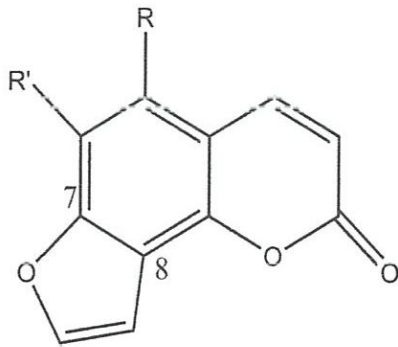
- En 6,7, ce sont les furocoumarines linéaires.
- En 7,8, ce sont des furocoumarines angulaires.



6,7-furocoumarines

génine	R	R'
psoralène	H	H
bergaptène	OCH ₃	H
xanthotoxine	H	OCH ₃

C'est la forme linéaire.



7,8-furocoumarines

génine	R	R'
angélicine	H	H
pimpinelline	OCH ₃	OCH ₃

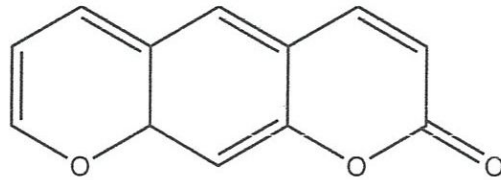
C'est la forme angulaire.

b.2) pyranocoumarine

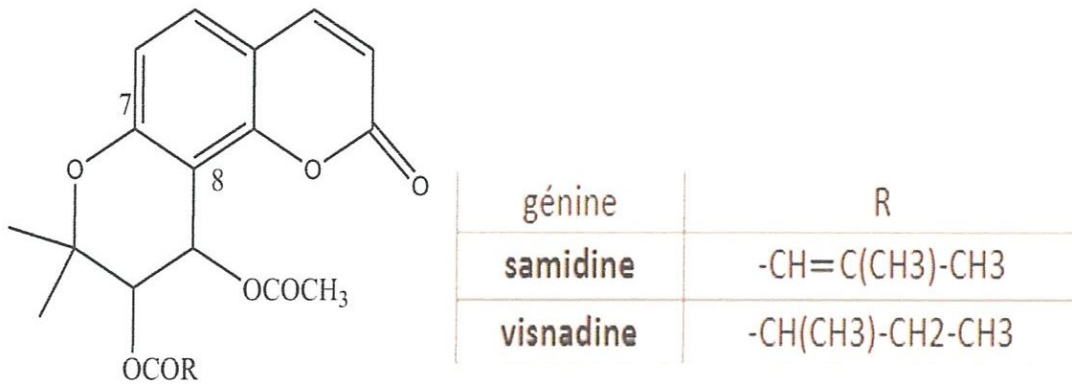
Ils sont formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine:

- Série linéaire : xanthylétine.
- Série angulaire: samidine, visnadine.

La forme angulaire est la plus répandue.



Xanthylétine

Figure I.3: Structure chimique de Xanthylétine : pyranocoumarine linéaire.**Figure I.4:** Structure chimique de quelques pyranocoumarine angulaire.

I.2.2.3. les tanins

I.2.2.3.1. Définition

Les tanins végétaux contiennent tous les composés glucidiques et phénoliques ; bien que leurs structures soient assez éloignées les unes des autres, ils ont des propriétés communes. Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils sont localisés dans les écorces, les bois, les racines, les feuilles et les fruits [23].

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé [17].

Il existe deux grandes classes de tanins :

- les tanins hydrolysables.
- les tanins condensés.

I.2.2.3.2. les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et l'acide gallique ou de l'acide ellagique, associés à des molécules d'acide-phénol [24,25].

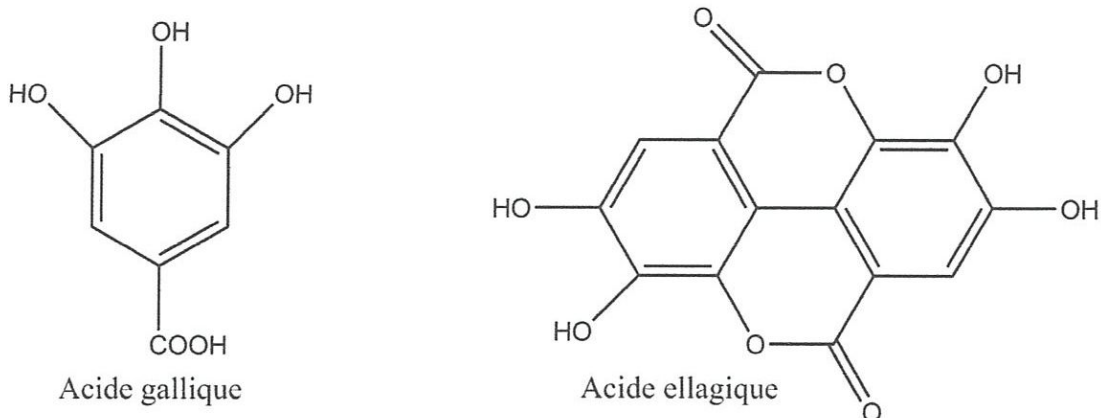


Figure I.5 : Structure chimique des acides gallique et ellagique.

I.2.2.3.3. les tanins condensés ou tanins catechiques ou proanthocyanidols

Les tanins condensés ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes [26]. Non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols [27]. Ils diffèrent des tanins hydrolysables par :

- Une structure voisine à celle des flavonoïdes.
- Absence de partie osidique.
- Non hydrolysables, en milieu acide fort et à chaud ils se polymérisent en donnant des précipités insolubles rouges bruns appelés phlobaphènes.

I.2.2.4. les lignines

I.2.2.4.1. Définition

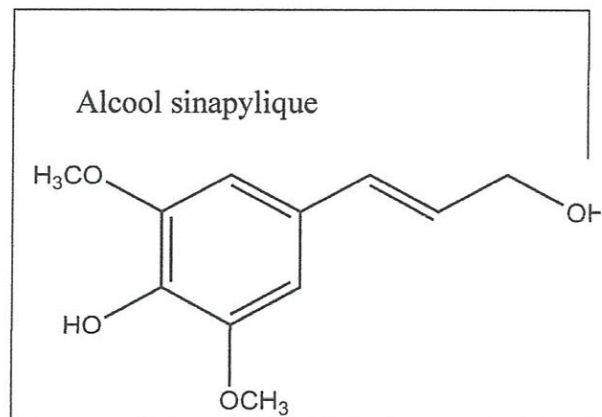
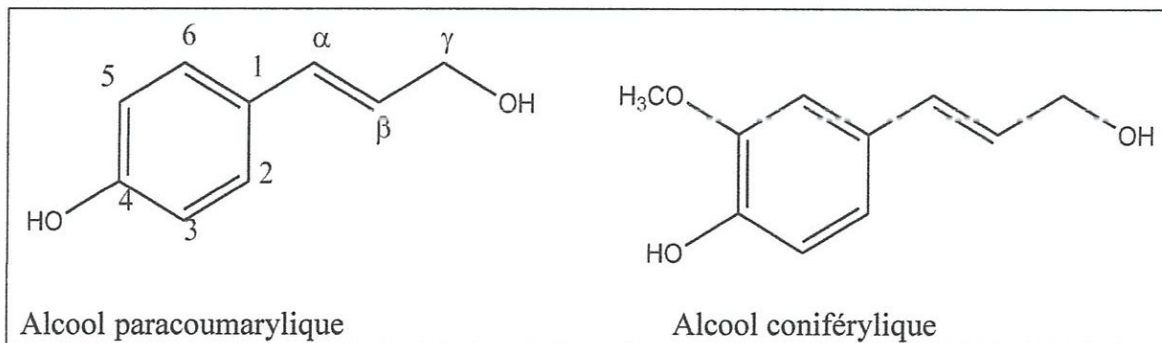
La lignine est présente principalement dans les plantes vasculaires et dans quelques algues. Sa composition varie avec l'espèce végétale [28].

La lignine résulte de la polymérisation d'un composé phénolique en C₆-C₃ de nature para-hydroxycinnamylique qui serait essentiellement de l'alcool para-coumarylique et de ces dérivés méthoxylés : l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique [29].

I.2.2.4.2. Classification :

Les lignines sont des polymères tridimensionnels. Il existe au moins trois types de monomères différents :

- l'alcool coumarylique, appelé unité H (hydroxyphényle)
- l'alcool coniférylique, appelé unité G (guaïacyle)
- l'alcool sinapylique, appelé unité S (syringyle), à deux groupes méthoxy [30].



I.2.2.5. Les flavonoïdes

I.2.2.5.1. Définition

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc [17]. Ils sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phénylchromone portant des fonctions phénols libres. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base [31].

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, flavanonols, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes [32].

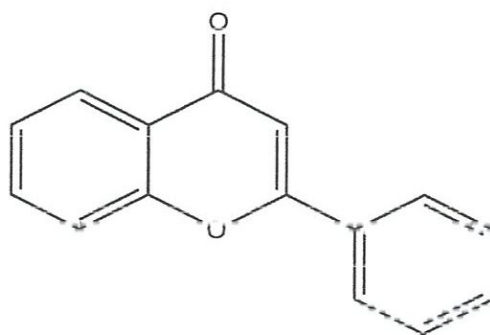


Figure I.6 : Flavone ou 2-phénylchromone

I.2.5.2. Classification des flavonoïdes

- **Les flavones, flavonols**

Cette famille est la moins couramment trouvée dans le règne végétal. Ces composés sont présents principalement dans les céréales et certains légumes. La structure de base est la 2-phénylchromène-4-one. Elles présentent une double liaison entre C2 et C3. Les principales flavones sont l'apigénine et la lutéoline [7].

- **Les flavan-3-ols ou flavanols**

Composés phagodétendants ayant la propriété de faire précipiter les protéines et impliqués dans la défense contre les pathogènes et phytophages. Ces propriétés font qu'on assimile parfois aux tanins ces molécules de faible poids moléculaire [7].

- **Les flavanones**

Sont des composés présentant de fortes similitudes de structures avec les flavonols mais ne comportant aucun groupement OH en position 3, ni de double liaison entre C2 et C3.

On y classe la naringénine et l'hespéridine, responsables du goût amer des agrumes [7].

- **Les isoflavones**

Ont des structures similaires aux œstrogènes. Le cycle aromatique B est lié en C3 au lieu de C2 comme chez les autres flavonoïdes. Des groupements OH sont présents en position C7 et C3. La principale source alimentaire est le soja [7].

- **Les chalcones, aurones**

Les chalcones, dépourvus de l'hétérocycle central, sont caractérisés par la présence d'un chaînon tri-carboné cétonique dont la liaison α - β est insaturée [7].

- **Les anthocyanes**

Les anthocyanes ou anthocyanines sont des pigments naturels solubles dans l'eau, de couleur rouge à bleu. Ces molécules sont présentes dans un certain nombre de végétaux, principalement dans les pétales et dans les fruits rouges en leur conférant des couleurs allant du rouge au bleu [7]

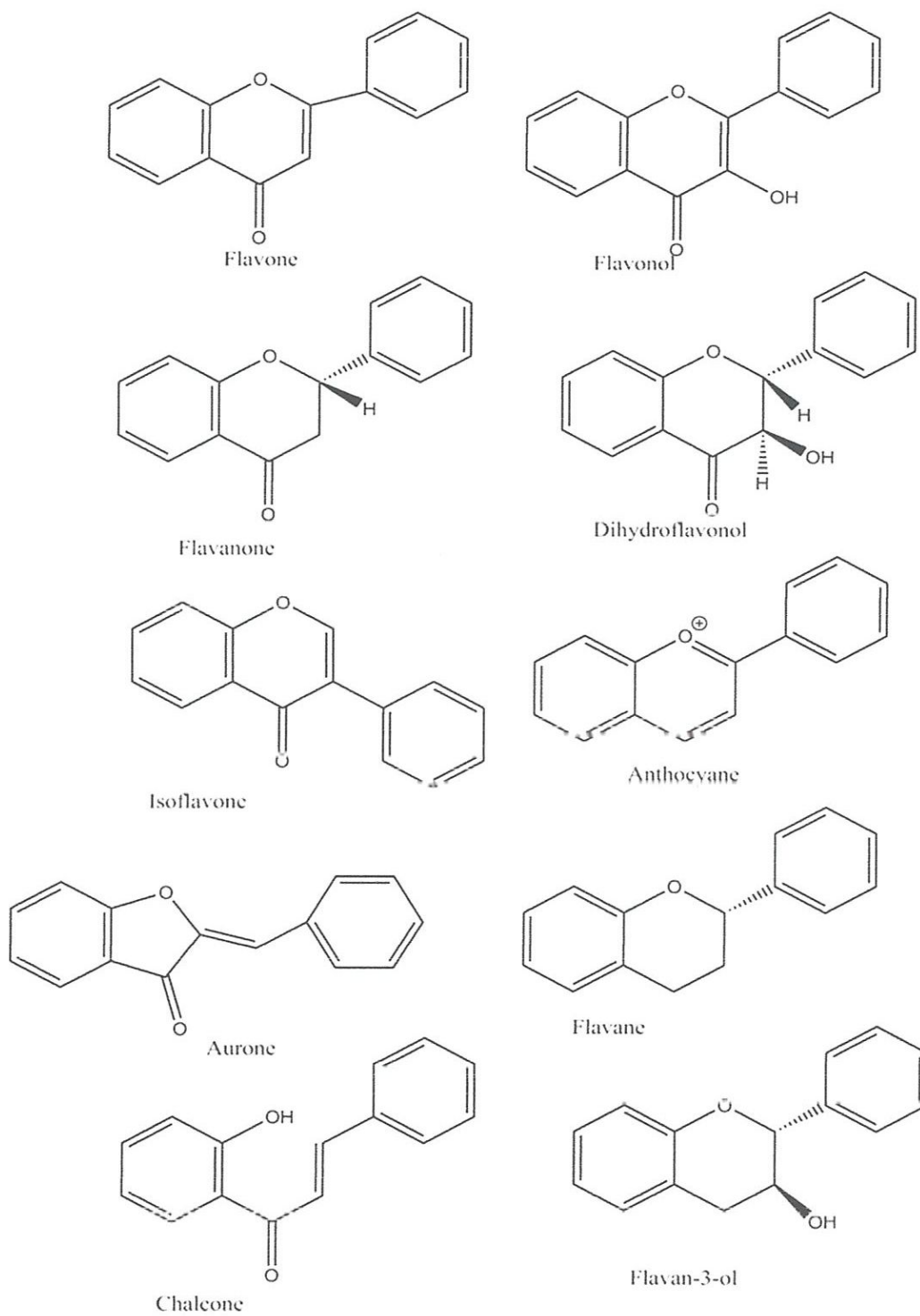


Figure I.7 : Différent classe des flavonoïdes [33].

I.2.5.3. Méthodes d'analyse des flavonoïdes

La fluorescence sous lumière UV, la valeur de Rf dans différents systèmes de solvants, les résultats de la spectrométrie de masse (SM) avec différents modes d'ionisation, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) avec ses différentes expériences monodimensionnelles (^1H , ^{13}C , DEPT) et la spectrophotométrie UV-Visible qui donne des indications importantes sur la nature du flavonoïde et son mode de substitution, sont les techniques utilisées pour l'identification et la détermination des structure flavoniques.

I.2.5.3.a. la fluorescence sous lumière de Wood :

L'absorption des substances flavoniques sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique.

Le tableau suivant montre la relation entre la fluorescence et la structure chimique [34].

La fluorescence	Les structures possibles
Violette noire	Flavones avec 5-OH Flavonol avec 3-OR, 5-OH, 4'-OH Chlaocones.
Bleue	Flavone ou flavonol sans OH libre en 5. Flavanone avec OH en 3 ou flavanol. Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH.
Jaune ou jaune terne	Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange fluorescente	Isoflavones
Jaune-vert	Aurones
Bleu-vert	Flavanone sans 5-OH

Tableau I.4 : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures Flavoniques.

I.2.5.3.b. Facteur de retardement et comportement chromatographique

En général, La valeur du Rf dans les produits flavoniques donne des informations sur la nature du produit (aglycone ou glycosyle), il est relié aussi avec la composition d'éluant utilisé (organique ou aqueux), le type de support chromatographique (gel de silice, polyamide, cellulose, papier) ainsi que la disposition des différents substituants.

Le tableau suivant montre l'influence de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du Rf.

La valeur du Rf est définie comme suit :

$$R_f = \frac{\text{Distance entre l'origine et la tache du produit après élution}}{\text{Distance entre l'origine et le front du solvant après élution}}$$

Le tableau montre l'influence de la substitution du squelette flavoniques sur la valeur du Rf.

Structure flavonique	Rf
Augmentation des groupes Hydroxyles	<i>Rf diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.</i>
Méthylation des hydroxyles	<i>Rf augmente dans les systèmes de solvants organiques et diminue dans les systèmes de solvants aqueux.</i>
Glycosylation	<i>Rf diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.</i>

Tableau I.5 : La relation entre le Rf et la structure flavonique.

I.2.5.3.c. La spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est une technique importante très utilisée pour l'identification des structures flavoniques. Elle permet la localisation des hydroxyles libres et leur position sur le squelette flavonique et cela par la formation de complexes avec les différents réactifs, et ça se traduit sur le spectre UV-Visible par des déplacements bathochromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorptions par rapport au spectre de référence pris dans le méthanol. Ce dernier est caractérisé par deux bandes d'absorption principales : la bande I et la bande II (**figure I.8**) [35].

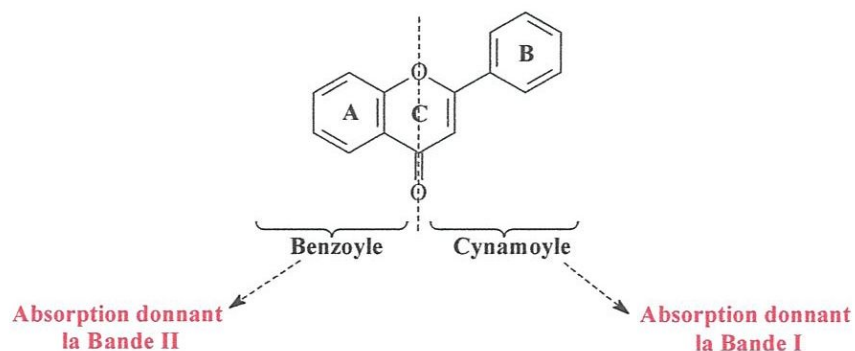


Figure I.8: Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique.

Le spectre enregistré dans le méthanol sera ensuite modifié par l'addition d'un certain nombre de réactifs tels que : NaOH, NaOAc, AlCl₃, H₃BO₃ et HCl. Ces derniers donnent des informations sur la structure du composé à travers leur réaction avec les groupements hydroxyles, cela se traduit sur le spectre UV par des déplacements bathochromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorption [36].

Le tableau donne l'intervalle du maximum d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour quelques types de flavonoïdes.

Le (Tableau I.6) donne l'intervalle du maximum d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour quelques types de flavonoïdes.

Type de flavonoïdes	Bande I (nm)	Bande II (nm)
Flavones	310-350	250-280
Flavonols (3-OH libre)	350-385	250-280
Flavonols (3-OH substitué)	330-360	250-280
Isoflavones	310-330	245-275
Flavanones et dihydroflavanols	300-330	275-295
Chalcones	340-390	230-270 faible intensité
Aurones	380-430	230-270 faible intensité
Anthocyanidines et anthocyanines	465-560	270-280

Tableau I.6: Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes.

I.3. Les composés terpéniques

I.3. 1. Introduction

Les composés terpénique volatils (CTV) représentent les métabolites secondaires connus, à savoir les, les terpènes phénylpropanoïdes / benzénoïdes, les acides aminés et les dérivés d'acides gras. Ces CTV sont généralement lipophiles et ont une pression de vapeur élevée. Ils peuvent facilement traverser les membranes cellulaires et les libérer dans l'atmosphère ou le sol [37].

Les terpènes sont des classes d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes. Ce sont des substances organiques naturelles, représentant une grande famille de métabolites élémentaires et secondaires.

Ils constituent la famille de produits naturels la plus divers structurellement, stéréochimiquement avec plus divers de 55 000 molécules identifiées à ce jour dans toutes les formes de vie [38].

Et dans les plantes où se trouvent les terpènes, ils se répartissent dans tous les oranges : fleurs, fruits, feuilles, écorces et fruits.

I.3. 2. Classification des terpènes

Dans les plantes une grande variété des terpènes cycliques et non-cycliques implique un nombre variable d'éléments isopréniques, dérivés de la 2-méthyl butadiène, on peut faire la classification suivante:

- ✓ pour $n = 2$: les monoterpènes (C_{10})
- ✓ pour $n = 3$: les sesquiterpènes (C_{15})
- ✓ pour $n = 4$: les diterpènes (C_{20})
- ✓ pour $n = 5$: les sesterpènes (C_{25})
- ✓ pour $n = 6$: les triterpènes (C_{30})
- ✓ pour $n = 8$: le caoutchouc naturel : les polyterpènes.

Classe	Forme chimique	Exemple
<i>Isoprène</i>	C_5H_8	-
<i>Monoterpène</i>	$C_{10}H_{16}$	Myrcène
<i>Sesquiterpènes</i>	$C_{15}H_{24}$	Farnésol
<i>Diterpènes</i>	$C_{20}H_{32}$	Terpinol
<i>Triterpènes</i>	$C_{30}H_{48}$	Squalène, stérols
<i>Tetraterpènes</i>	$C_{40}H_{66}$	Carotène
<i>Polyterpènes</i>	$(C_5H_8)_n$	Caoutchouc

Tableau I.7: les différentes classes de terpénoïdes

L'isoprène n'interfère pas avec la biosynthèse: cependant, une bonne caractéristique montre l'unité vitale de ce groupe en fonction du nombre d'unités de monoterpènes, de sesquiterpènes, de diterpènes, de triterpènes et polyisoprènes [39].

I.3. 2. 1. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules à 15 atomes de carbone de formule $C_{15}H_{24}$ constituées de trois unités isopréniques. Ils forment une série d'environ 5000 composés terpéniques répartis de la même façon que les monoterpènes [40].

Les sesquiterpènes lactones, sont un groupe important dans un grand nombre de substances naturelles. Plus de 3000 structures ont été isolés [41]. Il convient de remarquer que l'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisations possibles [42].

Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique.

a) les sesquiterpènes acycliques

Constituent un groupe relativement le moins abondant dans la nature. Ils dérivent tous du farnésol, nérolidol et leurs esters pyrophosphates. La plupart des sesquiterpènes acycliques ont un noyau furane ou tétrahydrofuranyl.

b) les sesquiterpènes monocycliques

Il existe une grande variété de sesquiterpènes cycliques. En plus des systèmes à six chaînons courants tels que le zingiberène, un constituant de l'huile de gingembre, la cyclisation d'une extrémité de la chaîne à l'autre peut conduire à des anneaux macrocycliques tels que l'humulène.

c) les sesquiterpènes polycycliques

Le caryophyllène est la plus importante; On le trouve principalement dans le poivre et quelques épices [43].

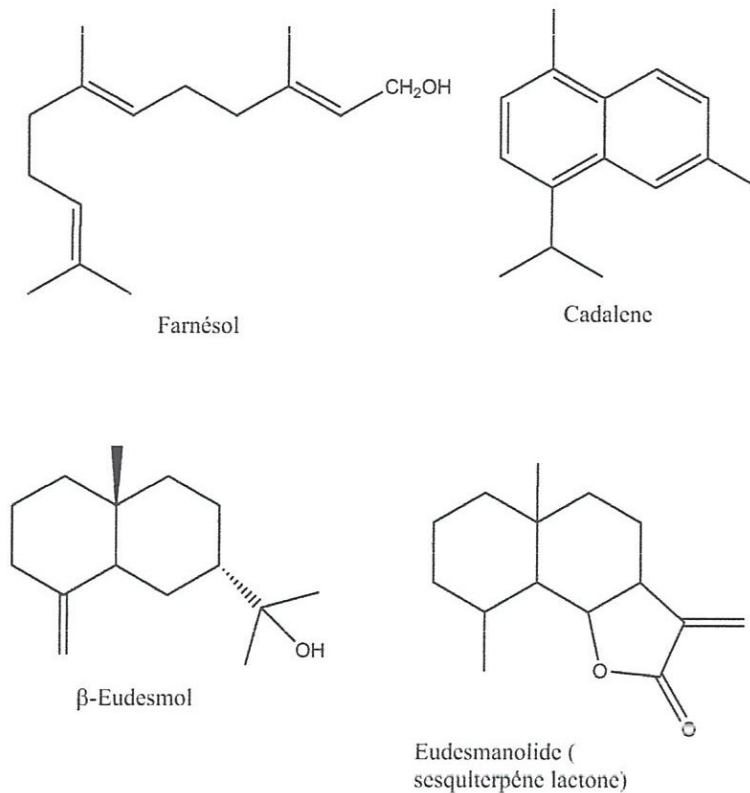


Figure I.9: Exemples de quelques sesquiterpènes.

I.3. 2. 2. Les Triterpènes

Les triterpènes sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène, qui est ensuite transformé en cholestérol, c'est de plus un des constituants de la graisse de la laine de mouton [44].

Les triterpènes libres sont des constituants principaux des résines végétales ou du latex, principalement de l'alcool ou du glycoside ou de l'ester, la vitamine D2 est un produit dérivé de tritèrène [45].

Ils peuvent être (**figure I.9**): Composés aliphatiques, composés tétracycliques et composés pentacycliques.

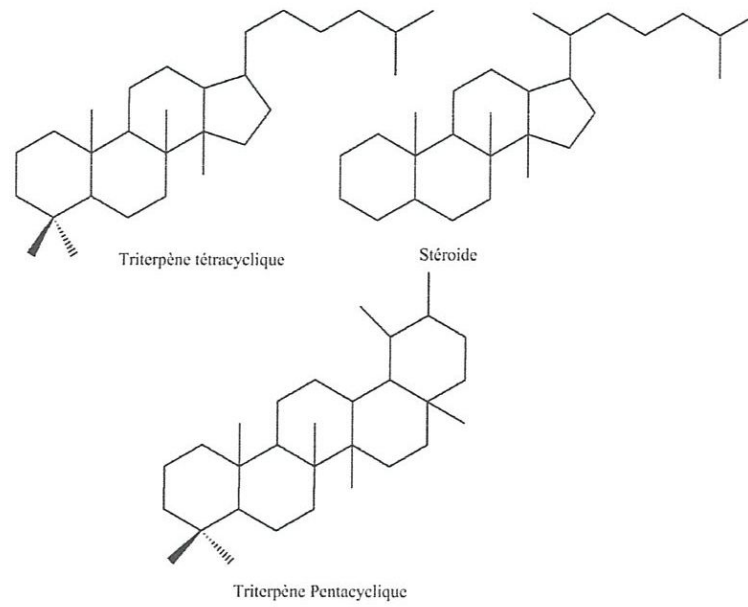


Figure I.10: Squelettes de base des triterpènes.

Références bibliographiques

- [1] Halberstein, R.A. (2005), *Médical plants: Historical and Cross-cultural Usage Patterns*. *Annals of Epidemiology*, 15, 686-699.
- [2] Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., Pinkas, M., (1996)-Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. Vol. (46): 1086-1089.
- [3] Peeking, A., Picand, B., Hacene, K., Lokiec, F., Guerin, P., (1987). Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines*. Publications médicales AGCF. Vol. (6): 512-513.
- [4] Ramakrishna, A., and Ravishankar, G. A. 2011. Influence of Abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 6 (11), 1-12.
- [5] Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. (1998). **Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle**. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).
- [6] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.*, 52: 673-839
- [7] Bruneton, J. (1993), pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Paris, France : EDS Lavoisier.
- [8] D. Chen et al., « Green tea and tea polyphenols in cancer prevention », *Front Biosci*, vol. 9, n° 2618, (2004).
- [9] Frankel et al., « Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine », *Lancet*, vol. 341, n°5, 454-457, (1993).
- [10] « 3rd international Conference on Polyphenols Applications », (2006), The International Society for Antioxidants in Nutrition and Health (ISANH).
- [11] Merghem, R. (2009). *Eléments de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine.
- [12] Halliwell, A., Gutteridge, J.M. C., (1999). The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*. vol (280): 1-8.
- [13] J.J. Macheix., A. Fleuriet., C. Jay-Allemand. 26 (2006). *les composés phénoliques des végétaux*. Presses polytechniques et universitaires Romandes. 189-190.
- [14] Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006)-*Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed Lavoisier: 2-10.

- [15] **O’Kennedy, R., and Thomas, R.D.** (Ed) (1997) .Coumarins: Biology, Application and Mode of Action. John Wiley and Sons Inc. New York.N.Y.
- [16] **Cowan, M.M.** (1999).plant products as antimicrobial Agents. Clin. Micrbil Re, 12(4): 564-582.
- [17]**Encyclopedia of Medicinal plants (2nd Edition).** (2001), Dorling Kindersiey Limited, Londres. Traduction Française, par **Pierre Vican. Larousse / VUEF.**
- [18]**P. K. Jain., Himanshu Joshi.** Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (06); 2012:236-240.
- [19] **Anderson, C.M., Hallberg, A.,Hogberg, T.** (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. Adv. Drug.Res, 28:65-180.
- [20]**Harbon, J.B.**(1999). Chemicals from plants: Perspectives on Plant Secondary Products. London: Imperial.
- [21] **Macheix, J., Fleuriet, A., Jay-Allemand C.** (2005).Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d’importance économique. Ed Presses poly technologiques et universitaires romandes :4-5.
- [22]**D.Hordé, P.** (2014). « Furocoumarine - Définition » issu de Sante-Medecine.
- [23]**Richardin, P.**(1986- 1987).Les documents graphiques et photographiques - Analyse et conservation - Travaux du Centre de Recherches sur la Conservation des Documents Graphiques, Chapter: Analyse de quelques tannins végétaux utilisés pour la fabrication des cuirs, Publisher: Paris, La documentation française, pp. 151-182.
- [24] **Jean-Blain, C.** (1998).Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins.Rev.Méd.Vét.p149, 911-920.
- [25] **Bruneton, J.** (1999). Tannins In : Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Cannas.
- [26] **Karamali, k., Teunis, V, R.**Classification des tanins.Fachbereich chemie und chemietechnik der universitat paderborn. Septembre (2001), 18, 641-649.
- [27] **Borowiec, M., Wasilewska-Dziubinska, E., Chmielowska, M., Wolinska-witort, A., Baranowska, B.** (2002). Effect of leptin and neuropeptide Y on hormones release in females rats. Neuroendocrinologyletters, 23, 149-154.
- [28] **G .Sarlos, P.A. Haldi et P. Verstraete,** traité de Génie civil de L’EPFL, volume 21, systèmesénergétiques,(2003).
- [29] **Himmel, M .E., Tatsmoto,K., Grohmann, K., Johnson, D. K., Chum, h.L.,** (1991).Molecular weight distribution of aspen lignins from conventional gel permeation chromatography, universal calibration and sedimentation equilibrium.J.Chromtogr.vol (498):93-104.

- [30] C.Lapierre. (2010). Les lignines, des polymères uniques au monde, Académie d'Agriculture de France.
- [31] Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier 2^{ème} édition: 535-545.
- [32] Harborn, J. B., Willians, C.A. (1992), 200. Advances in flavonoids research since. *Phytochemistry*; 55: 481-504.
- [33] D. Dehak, Polyphénols, Méthode d'extraction et de séparation des substances naturelles. (2003).
- [34] Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970), *the systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag New York, Heidelberg. 254.
- [35] Jurd, L. and Horowitz, R. (1962), Spectral properties of flavonoid compounds, Pergamon Press, Oxford, 107-2055.
- [36] Markham, K.R., Techniques of flavonoids identification, Eds Academic Press (1982).
- [37] Dudareva, N., F. Negre, et al. (2006). "Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives." *Critical Reviews in Plant Sciences* 25(5): 417-440.
- [38] Christianson, D.W. (2008). Unearthing the roots of the terpenone. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 141-150.
- [39] Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64:3-19.
- [40] Kahlck, W. (1830), *Arch. Pharm.*, 34, 318, *Delstetens Handbuch der organischen Chemie*, (1933). 17, 499.
- [41] Pirrung, M. C., Morehead, A. T., (1997). *The Total Synthesis of Natural Products*. Ed. Davide Goldsmith. Copyright, Canada.
- [42] Nes, W. R. and Mckean, M.L., (1977). *Biochemistry of steroids and other isoprenoids*, Univ. Park Press, Baltimore, Maryland.
- [43] Klass, C., Wagner, G., Laufer, S., Sosa, S., Loggla, R., Bomme, U., Pahl, H., Merfort, I., (2002). Studies on the anti-inflammatory activity of phytopharmaceuticals prepared from *Amia flowers*, *Planta Med.*, 68, 385-391.
- [44] Loomis, D., Crottau, R., (1980). Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P.K. Stumpf and E.E. Conn (Eds). *The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function No.4*. p 364-410. Academic Press, San Francisco.
- [45] Chapin, F.S., (1980). The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11, 133-260.

Chapitre II

*Propriété Biologique et
travaux antérieur sur
l'espèce Artemisia herba alba*

II.1.Introduction

Artemisia herba alba (Armoise blanche) est une espèce de la famille des Asteraceae de l'Afrique du Nord. Elle est très répandue sur les hauts plateaux. C'est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiée [1]. Ses feuilles sont oblongues, coupées en bandes vert foncé sur le visage et en coton blanc sur le fond (**figure II.1.**), elle présente également de petites fleurs jaunes tubulaires.

Elle dégage une très forte odeur, parfois désagréable [2,3]. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie, notamment par les habitants du Sahara central et du nord [4].

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles [5].

Artemisia herba alba a une partie essentielle qui a des activités antioxydants importantes. Cette partie de la plante est riche en composés antioxydants, qui exercent leur action antioxydants en inhibant la production d'anions, de peroxydes et d'hydroxyles et inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes [6].

En Algérie, ce genre couvre environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés [7], le tableau qui se suit représente la distribution de quelques espèces du genre *Artemisia* dans le monde.

Localisation	Espèces
médio-européennes	<i>Artemisia absinthium</i> L
méditerranéenne	<i>Artemisia campestris</i>
Péninsule du Sinaï	<i>Artemisia judaica</i>
Toute l'Europe	<i>Artemisia arborescens</i>
Chine	<i>Artemisia anomala</i>
Algérie	<i>Artemisia herba-alba</i>

Tableau II.1 : la distribution de quelques espèces du genre *Artemisia* dans le monde.

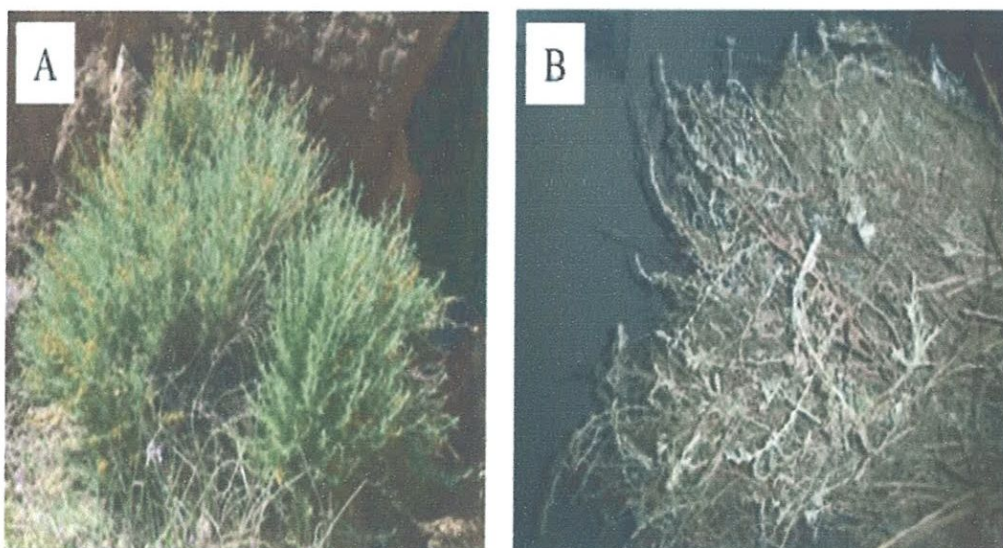


Figure II.1 : L'Armoise ; *Artemisia herba-alba*
(A) à la fin de la saison de fleuraison; (B) après séchage.

II.2. Les propriétés biologiques du genre *Artemisia*

Artemisia herba alba possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

II.2.1. Etudes pharmacologiques

a. Effets spasmolytiques:

L'extrait dans le Me₂CO de l'*Artemisia capillaris* a inhibé la réponse de contraction à l'épinephrine des bandes hélicoïdales de l'aorte thoracique du lapin [8].

Le 7-méthylerythridiol isolé à partir d'*Artemisia monosperma* réduit la couleur locale de l'iléum, de l'utérus et de la vessie. Ces effets antispasmodiques sont partiellement confirmés par l'utilisation d'*Artemisia monosperma* dans la médecine traditionnelle [9].

Il y a un effet spasmolytique dans l'extrait aqueux d'*Artemisia monosperma* sur l'iléum et l'utérus, et la vessie du rat [10].

Les flavonoïdes séparés de l'*Artemisia abrotanum* l, montrent à partir d'une dose donnée des effets de relaxation sur le carbacholine induit de la trachée de cobaye [11].

b. Effet Hypotensif

L'administration intraveineuse (3-30 mg / kg) d'extrait d'*Artemisia scoparia* dans le mélange d'eau et de méthanol produit les effets de l'hypotension et reste les effets du cœur et ces effets sont inchangés chez les animaux traités avec l'atropine [12].

c. Effet hypoglycémique

Dans une étude sur l'alimentation des souris et des lapins, il y a l'effet hypoglycémique de l'*Artemisia herba alba*, 0.39 g/kg de poids corporel

de l'extrait aqueux des parties aériennes de la plante pendant 2-4 semaines a montré une réduction significative de niveau de glucose dans le sang, empêche l'élévation du niveau glycolyse d'hémoglobine et possède un effet de hypoliposis, en plus de la protection contre la perte de poids corporel d'animaux diabétiques [13].

d. Effet antivenimeux

Des extraits aqueux de 12 plantes médicinales traditionnellement utilisées en Jordanie pour l'inhibition de venins de serpent et de scorpion chez l'homme ont été évalués pour leur éventuelle activité anti-venin. Parmi les plantes testées, l'extrait de plante le plus actif était celui de l'Armoise blanche, qui a donné 100% d'inhibition [14].

e. Activité Cytotoxique

Il a été rapporté que l'activité anticancéreuse de la lécithine A, B, et C, séparée des feuilles *Artemisia argyle*, ces lactones peuvent être utilisées dans le traitement de la leucémie [14]. L'extrait de l'*Artemisia* a montré une activité cytotoxique contre les lignées cultivées des cellules cancéreuses humaines [15].

f. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisia* a été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante [16].

II.2.2. Etudes microbiologiques

Sur les 100 extraits méthanoliques de plantes, seuls des extraits de parties aériennes d'*Artemisia ludoviciana* et d'*Artemisia tridentata* ont démontré une inhibition fongique efficace contre neuf types fongiques examinés [17].

Les flavonoïdes séparés d'*Artemisia giraldii* montrent une activité antimicrobienne contre le staphylococcus, *Sarcinalutea*, *Escherichia coli*, *Pseudoimonsaeruginosa*, *Proteus*, *Aspergillus flavus* et *Trichodrimaviride* [18].

Tous les composés isolés d'*Artemisia giraldii* et d'*Artemisia vestita* ont montré un inhibiteur du pathogène humain [19].

II.3. Utilisation dans la médecine traditionnelle

L'*Artemisia herba alba* est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies :

Gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal [20].

La consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia* permet de réduire les symptômes digestifs [21].

L'*Artemisia herba alba* est plus connu en Algérie, est utilisée dans alimentation comme l'arôme de certaines boissons telles que le thé ou le café. Cependant, son utilisation dans l'industrie alimentaire est encore très limitée en raison de la toxicité du bêta thuyone [22].

II.4. Toxicité

L'*Artemisia herba alba* est abortive, neurotoxique et hémorragique à fort doser. Thuyone est une substance toxique et biologiquement active dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thuyone. Elle a des effets convulsivants [23].

II.5. Etude bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba*

II.5.1. Famille des asteraceae

La famille des astéracées constituent un ensemble homogène, la plus vaste de toutes les plantes à fleurs, environ 1000 genres et 19000 espèces [24], défini par l'inflorescence: le capitule. Cet axe aplati, conique ou en dôme, entouré d'un involucre, porte des fleurs sessiles, cependant de nombreuses variations l'affectent: taille, forme, structure.

Ce sont des plantes médicinales, constituées d'oligosaccharides, souvent présentes dans les canaux résinifères, ainsi que des laticifères, mais l'un des deux est parfois absent, une présence générale de polyacétylènes et d'huiles essentielles de terpènes, généralement des lactones sesquiterpènes [25].

II.5.2. Genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* est l'un des plus importants de la famille des Asteraceae; Il comprend 200 à plus de 400 espèces, riches en huiles essentielles et en métabolites secondaires, et sont utilisées pour leurs diverses propriétés médicinales par les pharmacopées locales [26, 27, 28].

Des thés de fines herbes de ces espèces ont été employés comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, et hémostatiques, anthelminthique, anti-diarrhéique et diurétique [29].

II.5.3. Espèce *Artemisia herba Alba*

Artemisia herba alba est une espèce vivace [30], ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides [31], elle présente une odeur caractéristique d'huiles de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent [32]. Elle représente une importante ressource fourragère [33].

L'*artemisia herba alba* est bien connue depuis l'antiquité, plusieurs noms sont attribuées à l'*artemisia herba alba* ; thym des steppes, absinthe du désert.

II.5.3.1. Travaux antérieurs sur l'espèce *Artemisia herba-alba*

L'*Artemisia* est l'un des genres les plus grands et les plus répons dans la tribu Anthemideae de la famille des astéracées. Il a une valeur thérapeutique très importante à cause du métabolisme secondaire, y compris les huiles essentielles, les terpènes et les flavonoïdes [34].

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante [35].

Il existe plusieurs facteurs environnementaux qui affectent la concentration de ces molécules dans différentes parties des plantes: la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le dioxyde de carbone [36].

Les classes majeures des métabolites secondaires isolés sont les flavonoïdes et les sesquiterpènes lactones notamment les eudesmanolides et les germacranolides [37]. .

a) Les sesquiterpènes lactones

Les sesquiterpènes lactones, représentent un ensemble important en nombre de substances naturelles. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Plus de 3000 structures ont été isolés, comme par exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, farnesol [38].

Un nouveau chémotype d'*Artemisia herba alba* a été analysé et contient deux lactones sesquiterpéniques connues, les herbolides E et F, et trois nouveaux herbolides G, H et I [39].

La constitution en lactone sesquiterpène de cinq populations différentes d'*Artemisia herba alba* croissant au Moyen-Orient a été récemment rapportée. En raison de l'utilisation intensive de cette herbe dans la médecine populaire [40].

Le tableau représente quelques lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Artemisia*.

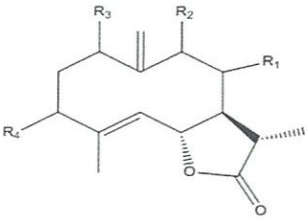
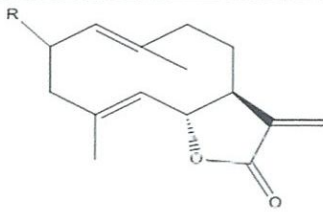
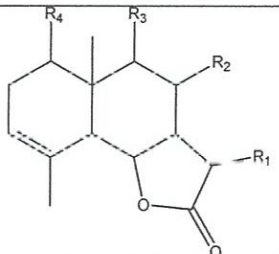
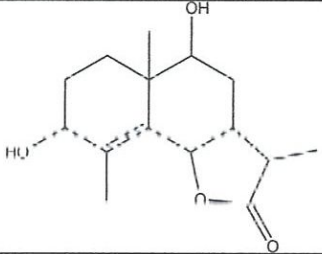
Nom du composé	Structure				Nom de la plante	Référence
	Germacranolides					
						
	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₄		
Herbolide F	H	OH	H	OH	<i>A. herba alba</i>	[41]
Herbolide H	H	OH	H	H	<i>A. herba alba</i>	[41]
11β,13-dihydroridentin-3-acetate	H	H	OH	OAc	<i>A. desertii</i>	[42]
						
	<i>R</i>					
Costunolide	H				<i>A. hispanica</i>	[43]
Tamaulipin	OH				<i>A. hispanica</i>	[43]
	Eudesmanolides					
						
	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₄		
Santamarin	CH ₃	H	H	OH	<i>A. hispanica</i>	[44]
Herbolide G	CH ₃	H	OH	H	<i>A. herba alba</i>	[41]
11β,13-dihydro-douglamin acetate	CH ₃	H	OH	OAc	<i>A. herba alba</i>	[40]
Herbolide E					<i>A. herba alba</i>	[41]

Tableau II.2: Quelques Composés sesquiterpéniques isolés du genre *Artemisia*.

b) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante. Ubiquitaires chez les plantes, formés à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et du malonate [45].

Les flavonoïdes jouent un rôle très important, dans la protection des plantes. Elle sont rencontrés à l'état libre (solubles) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire [46].

Les principaux flavonoïdes isolés à partir d'*Artemisia herba-alba* sont l'hispiduline, la cirsimaritrine [46]. Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotype du Sinaï [47].

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

Tableau II.3 : Composés flavoniques isolés à partir des feuilles de *Artemisia herba-alba* [47].

Références bibliographiques

- [1] **Bezza, L., A. Mannarino, K. Fattarsi, C. Mikail, L. Abou, F. Hadj-Minaglou, and J. Kaloustian**, *Compostion chimique de l'huile essentiel d'artemisia herba-alba provenant de la région de Biskra (Algérie)*. *Phytothérapie*, (2010).8 (5) : P.277-281.
- [2] **Ozenda, P. (1983)**. Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche Scientifique -Paris- 441p.
- [3] **Baba Aissa, F., (2000)**. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouïba
- [4] **Maiza, K., Brac de la perriere, R.A., Hammiche, V. (2011)**. Pharmacopée traditionnellesaharienne : Saharaseptentrional.Médicamentsetaliments :l'approcheethnopharmacologie. P . 169-171.
- [5] **Kundan, S., ct Anupam, S. (2010)**. the Genus Artemisia: A Comprehensive Review.*J.Pharm. Biol.*pp:1-9.
- [6] **Bruneton, J., (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales –3ème Ed Tec &Doc, Paris.494p.
- [7] **Celles, J. C.** Biologie et écologie végétale des régions arides. Cycle de conférences en Algérie. Laboratoire d'écologie des régions arides, université de Nice, (1980).
- [8] **Yamahara, J., Kobayashi, G., Matsuda, H., Katayama, T. and Fujimora, H J. (1989)**. *Ethnopharmacol*, 26(2), 129-136.
- [9] **Abu-Niaag, L., Abu-Zarga, M., Sabri, S. and Abdella, S.** *Planata Medica* (1993), 59(1), 42-45.
- [10] **Abu-Zarga, M., Qauasmeh, R., Sabri, S., Munsoor, M. and Abdella, S.** *Planata Medica* (1971), 61, 242-245.
- [11] **Bergendorff, O., and Sterner O.** *Planta Medica* (1995), 61(4), 370.
- [12] **Gilani, A.H., Jambaz, K., Lateef, A., Zaman, M. (1994)**. *Phytotherapy Rsearch* 8(3), 161.
- [13] **Alshamaony, L., Alkhazraji, S., and Twaij, H., J. (1994)**. *Ethno pharmacology*, 43(3), 167-171.
- [14] **Sallal, A.J. and Alkofahi, A. (1996)**. Inhibition of the hemolytic activities of snake scorpion venoms in vitro with plant extracts. *Biomedical Letters*, 53, 211-215.

- [15] Ryum, S., Kim, J., O. and Choi, S., U. (1997). *Planta Medica*, 63, 384.
- [16] Aniya Y., Shimabukuro M., Shimoji M., Kohatsu M., Gyamfi M.A., and Miyagi C. (2000). Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia Campestris* from the Okinawa Islands. *J. Biol. Pharm. Bull.* 23 (3): 309-312.
- [17] Mccutcheon, A., R., Ellis, S.M., Hancock, R.E.W., Towers, G.H.N, J. (1994). *Ethnopharmacol*, 44(3), 157.
- [18] Zheng, W., F. Tan, R., X., Yang, L. and Liu, Z., L. (1996). *Planta Medica*, 62, 160-162.
- [19] Tan, R., X., Lu, H., Wolfender, J., L. Yu, T., T. Zheng, W., F., Yang, L., Gafner, S. and Hostettmann, K. (1999). *Planta Medica*, 65, 64-67.
- [20] Anonyme. « *Artemisia* plante, un article de Wikipedia.org » [http://Fr.Wikipedia.org/Wiki/Artemisia \(plante\)](http://Fr.Wikipedia.org/Wiki/Artemisia_(plante)).
- [21] Saoudi, M., Allagui, M.S., Abdelmouleh, A., Jamoussi, K., and El Feki, A. (2010). Protective effects of aqueous extract of *Artemisia* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* Extract-induced oxidative Damag in rats. *Exp. Tox. Pathol.* 62: 601-605.
- [22] Bendjilali, B., Richard, H., Liddle, P. (1984). Chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151.
- [23] Lahsissen, H., Kahoudji, A., Tijane, A. et Hseini S., (2009) : Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zair (Maroc occidental). *Lejeunia. Revue de botanique* n° 186. Belgique.
- [24] *Encyclopaedia Universalis*, Vol. 4, Editeur à Paris, 1968, p. 795-797.
- [25] **Donnenberg, M. (2000)**. *Escherichia coli* virulence mechanisms of versatile pathogen. Elsevier Science Edition, San Diego, California.
- [26] Baykan Erel, S., Reznicek, G., Scnol, S.G., Karabay Yavasogulu, U.N., Konyalioglu, S., Zeybek, A.U., Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* Species from western Anatolia, *Turk J Biol*, (2012), 36: 75-84.
- [27] El Beyrouthy, M., Arnauld-Apostolides, N., Labaki, M., Cazier, F., Najm, S., AbouKaôs A. (2011), Chemical composition of the essential oil of the *Artemisia arborescens L.* growing wild in Lebanon, *Lebanese Science Journal*, , 12(1) : 71-78.
- [28] **Oznada**. « Flore du Sahara ». Editions du centre national de la recherche scientifique. Paris. (1997).

- [29] Ahmed, A.A., Abou El-Ela, M., Jakupovic, J., Seif El-Din, A.A., Sabri, N.(1990). *Phytochemistry*, 29, 3661–3663.
- [30] Kavishankar, G.B., Lakshmidivi, N., Murthy, S. M., PrakashH.S. And Niranjana, S.R. (2011).Diabetes and medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical sciences* 2 (3) : 65-80.
- [31] EL Bare,B., (1985).Contribution à la connaissance des paturages à armoise. Utilisation par les ovins et impacts du boutage sous différents niveaux de charge.Mémoire d'assistabanat. I.A.V.HassanII.Rabat.
- [32] Nabli. M A., (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.
- [33] Bourbouze, A. & F. Donadieu, (1987).L'elevage sur parcours en regionsmediterraneennes. Options medii, Serie B: Etudes et recherches, Ed. CIHEAM, 104.
- [34] Dahmani-Hamzaoui, N. and A. Baaliouamer, Chemical Composition of Algerian *Artemisia herba-alba* Essential Oils Isolated by Microwave and Hydrodistillation. *Journal ofEssential Oil Research*, 2010. 22 (6): p.514 517.
- [35] Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. p68, 2831–2846.
- [36] Merghem, R. (2009).Eléments de biochimie végétale. BahaeddineEditions: 95-121.
- [37] Mohamed, A.E. H., El-Sayed, M.E.Hegazy, S.E.Helaly, A.M.Esmail, and N.S.Mohamed,Chemical constituents and *biological activities of Artemisia herba-alba*.*Records of Natural Products*, 2010.4(1).
- [38] Kahlek, W. (1830). *Arch. Pharm.*, 34, 318
BelsteinsHanbuchderorganischenchimie, (1933).17, 499.
- [39] Scgal, R., Edcn, L., Danin, A., Kaiscr, M. and Duddeck, II. (1984). Sesquiterpene lactones from a further population of *Artemisia herba alba*. *Phytochemistry*, 23, 2954-2956.
- [40] Setzer, W.N., Vogler, B., Schmidt, J.M., Leahy, Rives, R.*Fitoterapia* (2004), 75,192-200.
- [41] Bouraoui, N., Lafi, B., Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, (2003).Tunis.
- [42] Marco, J., A., Sanz-Cervera, J., F., Manglano, E., Sancenon, F., Rustaiyan, A. and Kardar, M. *Phytochemistry* (1993), 34(6), 1561

- [43] Sanz, J., F., Barbea, O., and Marco, A. *Phytochemistry* (1989), 28(8), 2163-2167.
- [44] Seo, J.M., Kang, H.M., Son, K.H., Kim, J.H., Lee, C.W., Kim, H.M., Chang, S.L., Kwon, B.M. *Planta Med.* (2003), 69, 218-222.
- [45] Luttge, U., Kluge, M., Bauer, G., *Botanique : traité fondamentale* (traduction française). Ed. Tec. & doc. Lavoisier. Paris (1992) 205-218p.
- [46] Shen, X.L., Nielsen, M., Witt, M.R., Sterner O., Bergendorff, O., Khayyal, M., *Zhongguo Yaoli Xue Bao.* 1994 Sep, 15(5): 385-8.
- [47] Saleh, N., EL-Nougoumy, S., Abd-Allah, M., Abou-Zaid, M., Dellmonica, G., Chopin, J., *Phytochemistry.* (1985). 24(01): 201-203.

Chapitre III

*Etude phytochimique et
Résultats et Discisions*

III.1. Récolte du matériel végétal

Artemisia herba alba est une plante appartenant à la famille des Asteraceae. C'est une plante fourragère, médicinale et aromatique. Elle est utilisée comme remède de beaucoup de maladies tel que le traitement de diabète et la diarrhée.

Dans cette étude le matériel végétal utilisé a été récolté dans la région de Dhaya située sur la route nationale N°13, à 65 km au sud de Sidi Bel Abbas en Algérie au moins d'avril de l'année 2018.



Figure III.1 : Localisation de la commune de Dhaya dans L'Algérie



Figure III.2 : Localisation de la commune de Dhaya dans la wilaya de Sidi Bel Abbas.

III.2. Dénominations

Nom en arabe : Chih [1,2].

Nom tamazight : Ifsi [3].

Nom en français : Armoise blanche [3].

Nom en anglais: Desert wormwood ou white wormwood [2,4].

III.3. Description Botanique du genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* est répandu depuis les îles Canaries et le sud-est de l'Espagne jusqu'aux steppes de l'Asie centrale et de l'Afrique du Nord et du Proche-Orient, avec un nombre variable d'espèces allant de 200 à plus de 400[5].

Généralement, il s'agit d'un groupe d'herbes et d'arbustes aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabres [6].

III.4. Description Botanique de l'espèce *Artemisia herba-alba* :

L'*Artemisia herba alba* Asso est une plante herbacée vivace à tiges ligneuses et ramifiées de 30 cm à 50 cm [7], caractérisée par une odeur de thymol [8], avec de jeunes branches tomenteuses, les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs groupées en grappes à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre de couleur jaune à rougeâtre [7]. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides [9].

III.5. Place dans la Systématique

Embranchement.....Angiospermae

Règne..... plante

Classe.....Dicotyledones

Ordre.....Asterales

Famille.....Asteraceae

Genre..... *Artemisia*

Espèce..... *Artemisia herba Alba* Asso

III.6. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal se compose de feuilles de la plante *Artemisia herba alba*, les feuilles sont laissées à l'ombre pour sécher à température ambiante dans un endroit ventilé pendant une semaine.



Figure III.3 : *Artemisia herba alba* (chili) avant et après la récolte.

Les feuilles sèches sont coupées à l'aide de ciseaux et les matériaux broyés obtenus dans des sacs sont stockés à température ambiante, dans un endroit sec et protégés contre l'humidité et même la lumière pour l'utilisation.

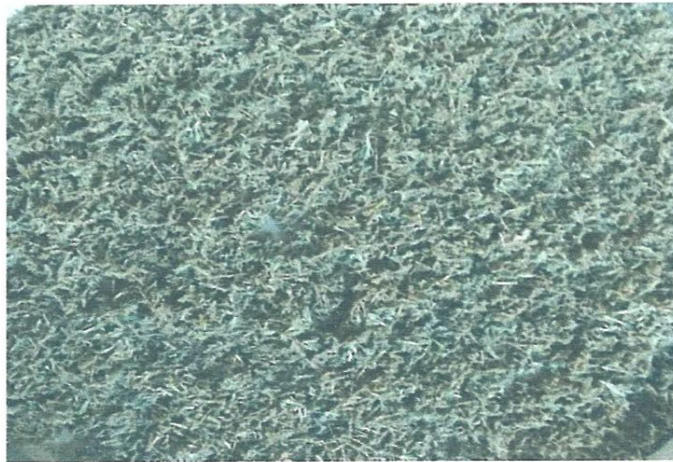


Figure III.4 : séchage des feuilles d'*artemisia herba alba*

III.7. Extraction par macération dans le méthanol aqueux

III.7. 1. Extraction solide/liquide

La macération consiste à mettre une plante ou une partie de la plante, dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (macération aqueuse) pendant plusieurs heures [10.11].

220 g de la matière végétale (parties aériennes) *d'artemisia herba alba* est mise à macérer dans un mélange hydroalcoolique (méthanol/Eau) dans la proportion (70/30 ; v/v) pendant 48 h à température ambiante puis filtrer sur un papier filtre, cette opération a été répétée deux fois avec renouvellement du solvant. Après évaporation du solvant à température n'excédant pas 55 °C par un évaporateur rotatif ou Rotavapor (**figure III.5**). L'extrait méthanolique a été pesé, la masse finale trouvée égale à 9.2 g.

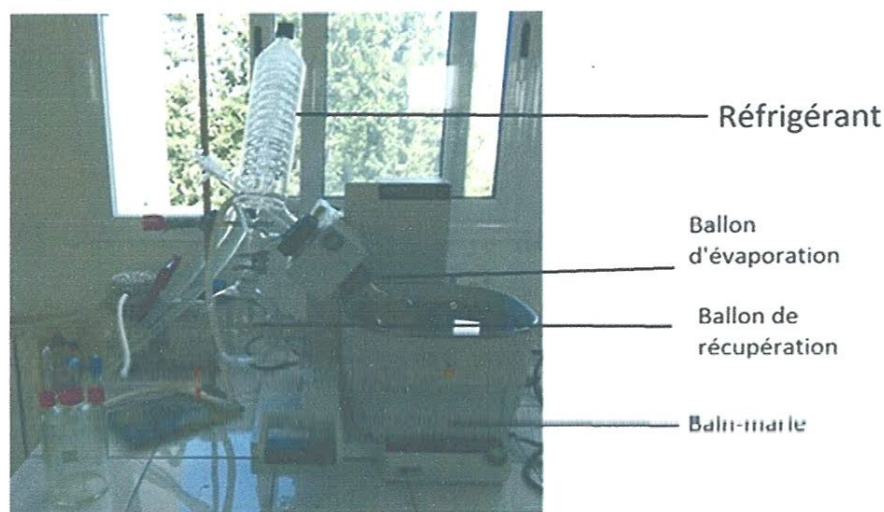


Figure III.5 : Evaporateur rotatif

III.7.2. Détermination du rendement :

Le rendement est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids du matériel végétal utilisé. Le rendement exprimé en pourcentage (%), est calculé par la formule suivante [12].

$$R\% = (m_1/m_0) \times 100$$

R : le rendement

m_1 : masse d'extrait sec

m_0 : masse de la matière végétale

$$R\% = (9.2/220) \times 100 = 4.18 \%$$

III.7. 3. Extraction liquide/liquide

L'extrait méthanolique obtenu a été dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1kg de matière sèche, puis a subi à des extractions de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissant en commençant par le chloroforme puis l'acétate d'éthyle. Nous avons ajouté 1/3 volume de chloroforme au volume de la phase aqueuse obtenue (v/v) ; les deux solvants ont été bien mélangé et laisser reposer aux moins 20 minute jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique chloroformique (coté inferieur) et autre aqueuse (coté supérieur), la phase organique a été récupérée dans un récipient en verre, cette procédure a été répétée deux fois. Les mêmes étapes ont été effectuées pour la phase acétate d'éthyle seulement la différence des phases, la phase organique ou acétate d'éthyle (coté supérieur) et la phase aqueuse (coté inferieur).

Les deux phases organique ainsi obtenues (chloroforme et acétate d'éthyle) sont séchées par du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), afin d'éliminer les traces d'eau susceptible d'avoir été retenue dans cette procédure puis filtrées et pesées, les masses de deux extraits sont :

- Masse de l'extrait chloroformique = 1.20 g.
- Masse de l'extrait acétate d'éthyle = 1.49 g.

La **figure** suivante résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts obtenus.

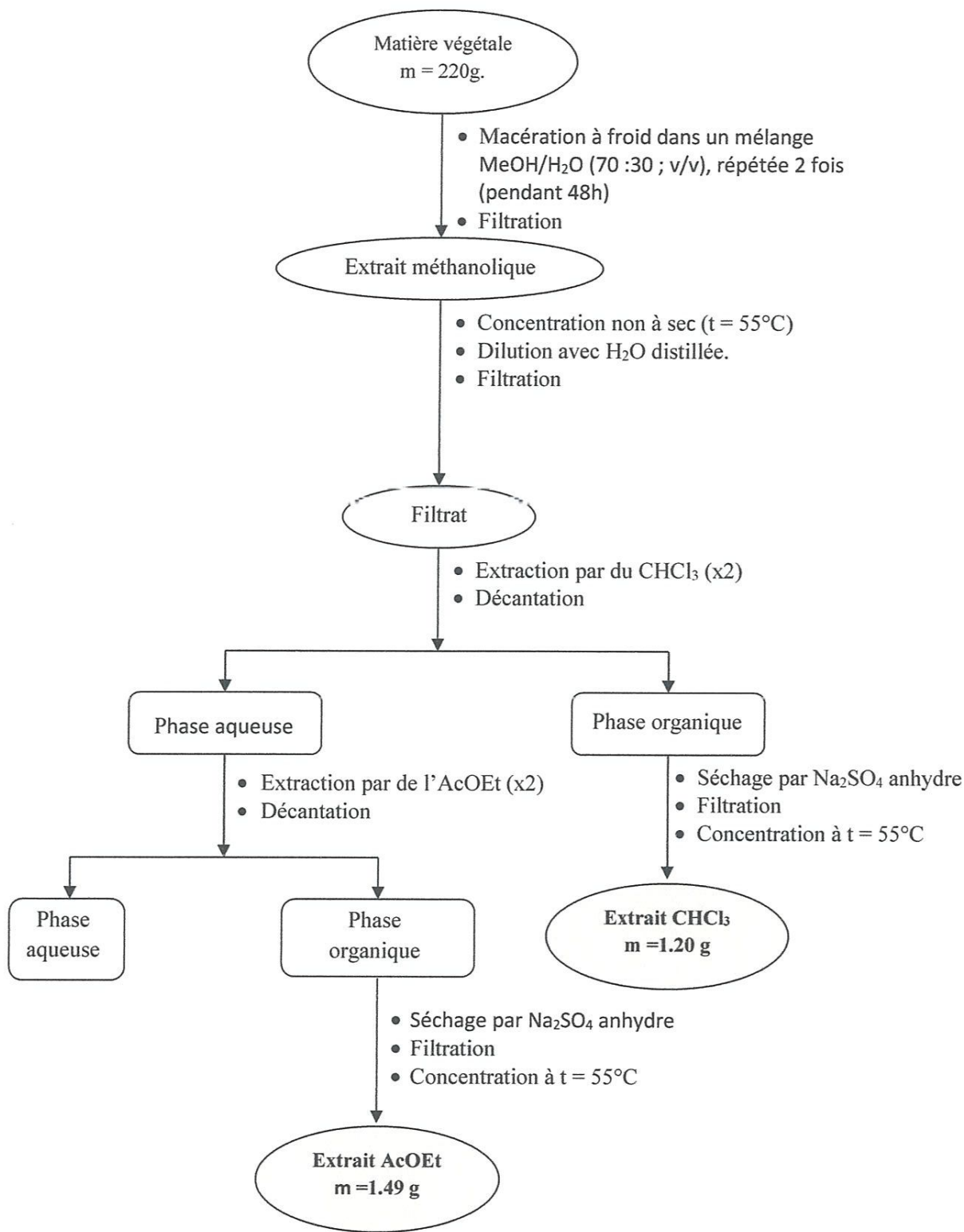


Figure III.6 : Protocole de préparation de différents extraits de la partie Aérienne d'*artemisia herba alba*.

III.8. Séparation et purification

III.8.1. Tests chromatographiques sur CCM

La Chromatographie sur couche mince est la première technique employée pour rechercher le meilleur solvant, avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne.

Des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice CCM (Type 60F₂₅₄, support aluminium, Merck) ont été réalisés sur les deux extraits (extraits chloroformique et acétate d'éthyle) afin de choisir le meilleur système d'élution utilisé pour la séparation sur colonne.

L'éluant est formé d'un mélange de solvant, le tableau suivant montre quelques systèmes de solvant utilisés.

Eluant	Pourcentage
• CHCl ₃ / MeOH	(9 :1)
• Hexane/ AcOEt	(1 :1)
• AcOEt / Acétone	(2 :1)
• CHCl ₃ / AcOEt	(5 :1)
• CHCl ₃ / Acétone	(5 :1)

Tableau III.1 : systèmes de solvants utilisés pour la CCM.

III.8.2. Développement du chromatogramme

Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie et fermer la cuve, tracer la ligne de dépôt à environ 1.5 cm du bord de la plaque; a l'aide d'une micropipette, déposer environ 0.5 ml de chaque échantillon. 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 0.5 cm de l'extrémité supérieur et sécher le chromatogramme à l'air libre.

III.8.3. Révélation et calcul du rapport frontal (Rf)

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

- Révélation physique : révélation des taches sous une lampe UV (254 nm et 312 nm).
- Révélation chimique : révélation des taches à l'aide d'un révélateur chimique, (acide acétique : l'eau : H₂SO₄) (20 : 4 :1 /V/V/V).

Le calcul du rapport frontal (RF) s'effectue toujours par la relation :

Rf = Distance parcourue par le composé / Distance parcourue par le front de solvant.

III.8.4. Les essais chromatographiques préliminaires sur CCM pour l'extrait chloroformique :

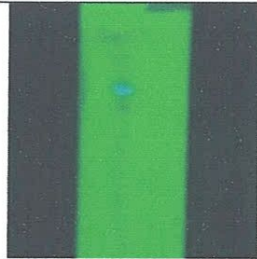
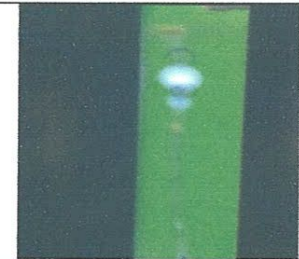
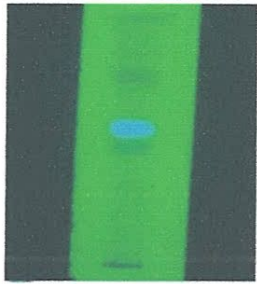
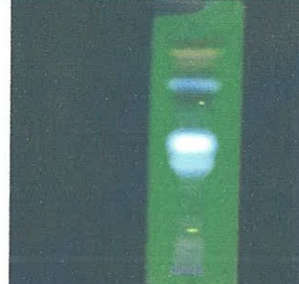
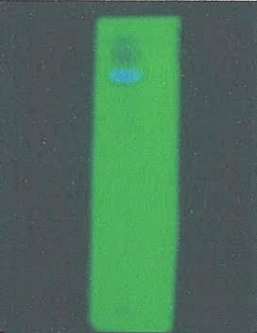
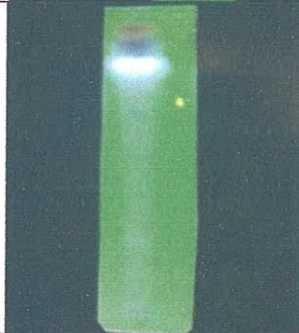
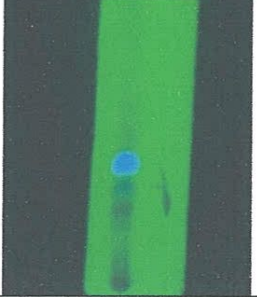
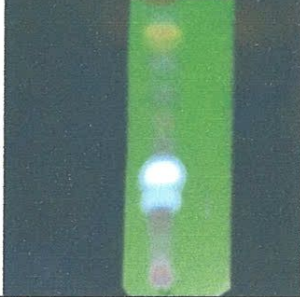
Systèmes	$\lambda = 254 \text{ nm}$	$\lambda = 312 \text{ nm}$
SI : $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH}$ (9 :1)		
SII : Hexane / AcOEt (1 :1)		
SIII : AcOEt / Acétone (2 :1)		
SV : $\text{CHCl}_3 / \text{AcOEt}$ (5 :1)		

Tableau III.2 : Essais chromatographiques sur CCM pour l'extrait chloroformique.

Parmi les systèmes qui nous donnent une meilleure séparation on trouve :

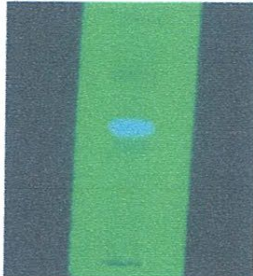
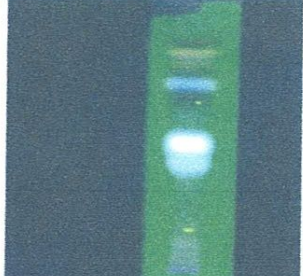
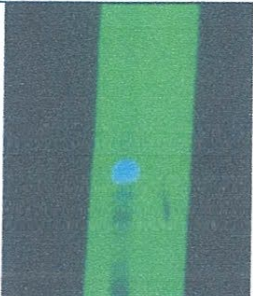
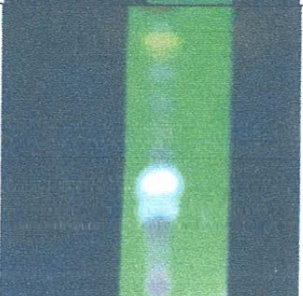
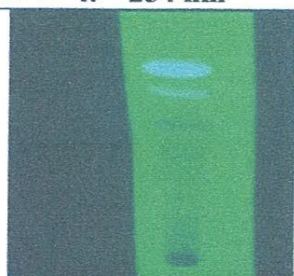
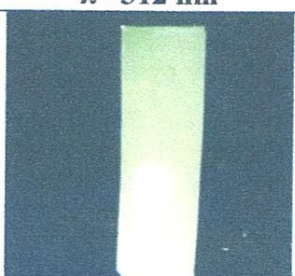
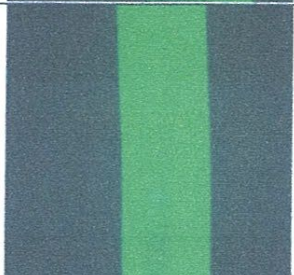
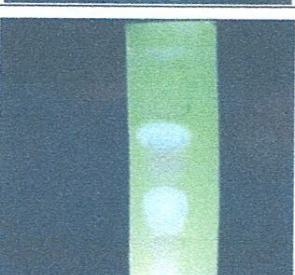
Systèmes	$\lambda = 254 \text{ nm}$	$\lambda = 312 \text{ nm}$
SII : Hexane / AcOEt (1 :1)		
SV : CHCl ₃ / AcOEt (5 :1)		

Tableau III.3 : les systèmes préférés pour l'extrait chloroformique.

III.8.5. Les essais chromatographiques préliminaires sur UCM Pour l'extrait Acétate d'éthyle :

Systèmes	$\lambda = 254 \text{ nm}$	$\lambda = 312 \text{ nm}$
SI : CHCl ₃ / MeOH (9 :1)		
SII : Hexane / AcOEt (1 :1)		

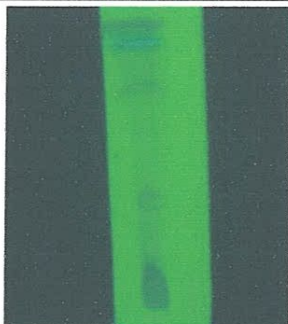

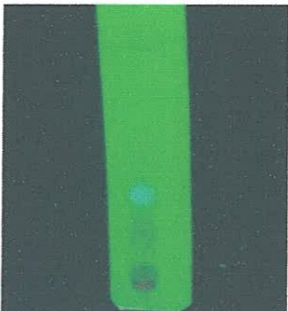
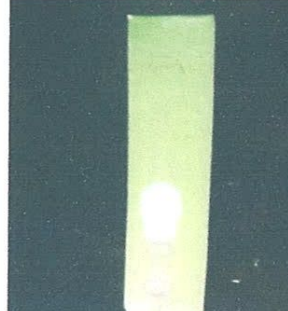
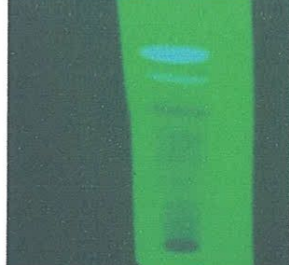
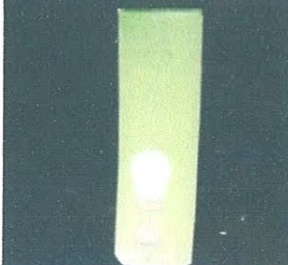
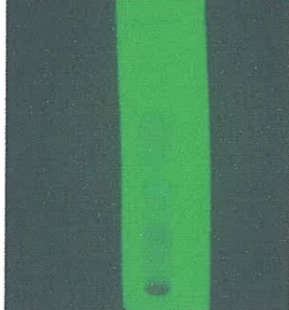
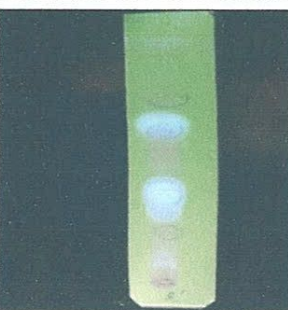
SIII : AcOEt / Acétone (2 :1)		
SV : CHCl ₃ / AcOEt (5 :1)		

Tableau III.4 : Essais chromatographiques sur CCM pour l'extrait acétate d'éthyle.

Parmi ces systèmes on a choisi :

Système	$\lambda = 254 \text{ nm}$	$\lambda = 312 \text{ nm}$
SI : CHCl ₃ / MeOH (9 :1)		
SII : Hexane / AcOEt (1 :1)		

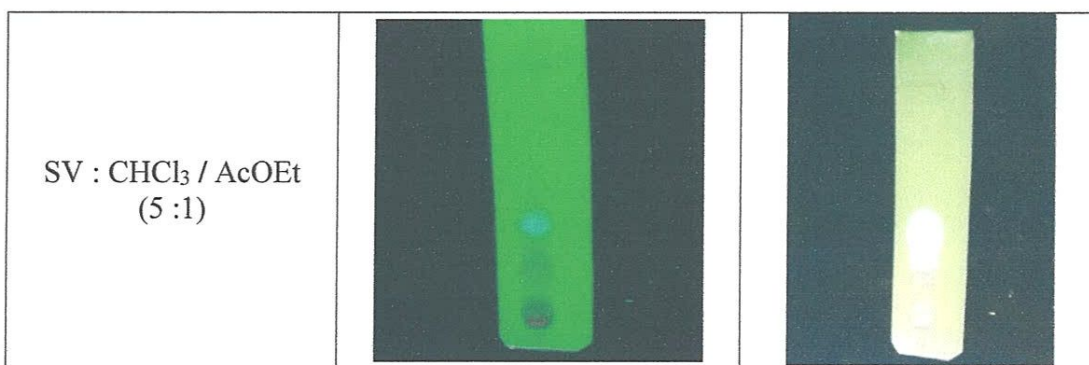


Tableau III.5 : les systèmes préférés pour l'extrait acétate d'éthyle.

III.8.6. Séparation chromatographique sur colonne

1.49 g de l'extrait acétate d'éthyle est dissout dans le minimum du méthanol, la solution obtenue est déposée sur une colonne de gel de silice (Type 60, 70-230 mesh, 63-200 µm, Fluka) préparée dans le chloroforme. L'élution a été débuté par le chloroforme pur puis la polarité sera augmentée par l'addition d'acétone puis le méthanol pur selon le tableau suivant.

Chloroforme (%)	100	95	85	75	65	55	40	0
Acétone (%)	0	5	15	25	35	45	60	100
Volume totale (ml)	100	100	100	100	100	100	100	100

Méthanol (%)	100
Chloroforme(%)	0
Acétone (%)	0
Volume totale (ml)	100

Tableau III.6: Résultats des fractions récoltées de la colonne de l'extrait Acétate d'éthyle *d'artemisia herba alba*.

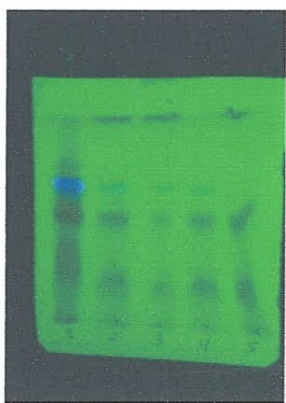


Des fractions de 50 ml sont recueillies et évaporées par le rota vapeur puis pesées.
Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau suivant :

Les fractions	Le poids des fractions
Fraction 1 (95%)	120 mg
Fraction 2 (95%)	30 mg
Fraction 3 (85%)	100 mg
Fraction 4 (85%)	0 mg
Fraction 5 (75%)	60 mg
Fraction 6 (75%)	100 mg
Fraction 7 (65%)	80 mg
Fraction 8 (65%)	100 mg
Fraction 9 (55%)	100 mg
Fraction 10 (55%)	70 mg
Fraction 11 (40%)	10 mg
Fraction 12 (40%)	50 mg
Fraction 13 (100%)	70 mg
Fraction 14 (100%)	130 mg
Fraction 15 (100%) MeOH	460 mg
Fraction 16 (100%) MeOH	130 mg

Tableau III.7: les masses des différentes fractions obtenues.

Afin de regrouper les fractions similaires, les différentes fractions sont soumises à la chromatographie sur couche mince (C.C.M) en utilisant le système SI : $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) puis examinées sous UV (254 et 312 nm) et révélées avec acide sulfurique ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$: 20/4/1) chauffées à 120°C, pendant quelques minutes.

Le tableau ci-dessous montre l'ensemble des chromatogrammes de ces fractions.

Les fractions	Lampe 254 nm	Lampe 312 nm	Après révélation
F (1+2+3+4 +5)			

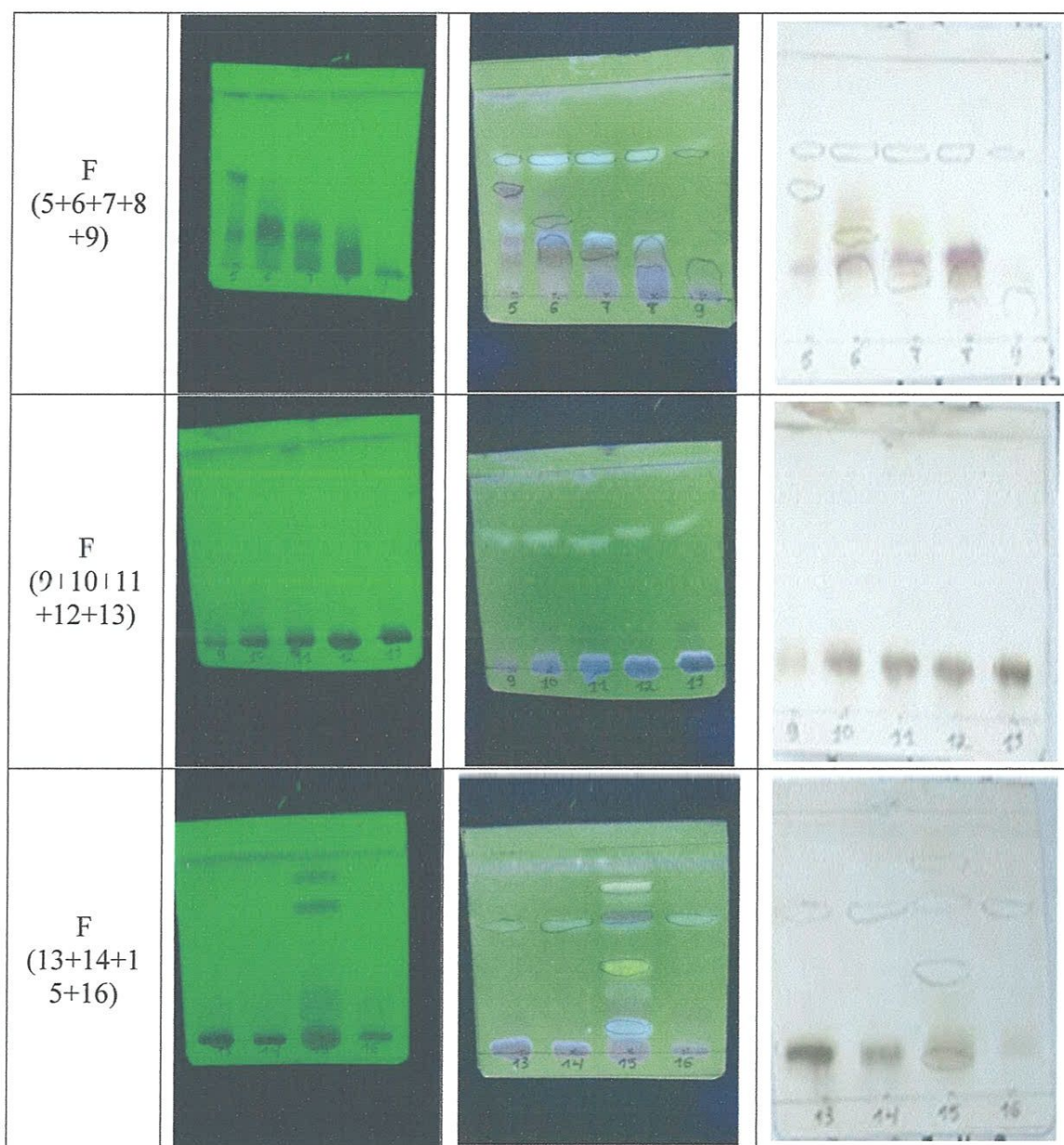


Tableau III.8 : Chromatogrammes des fractions de la colonne

Les pots de même composition sont rassemblés, donnant ainsi 8 fractions.

Les résultats de cette colonne sont rassemblés dans le tableau suivant :

Fraction	A	B	C	D	E	F	G	H
Pots de même composition	5-7	9-12	1	2-4	15	16	13	14
Masse de chaque fraction (mg)	150	50	120	40	460	130	70	130

Tableau III.9 : Regroupement des fractions issues de la colonne.

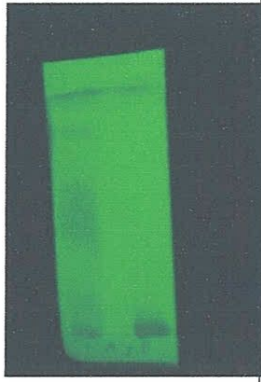
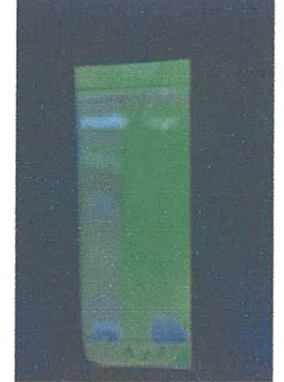
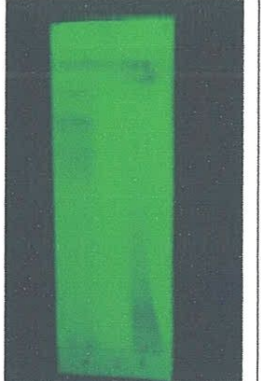
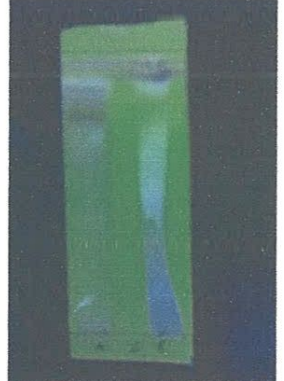
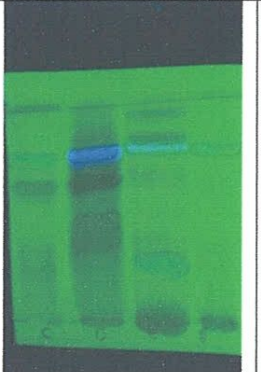
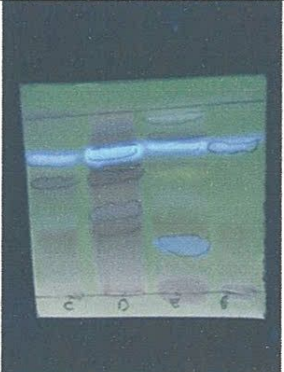
Les fractions	Lampe 254 nm	Lampe 312 nm
Fractions A et B Dichlorométhane/Acétone (4 :1)		
Fractions A et B Dichlorométhane/Acétone (3 :2)		
Fractions (C, D, E, F) Dichlorométhane/Acétone (4 :1)		

Tableau III.10 : Chromatogrammes des fractions de (A-H).

III.8.7. Séparation chromatographique sur couche mince

III.8.7.1. Etude de la fraction E

D'après l'apparition des taches des fractions de A jusqu'à H sous les deux lampes UV (254 et 312 nm), nous nous sommes intéressés par la fraction E à cause d'une part de sa richesse en produits phénoliques et d'autre part sa masse considérable et le profil des taches séparées.

Les tests préliminaires effectués sur cette fraction ont montré que le système :

S : CHCl_3 /Acétone (4 :1) est le bon système de séparation et montrant ainsi plusieurs taches.

III.8.7.1. a. Mode opératoire

On dépose le produit de cette fraction le long de deux plaques de verre (20x20) à l'aide d'un capillaire, on laisse ces deux plaques pour bien sécher avant de les plonger dans des cuves contenant un système de solvants (CHCl_3 /Acétone : 40 :10).

Après développement des chromatogrammes, les produits sont visualisés sous lumière UV à 254 et 312 nm et nous a permis de choisir quatre bandes en se basant sur leurs apparitions sous les deux lampes, la densité et la nature de couleur de chaque bande.

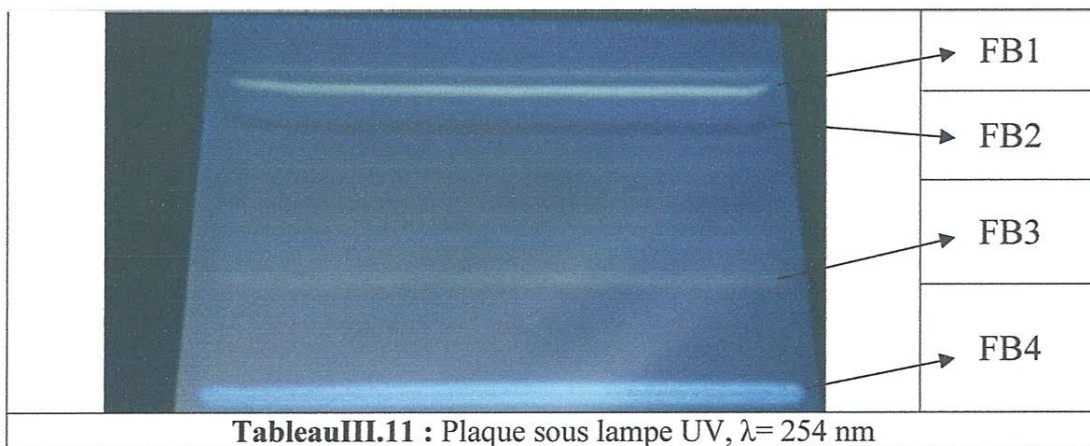
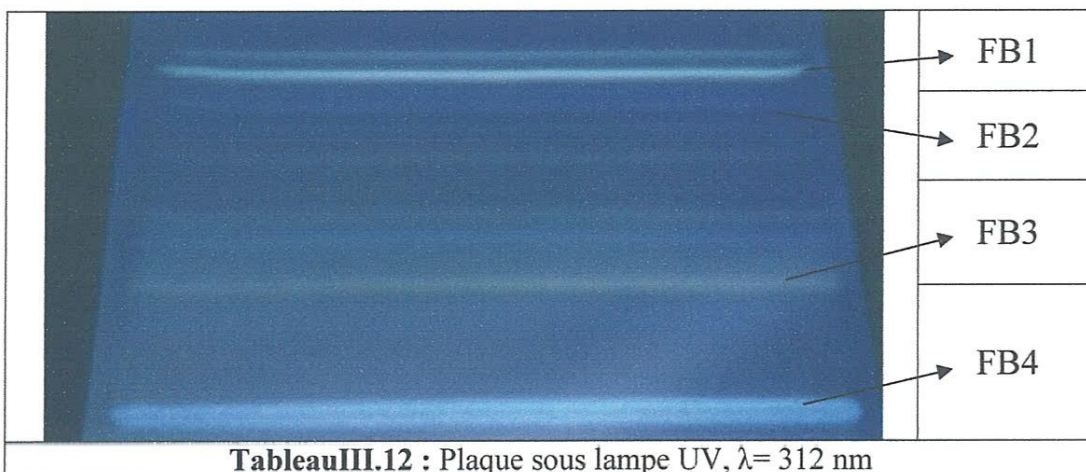


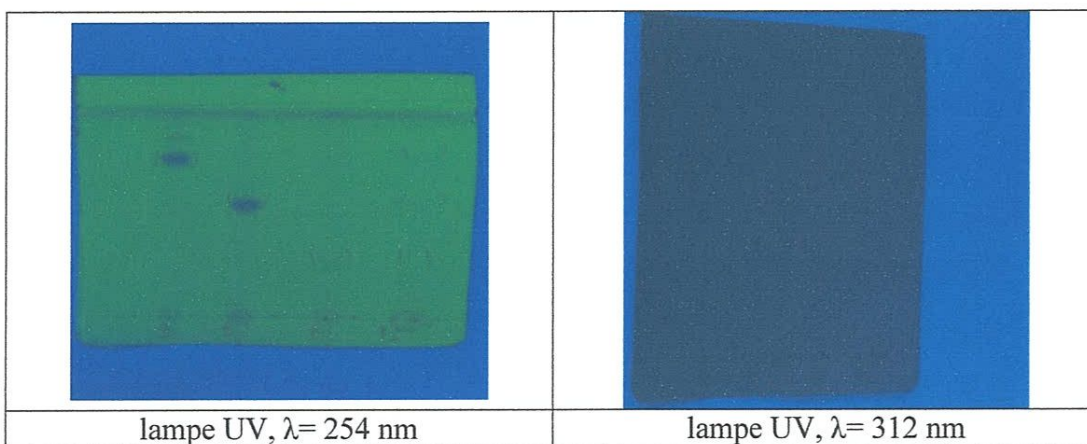
Tableau III.11 : Plaque sous lampe UV, $\lambda = 254$ nm



Ensuite les bandes sont tracées et grattées puis dissolvent dans le solvant d'éluion et le méthanol puis filtrer sous verre fritté.

Les produits (bandes) isolés **FB1**, **FB2**, **FB3** et **FB4** sont analysés par chromatographie sur couche mince (C.C.M) et visualises sous les deux lampes (254 et 312 nm).

Les chromatogrammes des produits isolés sont présentés dans le tableau suivant :



III.8.7.1. b. Calcul du Rf

Il est nécessaire de tester à nouveau ces produits isolés par chromatographie sur couche mince dans les deux systèmes suivants :

SI : Toluène/Mec/ MeOH (4 :3 :3) ; (Système purement organique).

SII : Eau/MeOH/Mec/Acétyletône (13 :3 :3 :1) ; (Système aqueux).

Afin de calculer le Rf et savoir la nature des produits isolés aglycones ou glycosides.

Vu la non disponibilité du solvant : méthyléthylcétone (Mec), nous avons le remplacé par l'Acétone.

Suite à la concentration de ces produits, nous n'avons pas pu tester que les deux produits FB2 et FB4.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus.

Rf	FB2	FB4
SI	0.87	0.87
SII	0.37	0.25

Tableau III.14: Les valeurs de Rf pour les composés isolés.

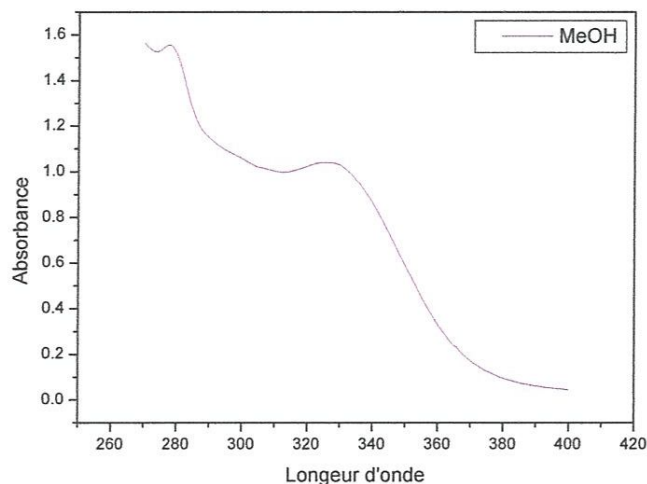
D'après les valeurs de Rf, il est apparu que ces deux composés son des glycosides.

IV. Détermination de la structure partielle des produits isolés

IV .1 . Le composé FB1

La fluorescence bleue sous la lumière de Wood est caractéristique d'un flavone, flavanone ou flavonol.

L'examen du spectre UV-visible de ce composé (**Spectre III.1**) enregistré dans le MeOH montre la présence de deux bandes d'absorptions caractéristiques des flavonoïdes, la première bande d'absorption se située à **325 nm**, la seconde bande d'absorption à **278 nm** indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type **flavone**.



Spectre III.1 : Spectre UV-visible du composé FB1

La structure partielle de ce produit est élucidée dans la figure suivante :

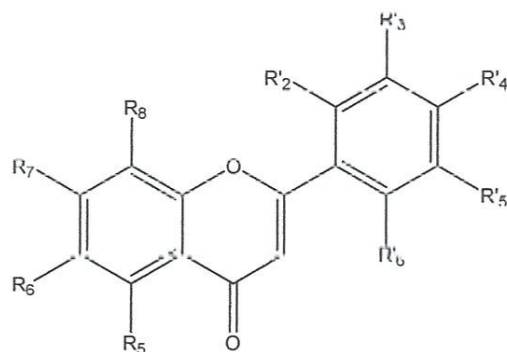


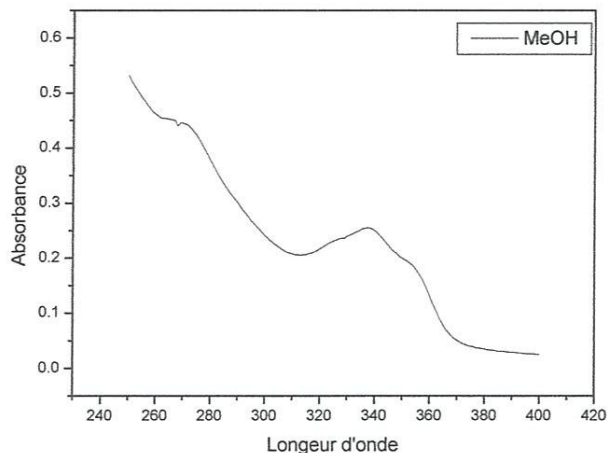
Figure III. 7: Structure partielle du composé FB1.

Avec R'_2 , R'_3 , R'_4 , R'_5 , R'_6 , R_5 , R_6 , R_7 et R_8 sont des substituants peut porter les radicaux suivants : H, R, O-CH₃, O-R'.

IV .2 . Le composé FB2

La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

L'analyse du spectre UV-visible du produit FB2 (**Spectre III.2**) enregistré dans le MeOH montre la présence de deux bandes d'absorptions, la première à **337 nm** et la deuxième à **270 nm** indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone ou un flavonol substitué en 3.



Spectre III.2 : Spectre UV-visible du composé FB2.

La structure partielle de ce produit est élucidée dans la figure suivante :

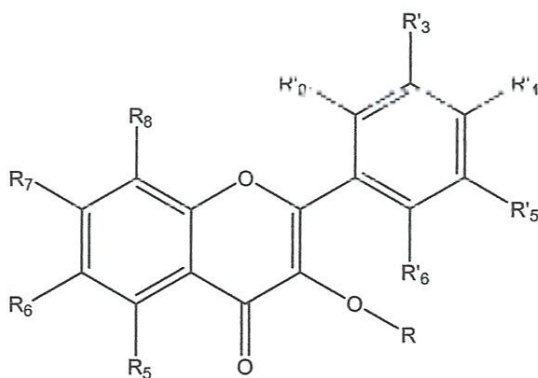


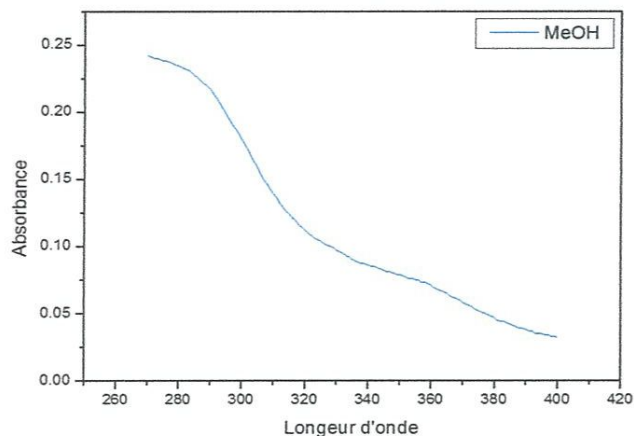
Figure III. 8: Structure partielle du composé FB2.

IV .3 . Le composé FB3

La fluorescence jaune sous la lumière de Wood est caractéristique d'un flavonol 3-OH.

L'examen du spectre de l'UV-visible de ce produit (**Spectre III.3**) montre qu'il n'absorbe pas vers les longueurs d'ondes élevées entre 300 et 400 nm.

Cette donnée confirme que la concentration de ce composé est trop faible.



Spectre III.3 : Spectre UV-visible du composé FB3.

La structure partielle de ce produit est élucidée dans la structure suivante :

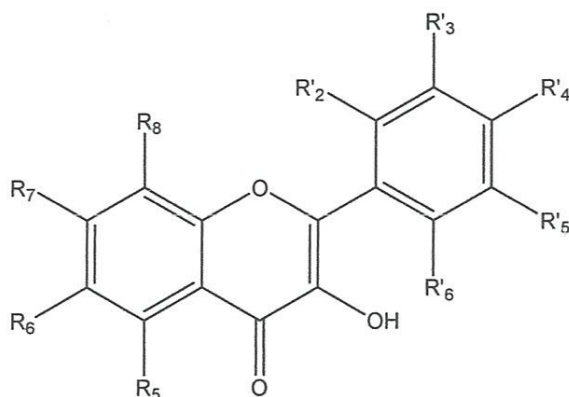
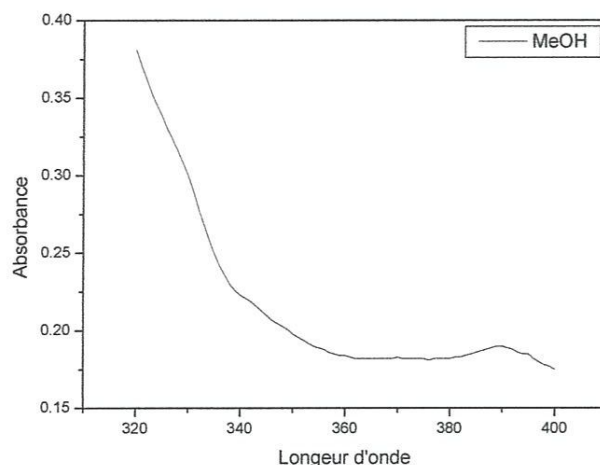


Figure III. 9: Structure partielle du composé FB3.

IV .4 . Le composé FB4 :

La fluorescence bleue sous lumière de Wood est caractéristique d'un flavone, flavanone ou flavonol.

Le maximum d'absorption de la bande I à 389 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol (**Spectre III.4**) et la faible intensité de cette bande orientent vers un flavonoïde de type Aurone, ce qui n'est pas d'accord avec la fluorescence bleue sous la lumière de Wood.



Spectre III.4 : Spectre UV-visible du composé FB4.

La structure partielle de ce produit est élucidée dans la structure suivante :

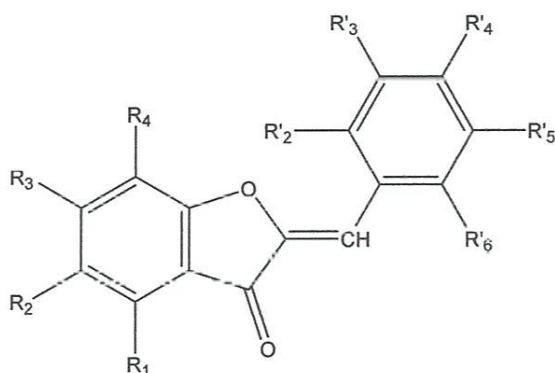


Figure III. 10: Structure partielle du composé FB3.

Il est important de signaler que la détermination structurale finale de ces produits restent toujours à confirmer par l'utilisation de différentes techniques physicochimiques et spectroscopiques incluant la spectroscopie ultraviolette (UV), la spectrométrie de masse (SM) et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire mono et bidimensionnelle (RMN¹H, RMN¹³C, COSY, HSQC....).

Références bibliographiques

- [1] Qureshi, S., Ageel, A.M., Al-Yahya, M.A., Tariq, M., Mossa, J.S. And Shah, A.H. (1990). Preliminary toxicity studies on ethanol extracts of the aerial parts of *Artemisia abyssinica* and *A. inculta* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 28: 157-162.
- [2] Benjilali, B. et Richard, H. (1980). Etude de quelques peuplements d'armoise Blanche du Maroc (*Artemisia herba Alba*). *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 62: 69-74.
- [3] Al-Khazraji, S.M., Al-Shamaony, L.A., Twaij, H.A.A. (1993). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba Alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 40: 163-166.
- [4] Seddiek, S.A., Ali, M.M., Khater, H.F. and El-Shorbagy, M.M. (2011). Anthelmintic activity of the White wormwood, *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poults. *Journal of Medicinal Plants Research* 5 (16): 3946-3957.
- [5] Marco, J., and Barbera, O. (1990). Natural products from the genus *Artemisia* In: X Atta-ur-Rahman., editor. *Studies in Natural products.* /A. Amsterdam, Elsevier.
- [6] Anonyme. « *Artemisia* plante, un article de Wikipedia.org » [http://fr.Wikipedia.org/Wiki/Artemisia \(plante\)](http://fr.Wikipedia.org/Wiki/Artemisia_(plante)).
- [7] Pottier, G., *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes-dicotylédones-gamopétales, (981) p 1012.
- [8] Gharbi, Z.S and R. L. (2008). *Artemisia herba Alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa: 49-49.
- [9] Ferchichi, A., Chaieb, C., Ferjani, E., (2004), caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaine population d'*Artemisia herba-alba* du sud tunisien. *CIHEMA*. vol. (62) : 211-216p.
- [10] Kraft, K., Hobbs, C. (2004). *Pocket Guide to Herbal Medicine*. Thieme, Stuttgart, New York. p16.
- [11] Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M et yousfi, M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydant des extraits du *rhanterium adpressium*. *Annales des sciences et technologie*. Vol6. N° 1.
- [12] Afnor, (1988) : *Corps gras, grains, oléagineuses, produits dérivés*. 4ème édition. ISDN.

Conclusion Générale

• Conclusion Générale

L'objectif principal de notre travail est basé sur la macération, séparation, purification et détermination structurale des métabolites secondaires issues du genre *Artemisia*.

L'étude chimique des plantes médicinales algériennes et notamment l'espèce *Artemisia herba alba* est due essentiellement la richesse ce genre des plantes en substances naturelles notamment les flavonoïdes et les lactones sesquiterpéniques reconnues par leurs activités biologiques diverses telles que l'activité antioxydante et cytotoxique.

Après extraction hydro alcoolique des partie aérienne de l'espèce *Artemisia herba alba* suivi par affrontements successifs au chloroforme, acétate d'éthyle, les extraits obtenus sont soumis à la batterie chromatographique notamment la chromatographie sur colonne et couche mince de gel de silice. L'étude phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle a permis d'isoler et identifier quatre produits à l'état pur et cela grâce à la fluorescence sous lumière UV et la technique physicochimique spectroscopie ultraviolet (UV) mais la détermination structurale de ces produits n'ont pas encore élucidés vue le manque des méthodes physicochimiques concernant l'établissement structurale de ces composés chimiques.

Ce travail confirme bien, une autrefois la richesse de ce genre des plantes en composés phénoliques telles que les flavonoïdes.