

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT : SNV

N°



DOMAINE : SNV

FILIERE : BIOTECHNOLOGIES

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par: ATTAR AHLAM et BENLARBI IMANE

Intitulé

Essai de caractérisation phytochimique des extraits bruts de quelques plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en Algérie

Soutenu le 10/09/2020 devant le jury composé de:

Dr. YAHIAOUI Merzouk

MCB

Université de M'sila

Président

Dr. BENDIF Hamdi

MCA

Université de M'sila

Rapporteur

Mme. KHALFA Hanane

MAA

Université de M'sila

Examineur

Année universitaire : 2019 /2020

Dédicaces

A L'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, je dédie ce modeste travail :

A mes chaire parents de m'avoir donné l'aide et la confiance et pour leur sacrifices et leur encouragements durant toute mon étude.

A mes frères

A mes sœurs

A mes très chères amies *Imane , Sarra et Warda*

A tous mes collègues de la promotion de master 2 biotechnologie végétale 2019/2020

A tous les personnes qui nous ont soutenus et encouragés tout au long de cette année.

AHLAM

Dédicaces

À terme de ce travail :

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et le courage de finir ce modeste travail, qui est le fruit de mes années de quête et de savoir.

Je dédie ce modeste travail :

À mes parents qui m'ont soutenu le long de mon parcours, pour leur confiance ,leur aide morale, leur amour, leurs encouragements, leurs sacrifices, ainsi que leurs précieux conseils.

À mes chères sœurs (Fatima , Asma , Abla et warda) et a mon cher frère Walid qui m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficile

À mes nièces (HAMZA ,DJAMAL , RIDA , BARAA)

À mes amies proches : mon binôme Attar Ahlam , Djadja Sarra , Ben amara souad , Hadji Maroua , Imane , Amina , Khalissa , karima , Khadija , khawla, Rahma , Sabrina , Bouchra , Hind

À toute la promotion de master 2 biotechnologie végétale 2019-2020

J.M.A.N.E

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions en premier notre encadreur **Dr. BENDIF Hamdi** maitres de conférences classe A, au département des SNV, faculté des Sciences de l'Université de Mohamed Boudiaf de M'SILA, pour nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail.

Nous vous remercions pour ses conseils et ses orientations scientifiques tout au long de ce travail, et son aide précieuse lors de la réalisation de la partie pratique ;

Nous remercions **Dr. YAHIAOUI Merzouk**, maitre de conférences classe B, au département des SNV, faculté des Sciences de l'Université de Mohamed Boudiaf de M'SILA, de nous 'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'il trouve ici l'expression de notre grande considération ;

Nous tiens à exprimer ma très grande considération et mes vivons reconnaissances à **Mr. KHALFA Hanane**, maitre assistant classe A, au département des SNV, faculté des Sciences de l'Université de Mohamed Boudiaf de M'SILA, de nous avoir accepté de faire partie du jury et examiner ce travail ;

Nous tiens à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier **Mme. ASMA HAMZA**, ingénieure de laboratoire au département des SNV, faculté des Sciences de l'Université de Mohamed Boudiaf de M'SILA que nous tiens à le remercier pour son aide, son soutien et ses encouragement.

A tous mes professeurs du primaire à l'université, un grand merci à tous.

Imane et Ahlem

SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciements	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
CHAPITRE I. Généralités	03
1.Plantes médicinales	03
1. 1. Historique des plantes médicinales	03
1. 2. Définition d'une plante médicinale	03
1. 3. Intérêt de l'étude des plantes médicinales	03
1. 4. Domaines d'applications des plantes médicinales	04
2. Présentation des plantes étudiées (Astéracées)	05
1. Généralités sur la famille des Astéracées (composées)	05
2. Caractéristiques générales	05
2.1. La plante <i>Centaurea eriophora</i>	05
2.1.1. Etymologie	05
2.1 .2.Systématique	06
2.1 .3.Description de genre <i>centaurea</i>	06
2. 1. 4.Répartition géographique	06
2. 1 .5.Description botanique de <i>Centaurea eriophora</i>	07
2. 1. 6.Aspect phytochimique	07
2. 1 .7.Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques	08
2.2. La plante <i>Chrysanthemum multicaule</i>	08
2. 2. 1. Etymologie	08
2. 2. 2. Systématique	08
2. 2. 3. Description de genre <i>Chrysanthemum</i>	08
2. 2. 4. Répartition géographique	09
2.2. 5. Description botanique de <i>Chrysanthemum multicaule</i>	09
2.2. 6. Aspect phytochimique de <i>Chrysanthemum multicaule</i>	10
2.2. 7. Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques	10
2. 3. La plante <i>Aster linosyris</i> (L.) Bernh	11
2. 3.1. Systématique	11
2.3.2. Description botanique	11
3. Grands groupes chimiques des espèces des Astéracées	13
3.1. Substances naturelles viennent du métabolisme secondaire	13
3.2. Classification des métabolites secondaires	13
3 . 2 .1. Composés phénoliques	13
3 . 2. 2. Les alcaloïdes	15
3 . 2. 3. Les terpenoïdes	16
4. Méthodes d'extraction des plantes médicinales	17
	18

Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1 .Matériel	18
1.1. Verreries	18
1. 2. Produits chimiques	18
1. 3. Appareils utilisés	18
1 .4 . Matériel végétale : les plantes	19
2. Méthodes	19
2 .1. Matériel végétal	19
2. 1.1. Critères de sélection des plantes	19
2. 1.2. Récolte des plantes	20
2. 1.3. Préparation des échantillons	21
2. 2. Préparation des extraits bruts par macération	21
2. 3. Détermination du rendement des extractions	22
2. 4. Tests généraux de caractérisation (screening chimique)	22
2. 5. Analyse quantitative des composés phénoliques	27
2. 5.1. Dosage des polyphénols totaux	27
2. 5.2. Dosage des flavonoïdes	28
2. 5.3. Dosage des tannins	29
Chapitre III : Résultats et Discussion	
1. Criblage phytochimique	30
2. Rendement et résultats d'extraction	33
3. Analyse Quantitative des composés phénoliques	34
3. 1. Dosage des polyphénols totaux	34
3. 2. Dosage des flavonoïdes	35
3. 3 . Dosage des tanins	36
Conclusion générale	40
Références bibliographiques	
Résumé	

Liste des abréviations

%	: pourcentage.
°C	: Degré Celsius.
µg	: microgramme.
µL	: microlitre.
µm	: micromètre.
A	: <i>Aster</i> .
Aha	: Artemisia herba alba.
C	: <i>Centaurea</i> .
CH	: <i>Chrysanthemum</i> .
Cm	: Centimètre.
EAG	: Equivalents acide gallique.
EAT	: Equivalents acide tannique .
EC	: Equivalents de catéchine.
EQ	: Equivalent de la quercétine
ES	: Extrait sec.
EtOH	: Ethanol.
FCR	: Le réactif de Folin Ciocalteu.
Fig	: Figure.
g	: gramme.
h	: Heure.
L	: litre .
Mext	: masse de l'extrait en g.
mg	: Milligramme.
Min	: Minute.
ml	: Millilitre.
mm	: millimètre.
mmv	: masse de la matière végétale en g.
Mol	: Mole.
N	: Normalité.
Nm	: nanomètre.
P	: poudre.
PP	: polyphénols .
R	: rendement.
SM	: métabolites secondaires.
Tab	: Tableau.
UV	: Ultra Violet.

Liste des tableaux

Tableau 1 : systématique de la plante <i>Centaurea eriophora</i>	06
Tableau 2 : systématique de la plante <i>Chrysanthemum multicaule</i>	08
Tableau 3 : systématique de la plante <i>Aster linosyris</i> (L.) Bernh	11
Tableau 4 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des trois plantes médicinales étudiées (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> (L.) Bernh et <i>Ch. multicaule</i>)	30
Tableau 5 : Rendement d'extraction (%) des trois plantes étudiées (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> et <i>Ch. multicaule</i>) par macération avec EtOH	33
Tableau 6 : Teneur des polyphénols totaux d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiée (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> et <i>Ch. multicaule</i>)	34
Tableau 7 : Teneur des flavonoïdes d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiée (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> et <i>Ch. multicaule</i>)	36
Tableau 8 : Teneur des tanins d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiée (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> et <i>Ch. multicaule</i>)	37
Tableau 9 : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de <i>C. choulettiana</i>	38
Tableau 10 : valeurs des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits du <i>C. segetum</i>	39

Liste des figures

Figure 1 : photo de la plante <i>Centaurea eriophora</i>	07
Figure 2 : photo de l'espèce <i>Chrysanthemum multicaule</i>	10
Figure 3 : Photo de l'espèce <i>Aster linosyris</i> (L.) Bernh	12
Figure 4 : Structure de polyphénols	14
Figure 5 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe	14
Figure 6 : Structure de base de l'isoprène	16
Figure 7 : Localisation géographique des sites de récolte des plantes étudiées	20
Figure 8 : filtration de solution 'poudre de plante +Ethanol	21
Figure 9 : Elimination de solvant par évaporation rotatif 'BÜCHI'	22
Figure10 : L'extrait brut des trois plantes médicinale	22
Figure11 : Protocole d'extraction des extraits bruts	23
Figure12 : Tests phytochimiques	25
Figure13 : Tests phytochimiques	26
Figure14 : Structure acide gallique	27
Figure15 : Structure de la quercétine	28
Figure16 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des trois plantes médicinales étudiées (<i>C. eriophora</i> , <i>A. linosyris</i> (L.) Bernh et <i>CH. multicaule</i>)	31
Figure17 : Rendement des extractions à EtOH	33
Figure18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	34
Figure19 : Teneurs des polyphénols totaux pour les trois plantes médicinales étudiée	35
Figure20 : Courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes	35
Figure21 : Teneurs des flavonoïdes pour les trois plantes médicinales étudiée	36
Figure22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins	37
Figure23 : Teneurs des Tanins pour les trois plantes médicinales étudiée	38

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est employé à exploiter la nature pour ses besoins médicaux et alimentaires, et au cours du développement des anciennes civilisations l'exploitation des plantes à usage médicinale (**Rhattas et al, 2015**). Les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans l'objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**), sans savoir à quoi étaient dues leur action bénéfiques, il était difficile de définir les molécules responsables de l'action pharmacologique.

On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle, de plus, sur les 300 000 espèces végétales recensées, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leur activités biologique (**Morel, 2011**).

Les substances naturelles végétales sont recherchées en raison de leurs activités biologiques nombreuses qui promeuvent des effets positifs sur la santé. ces activités comprennent des activités antivirales, antibactériennes, antifongiques, insecticides, antipaludiques, antioxydants et anticancéreuses utilisées dans les secteurs industriels pharmaceutiques et de l'agriculture.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique Sub-saharienne. la flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques (**Quezel et Santa, 1963**), reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique.

Les espèces que nous avons étudiées sont, *Centaurea eidophore*, *Chrysanthemum multicaule* et *Aster linosyris (L.) Bernh*, la famille astéracées.

C'est dans cette optique que se situe notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

*valoriser les composées de plantes étudiées par l'extraction des extraits polaires à partir des plantes.

* étudier la photochimie.

* caractérisation quantitative de la composition chimique des extraits polaires.

* évaluation des activités biologique des extraits des plantes choisies.

Ce travail sera présenté comme suit :

Dans **le premier chapitre**, nous présentons une analyse bibliographique décrivant les notions essentielles liée au contexte global de notre travail (plantes médicinales, monographie des plantes étudiées, métabolisme secondaires).

Dans **le second chapitre** nous décrivons le matériel et la méthode utilisée dans ce travail notamment :

- * L'extraction des polyphenols.
- * Screening chimique.
- * Analyse quantitative des composés phénoliques.

Dans **le troisième chapitre**, nous analyserons les résultats obtenus puis nous discutons leur signification par rapport aux données de la littérature.

Au terme de ce mémoire, nous présenterons **une conclusion générale** dans la quelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus.

Enfin, nous exposant **les références bibliographiques**.

CHAPITRE I. Généralités

1. Plantes médicinales

1. 1. Historique des plantes médicinales

Depuis l'antiquité, l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant, les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes **(Damintoti et al., 2005)**.

Vers les années 1990 les grandes compagnies pharmaceutiques se sont détournées des produits naturels pour s'intéresser à la chimie combinatoire, croyant que dans quelques années le nombre de médicament serait plus élevé, cependant ce n'était pas le cas malgré le grand budget investis pour la recherche. Par conséquent le nombre de médicaments a chuté d'une façon remarquable sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées et testées **(Bérubé, 2006)**.

1. 2. Définition d'une plante médicinale

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée européenne comme une «drogue végétale dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais **(Sofowora, 2010)**.

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

1. 3. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus **(Iserin, 2001)**.

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus

biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Bruneton, 2009**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**).

1. 4. Domaines d'applications des plantes médicinales

Il y a un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable.

□ Utilisation en médecine en tant que médicament pour l'homme; exemple: Réduisaient le risque de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les accidents vasculaires cérébraux et les coronaropathies.

□ Une action sur le système nerveux, la circulation sanguine, une action antibiotique,...etc.

□ En alimentation : Assaisonnements, des boissons, des colorants et des composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques.

□ En cosmétique : Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène.

Des suppléments diététiques (**Barka et Ben Attallah ,2010**).

2. Présentation des plantes étudiées (Astéracées)

1. Généralités sur la famille des Astéracées (composées)

La famille des composées constitue la plus vaste subdivision du règne végétal. Cette famille comprend en effet 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. Cette immensité systématique est disponible par sa répartition à travers tous les continents et se caractérise par son pouvoir d'adaptation aux milieux climatiques et pédologiques les plus divers (**Bremer, 1994**).

En Algérie, les Astéracées comptent environ 109 genres et plus de 408 espèces (**Quezel et Santa, 1963**). Ces derniers désignent des plantes herbacées. Buissons ou arbres ; matières de réserve constituées d'oligosaccharides, entre autre l'inuline, canaux résinifères souvent présents, de même que des laticifères, mais l'un des deux manquant parfois, présence générale de polyacétylènes et des huiles essentielles terpéniques. généralement à lactones sesquiterpènes (mais sans composés iridoïde) (**Judd et al., 2002**).

2. Caractéristiques générales

Les caractéristiques essentielles de la famille Astéracée sont :

Le mode d'inflorescence : les fleurs sont groupées en capitules ou calathides qui pour le profane, simulent à merveille une simple fleur (**Quezel et Santa, 1963**). Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourée d'une structure formée par des bractées florales .cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre (**Anonyme**).

2.1. La plante *Centaurea eriophora*

2.1.1. Etymologie

L'étymologie de l'appellation du genre « *Centaurea* » dérive du nom grec «Centaureios » herbe du Centaure Chiron, auquel on attribuait la découverte des propriétés de ces plantes (**Bouchama, 2003**) .

2. 1 .2. Systématique

Tableau 1 : systématique de la plante *Centaurea eriophora*.

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones vraies
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Astéraceae
Sous-famille	Tubiflores
Tribu	Cynarées
Genre	<i>Centaurea</i>
Espèce	<i>Centaurea eriophora</i>

2 .1 .3 . Description de genre *centaurea*

Le genre *Centaurea* comprend entre 400 et 700 espèces (**Dittrich, 1977 ; Bremer, 1994 ; Wagenitz et Hellwig, 1996**), la délimitation du genre est parmi les problèmes taxonomiques les plus compliqués de la famille des Astéracées. Les *centaurea* sont des plantes annuelles (rarement biennuelles) ou herbacées, comme pour toutes les espèces des Astéracées; leurs fleurs sont disposées en capitule constitué de fleurs centrales tubulaires hermaphrodites et plus ou moins irrégulières et de fleurs périphériques stériles, leurs couleurs varient le plus souvent entre le rose, le pourpre et le violet.

L'involucre peut être ovoïde ou globuleux à bractées inégales imbriquées sur plusieurs rangs par fois surmontées par un appendice. Le réceptacle est garni de soie abondante. Les anthères sont soudées à la base, le style est à branches courtes, si les aigrettes sont présentes elles peuvent être persistantes ou caduques (**Quezel et Santa, 1963**).

2. 1. 4. Répartition géographique

Les *Centaurea* sont des plantes à résine ou à essence sans latex, ils se multiplient par touffes ou par semis, généralement au printemps. Elles se rencontrent sur différents types d'habitats (**Hellwing, 2004**) tel que, les déserts et les semi-déserts, les pentes raides, les hautes montagnes, les terres arables, les zones à inondations périodiques, les zones sèches et partiellement exposées au soleil.

2. 1 .5 . Description botanique de *Centaurea eriophora*

Centaurea eriophora appartient à la famille des Astéracées. Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Asteraceae (anciennement appelées Composées) sont une famille appartenant aux Dicotylédones (**Quezel et Santa, 1963**). Les Astéracées sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille. Les centaurees sont des plantes herbacées. Plante annuelle, canescente et dichotome. Feuilles linéaires-oblongues. Capitules globuleux, gros, terminaux ou subsessiles dans les dichotomies. Fleurs jaunes. Bractées à appendice constitué par une épine dorée, vulnérante, de 1 cm de long env. et comportant 5-8 spinules latérales disposées à angle droit. Akènes de 3-4 mm, à aigrette noire et plus longue qu'eux (**Quezel et Santa, 1963**). Capitules non noyés dans un tomentum aranéeux (ils peuvent toute-fois être aranéeux). Bractées moyennes de l'involucre de petite taille (1-1,2 cm de long appendice compris). Epine médiane des bractées faible et très peu ou non vulnérante. Bractées moyennes de l'involucre de grande taille (2,5 cm au moins et jusqu'à 5 cm de long appendice compris). Epine médiane forte et vulnérante (**figure 1**).



Figure1 : photo de la plante *Centaurea eriophora*.

2. 1. 6. Aspect phytochimique

Les espèces appartenant au genre *Centaurea* sont très riches en métabolites secondaires. Ces métabolites constituent de bons protecteurs contre les herbivores (**Olson et Kelsey, 1997 ; Susanna et Garcia-Jacas, 2009**) et ont une bonne activité antimicrobienne (**Karioti ,2001 ; Ugur et al., 2009**). Ces métabolites sont essentiellement composés de substances lipophiliques, spécialement les lactones sesquiterpènes (**Tarasov et al., 1975 ;**

Koukoulista et al., 2005 ; Karamenderes et al., 2007). On trouve aussi les flavonoïdes (**Zapesochnaya et al.,1978, Nacer et al., 2006**) et les phénols (**Bubenchikov et al., 1992**).

2.1.7. Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques

Plusieurs espèces appartenant au genre *Centaurea* ont été largement utilisées en médecine traditionnelle, pour guérir différentes maladies telles que hémorroïdes, abcès et rhume commun (**Baytop ,1999 ; Kargioglu et al. , 2008 ; Sezik et al. , 2001**). Elles ont aussi été utilisées comme anti-diarrhéiques, antipyrétiques, dimétiques, cholérétiques, anti-inflammatoires, et antibactériens (**Arif et al., 2004 ; Kargioglu et al., 2010 ; Gokhan et al.,2011**). Plusieurs espèces de *Centaurea* ont été étudiées par rapport à leurs propriétés curatives et leurs compositions chimiques.

2.2. La plante *Chrysanthemum multicaule*

2.2.1. Etymologie

Le chrysanthème est une plante dite « de jours courts », c'est-à-dire qu'elle ne peut fleurir que si la nuit est suffisamment longue.

2.2.2. Systématique

Tableau 2 : systématique de la plante *Chrysanthemum multicaule*.

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Astéraceae
Sous-famille	Tubiflore
Tribu	Anthémideae
Genre	<i>Chrysanthemum</i>
Espèce	<i>Chrysanthemum multicaule</i>

2.2.3. Description de genre *Chrysanthemum*

Le genre *Chrysanthemum* appartient à la famille des composées (Astéracées), sous famille tubiflore et tribu anthémideae (**Quezel et Santa, 1963**). Ce genre compte plus de 300 espèces dans le monde (**Kumar et al., 2005**). En Algérie, elle compte environ 20 espèces (**Quezel et Santa, 1963**). Les chrysanthèmes sont des plantes ornementales très appréciées

pour leur belle floraison automnale. *Chrysanthemum* est un genre de plante annuelles ou vivaces appartenant à la famille des *Asteraceae*, dont certaines espèces sont très cultivées comme plantes d'ornement. Ce genre, avec d'autres proches de lui, a subi plusieurs révisions taxonomiques. Les *Chrysanthemum* sont des arbrisseaux ou des plantes herbacées. Les feuilles sont alternes, à marge dentée en scie ou parfois entière. Les capitules hétérogames multiflores radiés ou discoïdes. Involucre hémisphérique ou déprimé. Bractées sur de nombreux rangs, appliquées-imbriquées; les externes plus courtes. Réceptacle plan ou bombé (très rarement conique), nu. Fleurs marginales femelles et fertiles; celles du disque hermaphrodites et fertiles. Anthères entières et obtuses à la base. Akènes glanduleux ou cylindriques, à 5-10, les marginaux souvent à 3 angles (Quezel et Santa, 1963).

2. 2. 4. Répartition géographique

Le genre *chrysanthème* est largement répandu dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et cosmopolites, elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variétés de couleurs. L'origine géographique du genre *chrysanthemum* est imputée à l'Europe et l'Asie mais celui-ci est également largement distribué en Afrique (Kumar et al., 2005) .

En Algérie, on peut rencontrer principalement les espèces suivantes (Quezel et Santa, 1963) : *C. clausonis* (Pomel) Batt., *C. coronarium* L., *C. deserticum* (Murb.) Batt. et Trab., *C. fontanesii* (Boiss. et Reut.), *C. fuscatum* Desf., *C. grandiflorum* (L.) Batt., *C. gyanum*, *C. macrocarpum* Coss. et Kral., *C. macrotum* (D. R.) Ball., *C. maesii*, *C. multicaulis*, *C. myconis* L., *C. segetum* L., *C. trifurcatum* (Desf.) Batt. et Trab., *C. viscido-hirtum*.

2.2.5. Description botanique de *Chrysanthemum multicaule*

Les *Chrysanthemum multicaule* sont des plantes herbacées, annuelles ou vivace , Bractées de l'involucre non bordées de noir , Plante de 10-30 cm, multicaule et très rameuse. Akènes du rayon à couronne très marquée, aussi longue ou plus longue qu'eux; ceux du disque dépourvus de couronne ou celle-ci très réduite. Fleurons périphériques épaissis à la base et débordant sur l'akène -Sables CC. 01-2-3, HI: Tiaret, etc... (Quezel et Santa, 1963) (figure 2) .



Figure2 : photo de l'espèce *Chrysanthemum multicaule*.

2.2.6. Aspect phytochimique de *Chrysanthemum multicaule*

Le genre *Chrysanthemum* est caractérisé par une diversité structurale en métabolites secondaires riche en composés de types : terpéniques, flavonoïdes, stéroïdes, coumarines, pyréthrine, purines, lipides et en composés aliphatiques (Kumar et al., 2005). Pour notre part, nous allons considérer les métabolites secondaires les plus distribués dans les différentes espèces du genre *chrysanthemum* : les sesquiterpènes, les flavonoïdes, les stéroïdes et les huiles essentielles.

2.2.7. Usage traditionnel et propriétés pharmacologiques

Plusieurs espèces du genre *Chrysanthemum* sont largement utilisées en médecine traditionnelle: à titre d'exemple : L'espèce *C. indicum* est utilisée pour traiter plusieurs maladies infectieuses et les troubles d'hypertension en médecine Coréenne et Chinoise, elle est utilisée aussi en tant que remède antibactérien et anti-inflammatoire (Cheng et al., 2005).

Dans la médecine traditionnelle Tunisienne (Bellakhdar et al., 1991), l'infusion des feuilles de *C. trifurcatum* est utilisée pour soigner les problèmes de transit intestinal, la constipation et comme régulatrice des désordres du cycle menstruel. *C. morifolium* Ramat est utilisée en médecine Chinoise comme complément alimentaire ou tisane. Elle est considérée comme un aliment de santé par de nombreux consommateurs. Afin d'établir une assise scientifique à cette pratique, l'investigation des activités antioxydante (Kim et Lee ,2005), antitumorale (Miyazawa et Hisama, 2003) et protection cardiovasculaire (Jiang et al., 2004) a été mise en œuvre. Au Maroc, *C. Segetumest* utilisée pour traiter des maladies

hépatiques et les troubles de la vésicule biliaire (**Bellakhdar et al., 1991**). Dans la médecine traditionnelle Coréenne, l'infusion des fleurs et des feuilles de *C. boreale* est utilisée contre les maladies oculaires et les vertiges (**Choi ,1992**). Par contre l'infusion des fleurs de *C. zawadskiiest* préconisée pour combattre les diverses formes des bronchites, les infections pulmonaires et les troubles gastro-intestinaux (**Kwon et al., 2006**).

2. 3. La plante *Aster linosyris* (L.) Bernh

2. 3.1. Systématique

Tableau3 : systématique de la plante *Aster linosyris* (L.) Bernh .

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous- classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Astéraceae
Genre	<i>Aster</i>
Espèce	<i>Aster linosyris</i> (L.) Bernh

2.3.2. Description botanique

Aster est une espèce de plantes de la famille des Astéracées. Capitules hétélogames, multiflores, radiés ou discoïdes. Involucre call-panulé ou hémisphérique. Bractées imbriquées sur plusieurs rangs. Réceptacle plan ou un peu convexe, ± alvéolé et souvent fimbrié, non paléacé. Fleurs périphériques femelles (ou absentes), ligulées, celles du disque herma-phrodites à corolle à 5 lobes. Anthères obtuses. Style à branches terminées en appendice papilleux ou poilu. Akènes cylindriques ou comprimés. Aigrdte à soies nombreuses, sur 1-2 rangs. Feuilles simples, alternes. Fleurs du dis-que jaunes, les marginales rose violacé, rougeâtres ou blanches.

Les Asters sont des plantes herbacées. Plante annuelles ou vivace, canescente et Feuilles toutes lancéolées-linéaires. Inflorescence en corymbe. Capitules gros (1,5-2 cm de diam.). Plante vivace, glabre, à tiges dressées et rigides, très feuillée jusqu'en haut. Fleurs toutes tubuleuses, jaunes. Bractées de l'involucre lancéolées, très finement denticulées SUI' les bords. Akènes relativement gros (3 mm), velus, à aigrette fauve plus longue qu'eux et sinueuse, Bois et pâturages surtout calcaires (**figure 3**) .



Figure 3 : Photo de l'espèce *Aster linosyris* (L.) Bernh .

3. Grands groupes chimiques des espèces des Astéracées

3.1. Substances naturelles viennent du métabolisme secondaire

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et secondaires (**Hartmann, 2007**).

Métabolites primaires

Ils sont indispensables à l'existence de la plante, se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie, ils sont classés en quatre grandes familles, à savoir, les glucides, les lipides, les acides aminés (Protéines) et les acides nucléiques.

Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Hartmann, 2007**).

3.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Abderrazak et Joël, 2007**).

3.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**). Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de

polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert et al., 2005).

La structure chimique des polyphénols (Fig4.) est comparable à tous les polyphénols. Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

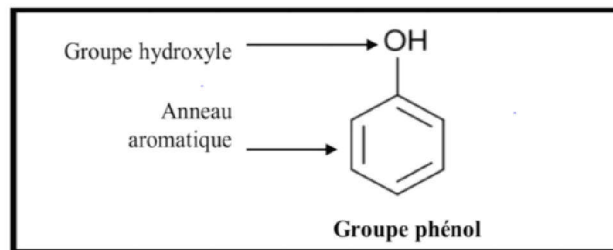


Figure4 : Structure de polyphénols (Boros et al., 2010).

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes (Fig5.), les coumarines et les tannins (Boros et al., 2010).

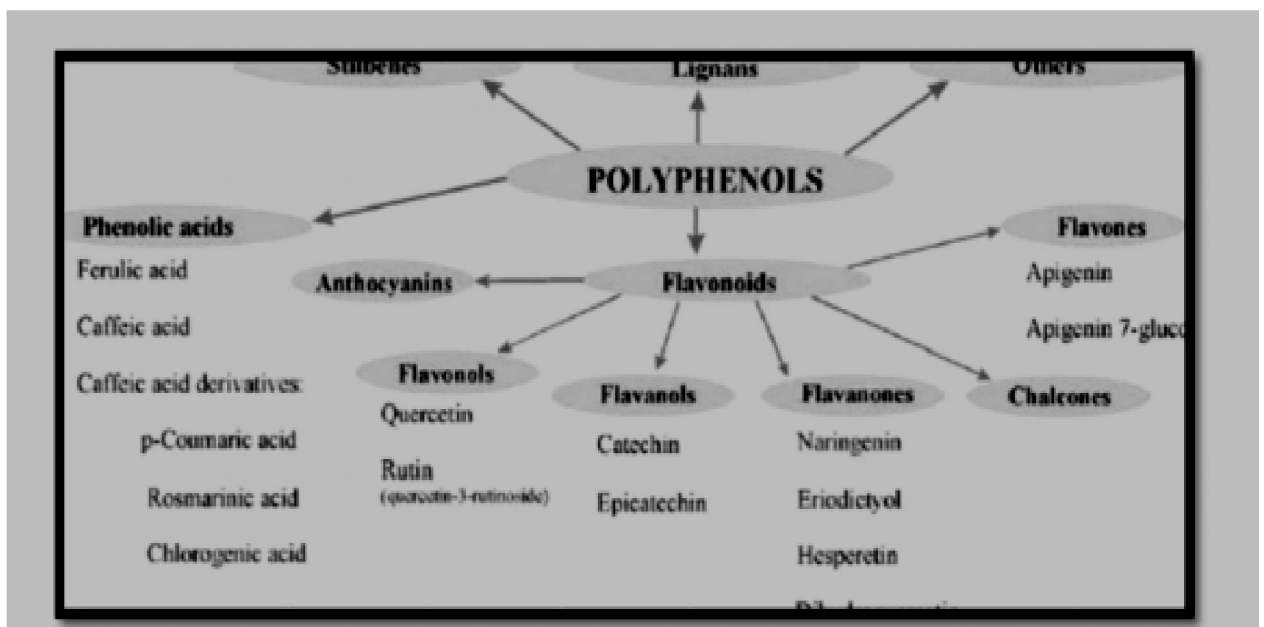


Figure 5: Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe (Boros et al., 2010).

3 . 2. 2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes **(Boutaghane, 2013)**.

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés **(Rakotonanahary, 2012)**.

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, la phénylalanine et la tyrosine . Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés **(Cyril, 2001)**.

On divise les alcaloïdes en trois genres :

Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde **(Badiaga, 2011)**.

Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés **(Badiaga, 2011)**. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate **(Rakotonanahary, 2012)**.

Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau **(Badiaga, 2011)**.

3.2.3. Les terpenoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « Pistacia Terebinthus » (Ayad, 2008). Le terme de terpenoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux

(Benaïssa, 2011). L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (Malecky, 2005).

Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte: leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Fig6.). Le terme terpenoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011) .

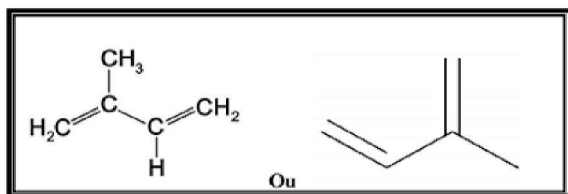


Figure 6: Structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011).

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Mebarki, 2010).

4. Méthodes d'extraction des plantes médicinales

Parmi les techniques classiques on trouve l'extraction par Soxhlet, l'hydro-distillation et la macération... Ces techniques sont basées sur le choix du solvant, la température et l'agitation. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée.

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle pour extraire les huiles essentielles sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone **(Dapkevicius et al., 1998)**.

Des solvants tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'eau et leurs combinaisons ont également été utilisés pour l'extraction de composés phénoliques, bien que généralement longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé **(Garcia-Salas et al., 2010)**. L'extraction des polyphénols est exigeante en raison de leur structure chimique et de leur interaction avec d'autres composés alimentaires.

De nombreux facteurs, tels que la composition du solvant, le temps d'extraction, la température, le pH, le rapport solide / liquide et la taille des particules, peuvent influencer de façon significative l'extraction solide-liquide **(Durling et al., 2007)**.

La polarité des polyphénols va de polaire à non polaire, pour leur extraction, une large gamme de solvants (Eau, Acétone, Méthanol, Ethanol ou leurs mélanges avec de l'eau) a été étudiée **(Wang et al., 2004)**.

Pour ces raisons, des techniques modernes d'extraction et d'isolation seront décrites comme des techniques alternatives pour réduire considérablement la consommation de solvants et accélérer le processus d'extraction. Parmi ces techniques modernes peut citer l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par fluide pressurisé **(Klejdusa et al., 2009)**.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel

1. 1. Verreries :

- Erlenmeyer de 100 et 1000ml.
- Eprouvettes graduées.
- Pipettes pasteur.
- Pipettes graduées.
- Tubes à vis.
- Tubes sec .
- Entonnoir.
- Bécher 1000ml.
- Verre de montre.

1. 2 . Produits chimiques :

- Ethanol (C₂H₆O).
- Acide chlorhydrique (HCl).
- Eau distillée.
- L'ammoniaque (NH₄OH).
- Réactif de Wagner.
- Réactif de Mayer.
- Chlorure de fer (FeCl₃).
- Chloroforme (CHCl₃).
- sulfate de sodium (Na₂SO₄).
- Acétone (C₃H₆O).
- Acide sulfurique (H₂SO₄).
- Carbonate de sodium (NaOH) .
- Magnésium (Mg).

1 .3. Appareils utilisés :

- Vortex.
- Agitateur magnétique.
- Spectrophotomètre
- Evaporateur rotatif (rotavapor).
- Hotte.
- Balance.

Autres :

- Portoirs.
- Papier filtre.

- Spatules.
- Barreaux magnétiques.
- Extracteur.
- Pipeteur.
- Boîtes de pétri
- Flacon
- Cuve

1 .4 . Matériel végétale : les plantes

- *Centaurea eriophora*.
- *Chrysanthemum multicaule*.
- *Aster linosyris* (L.) Bernh

Motivations et objectifs

Notre travail a été motivé d'une part, par le souci de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales de l'Algérie, en vue de faciliter l'accès des populations à des médicaments traditionnels améliorés à moindre coût, et d'autre part, par la nécessité d'objectiver ou d'infirmier les utilisations traditionnelles des ces plantes médicinales.

L'existence sur le plan national de peu de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur les plantes choisies.

L'absence des études sur l'effet des changements climatiques sur la production des métabolites secondaires chez les plantes médicinales.

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants

- Analyse quantitative du contenu en polyphénols, et en flavonoïdes et tanins des différents extraits.

2. Méthodes

2 .1. Matériel végétal

2 .1.1. Critères de sélection des plantes

Pour la sélection de nos plantes, nous avons considéré un certain nombre de critères comme l'apport de la littérature, pour le présent travail, nous avons sélectionné trois plantes médicinales de l'Algérie ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels largement répandus, aussi le manque des études sur ces espèces.

2.1.3. Préparation des échantillons

Après récolter le matériel végétal, nous avons procédé au séchage à la température ambiante (20-25°C) pendant environ un mois à l'air libre, jusqu'à la stabilisation de leur masse afin d'éviter d'éventuelles risques d'oxydation des polyphénols et de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Ensuite, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et d'humidité.

2.2. Préparation des extraits bruts par macération

Le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur avec un tamis de 2 mm. Cette poudre est conservée à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à l'extraction. Le solvant d'extraction a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés. Le solvant d'extraction qui a ainsi été testés est: l'éthanol (EtOH) qui possède une polarité et qui va permettre d'obtenir un extrait polaire.

Une quantité de 20g de la poudre végétale a été mélangé avec 200 mL du solvant dans un Bechér. Le mélange est maintenu sous une agitation magnétique pendant 24h à température ambiante. La solution obtenue est ensuite filtrée sur papier filtre (Wattman N°1 de diamètre 0.2 µm) sous vide.

Le filtrat a été ensuite récupéré, l'EtOH est concentré sous vide à 40 °C à l'aide d'un rotavapeur (BÜCHI), l'eau éliminé par l'lyophilisation, l'extrait sec a été ensuite récupéré, pesé, étiqueté et conservé à +4 °C jusqu'à l'utilisation(**figure 8 ,9,10**).

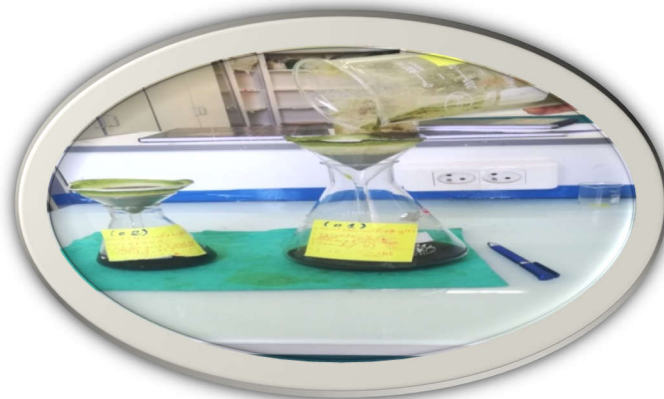


Figure 8 : le processus de filtration de solution 'poudre de plante +Ethanol .



Figure 9 : Elimination de solvant par évaporation rotatif "BÜCHI" .

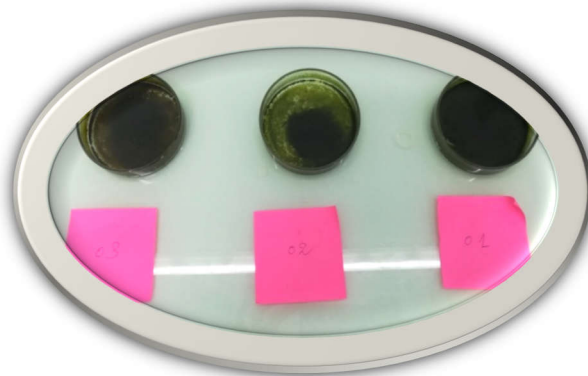


Figure 10 : d'extraits bruts des trois plantes médicinales.

2.3 . Détermination du rendement des extractions

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant: $R (\%) = [(P1 - P2) / P3] \times 100$

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation ;

P3 : poids de la matière végétale de départ.

2.4 . Tests généraux de caractérisation (screening chimique)

La première étape était la recherche des grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolismes secondaires des plantes étudiées. En effet, le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs. Deux solvants de polarités différentes ont été utilisés (Eau, EtOH).

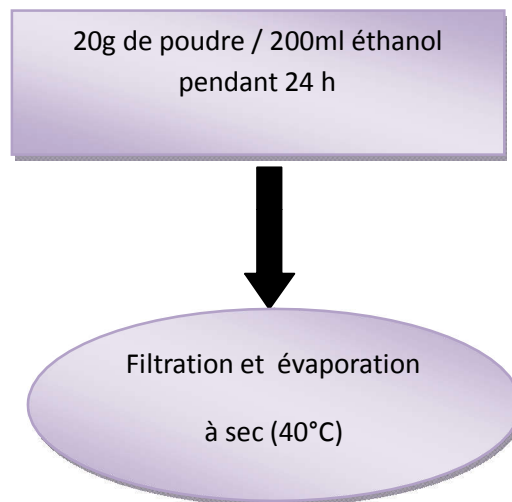


Figure 11 : Protocole d'extraction des extraits bruts.

2. 4 .1. L'épuisement du matériel végétal avec l'eau

Une quantité de 4g du matériel végétal est mise en contact avec 40 mL d'eau distillée dans un erlenmeyer, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux différents tests.

2 . 4 .2. L'épuisement du matériel végétal avec l'EtOH

Une quantité de 4g du matériel végétal est mise en contact avec 40 mL d'EtOH dans un bécher, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré, et l'extrait éthanolique est soumis aux différents tests.

a. Saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée:

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**)

b. Anthraquinones libres (Réaction de Borntrager)

On ajoute 2,5 mL d'une solution de l'ammoniaque (NH₄OH) (20 %), à 5 mL de l'extrait éthanolique ou aqueux puis agiter.

L'apparition d'une coloration plus ou moins rouge indique la présence des anthraquinones libres (**Bendif, 2017**).

c. Terpénoïdes (Test de Slakowski)

A 1 mL de l'extrait éthanolique ou aqueux, on ajoute 0,4 mL de chloroforme (CHCl₃) et 0.6 mL de H₂SO₄ concentré.

La présence des terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition d'un anneau marron à l'interphase (**Khan et al., 2011**).

d. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1mL de l'extrait éthanolique, 2 mL d'eau et entre 2 à 3 gouttes de solution de Chlorure de fer (FeCl₃) diluée.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire (Tanins galliques), vert ou bleue-verte (Tanins catéchiqes) (**Trease et Evans, 1987**).

e .Les alcaloïdes

Test de Mayer: prend 2ml de l'extrait de plante dans un tube à essai et ajouter une quantité de réactif de Mayer, ça donne une précipitation de couleur crème.

Test de Wagner : prend 2ml de l'extrait de plante dans un tube à essai et ajouter une quantité de réactif de wagner , S'il apparait un précipité brun, donc on est en présence d'alcaloïdes.

f. Flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2,5 mL de l'extrait éthanolique avec 0.5 mL d'HCl concentré et quelques coupeau de magnésium (Mg).

La présence des flavonoïdes est mise en évidence si la couleur rose ou rouge se développe après 3 min (**Bruneton, 1993**).

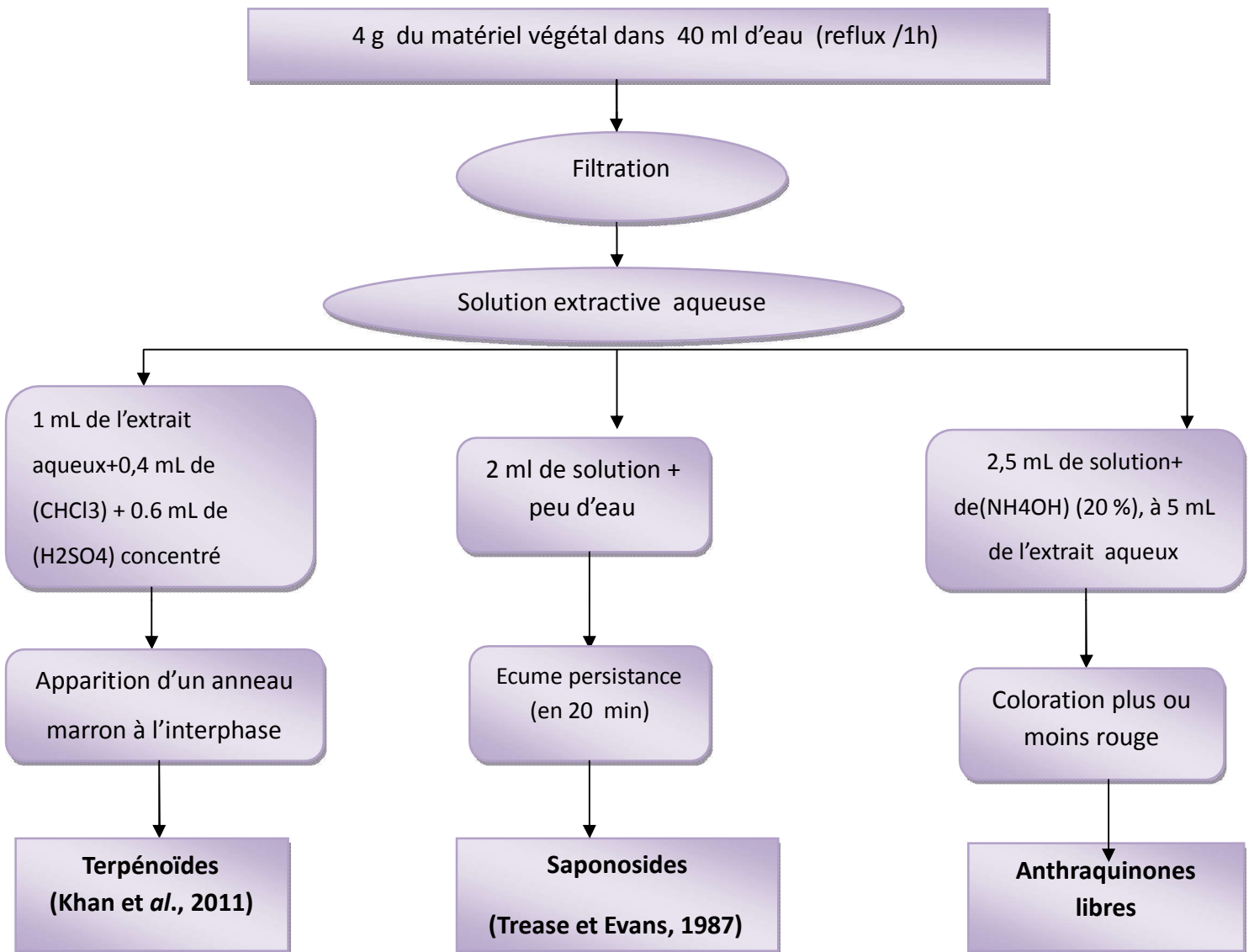


Figure 12 : Tests phytochimiques.

g. Composés phenoliques

Un volume de 5mL de chlorure d'hydrogène (HCl) est ajouté a 5 mL d'infusé éthanolique. Un test positif est révélé par la coloration vert en présence de polyphénols.

h. Coumarines

Prend 2ml de l'extrait de plante dan un tube à essai est ajouté a 3 ml de carbonate de sodium (NaOH) (10%), ça donne une couleur jaune

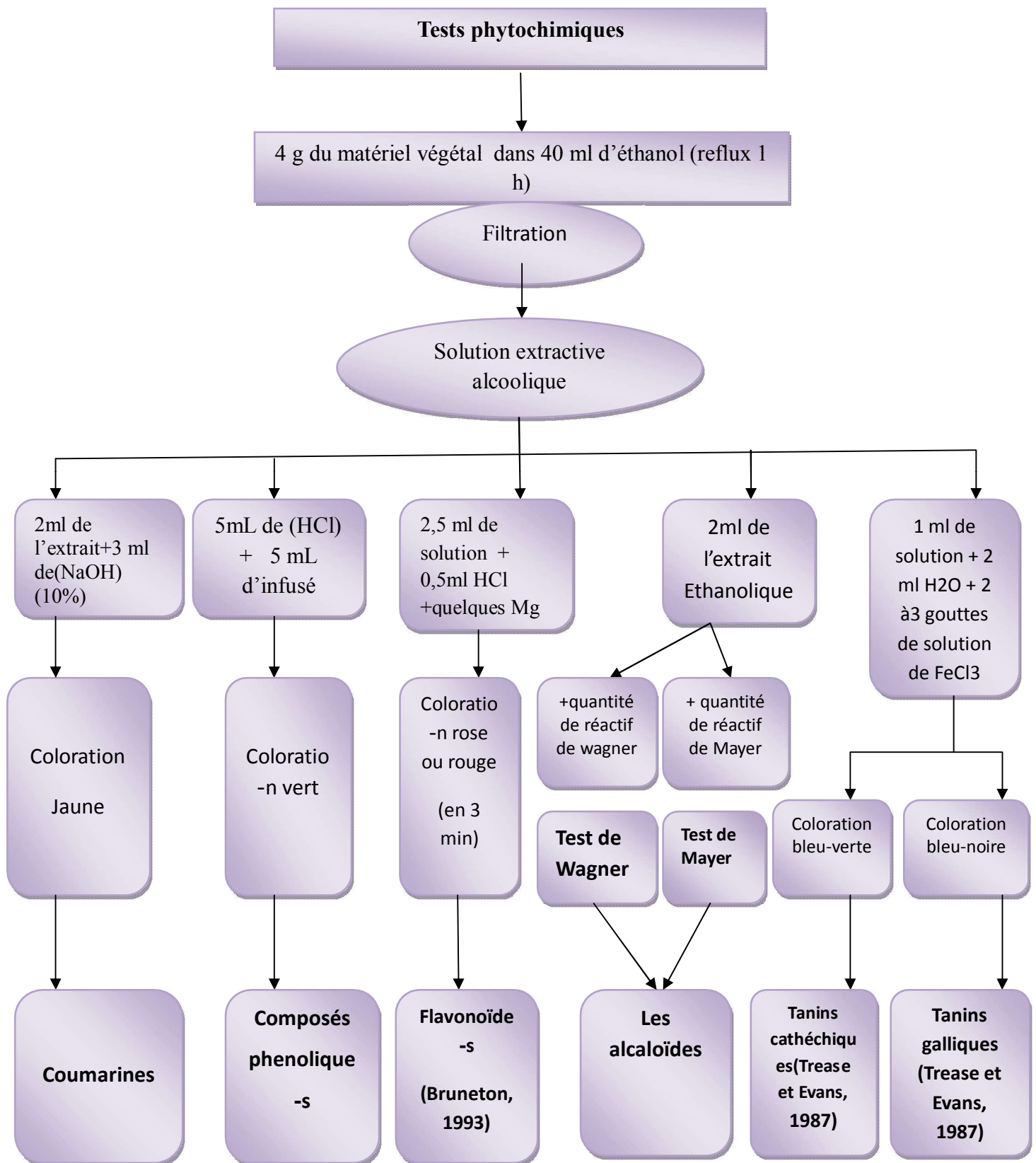


Figure 13 : Tests phytochimiques.

2. 5. Analyse quantitative des composés phénoliques

2. 5.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Mahmoudi et al., 2013).

Le réactif de Folin-Ciocalteu, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 730 -765 nm. Dans cette méthode on a utilisé l'acide gallique comme étalon (Picher et al., 1984).

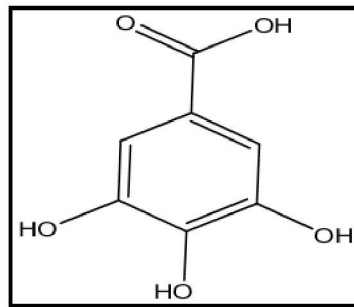


Figure14 : Structure acide gallique.

Le dosage consiste à prendre 100 mg d'extrait sec ont été dissout dans 10 ml de éthanol pour obtenir une concentration de 10mg/mL et dilué 1 /6 fois avec l'éthanol. Une courbe étalon a d'abord été réalisée en utilisant l'acide gallique (pesé 2 mg de l'acide gallique puis on verse 4 ml d'eau distillée, (2mg /4ml solution mère), comme substance de référence, après une série de dilutions à l'eau distillée. Ainsi dans chaque tube à essai ont été ajoutés, selon les solutions obtenues après dilution, 0,5 mL de l'échantillon à doser (acide gallique ou extrait à doser) et 2,5 mL de la solution de Le réactif de Folin Ciocalteu (FCR 0,2 N). Après 5 mn d'attente on y ajoute 2 ml d'une solution de carbonate de sodium Na₂ Co₃ (75g/L).

Après agitation, les différentes solutions ont été incubées, à l'abri de la lumière pendant 2 heures. La lecture a été faite à 730 nm, au spectrophotomètre contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg GAE/g ES), ou par gramme de poudre (mg GAE/g P).

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante : $C = c \cdot v / m$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

v : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de plante (g).

2 . 5.2. Dosage des flavonoïdes

Le contenu total de flavonoïdes est déterminé par la méthode Dowd adaptée par (Arvouet-Grand et al ., 1994).

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. les flavonoïdes forment des complexes jaunâtre par chélation des métaux (fer et aluminium) . Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et al .,1972).

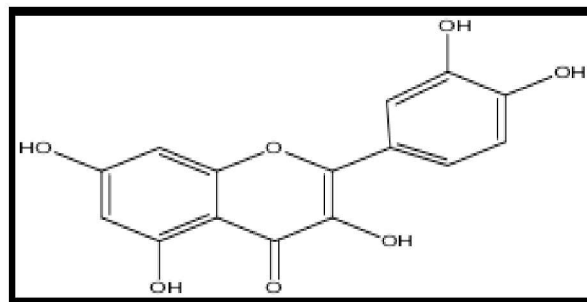


Figure 15: Structure de la quercétine .

En bref, 1ml de un échantillon a été ajouté à 0,3 ml de NaNO₃ (5%), puis 0,3ml de AlCl₃ à 1%(p/v) a été ajouté 5 min plus tard. Après 6 min, 2ml de 1 M Du NaOH a été ajoutée, cette solution a été bien mélangée et laissée au repos pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 510 nm .les TFC étaient exprimés en mg de quercétine, équivalent par gramme de poids sec d'extrait (mg d'QE / g ES).

2 . 5.3. Dosage des tannins

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**).

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère. Les quantités des tannins sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par (**Julkunen-Titto , 1985**).

En bref, une aliquote (50 µL) d'extrait ou de solution standard a été mélangé avec 1,5 ml de vanilline à 4% (préparé avec MeOH), puis 750 µL de HCl (12 M) ont été ajoutés. La solution bien mélangée a été incubée à température ambiante dans le sombre pendant 20 min. L'absorbance a été lue après à 500 nm. La catéchine (50-500 µg / mL) a été utilisée pour établir la courbe standard et les résultats ont été exprimés en mg Equivalents de catéchine (acide tannique) par gramme d'extrait sec (mg EAT / g ES).

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des feuilles, des fleurs et des tiges des trois plantes médicinales (*C. eriophora*, *A. linosyris* (L.) Bernh et *Ch. multicaule*) de la famille des Asteraceae. La détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont présentés dans tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des trois plantes médicinales étudiées (*C. eriophora*, *A. linosyris* (L.) Bernh et *CH. multicaule*).

Métabolites secondaires	<i>C. eriophora</i> (1)	<i>A. linosyris</i> (2)	<i>CH. multicaule</i> (3)
Saponosides	-	+++	-
Anthraquinons libres	-	-	++
Terpénoïdes	+	++	+++
Tanins vrais	+	+++	+
Tanins (catéchique)	+++	+	+++
Alcaloïdes (Test de Maye)	++	+	++
Alcaloïdes (Test de Wagner)	++	+	+
Flavonoïdes	+	-	+
Composés phénoliques	+++	++	+
Coumarines	++	++	+

Les résultats sont interprétés comme suit :

- (+) Présence.
- (++) Présence moyenne.
- (+++) Présence fort.
- (-) absence.

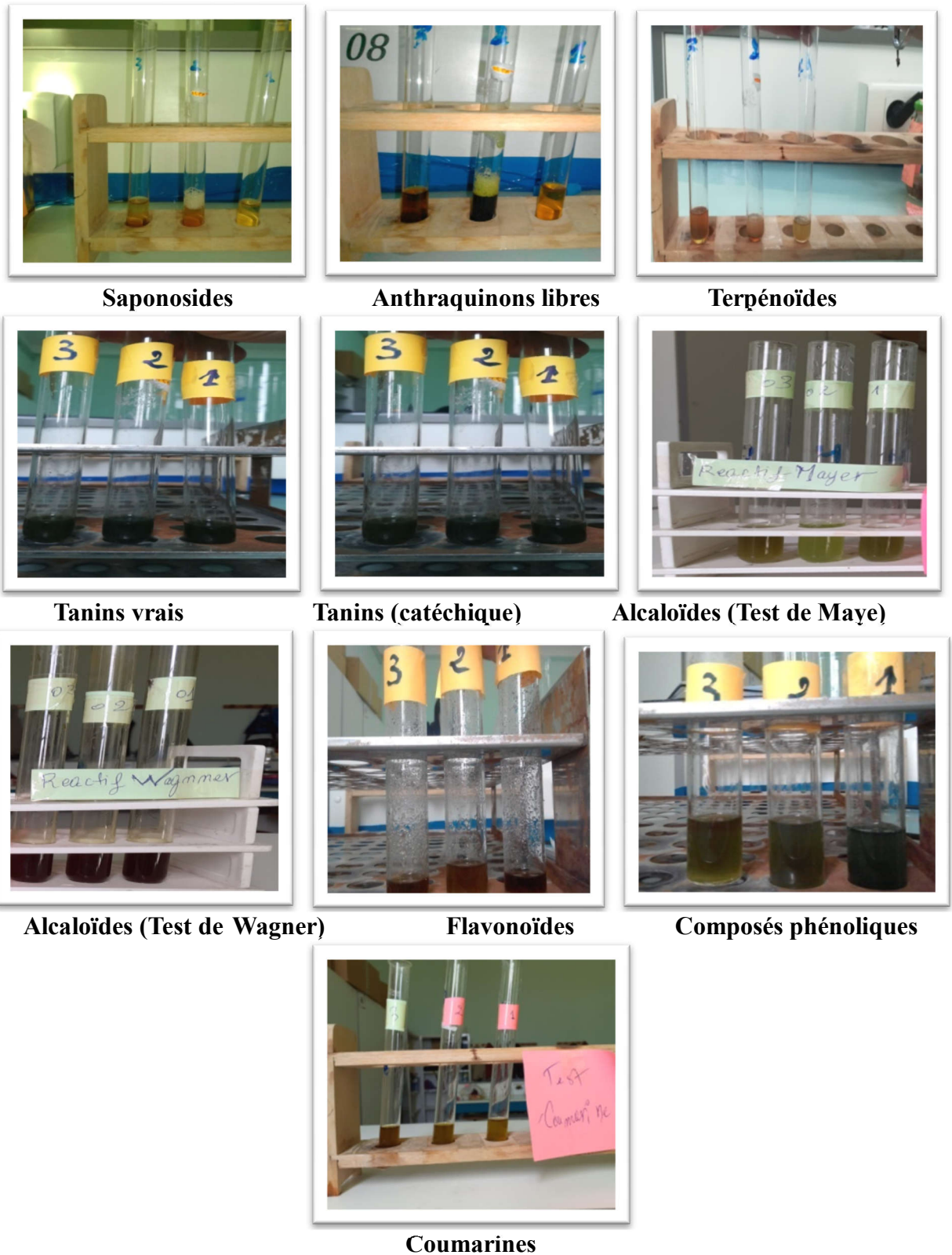


Figure 16. Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des trois plantes médicinales étudiées (*C. eriophora*, *A. linosyris* (L.) Bernh et *CH. multicaule*).

L'étude de criblage phytochimique de l'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiées montre:

Les tests phytochimiques de détection des saponosides par calcul de l'indice de mousse ont élucidé la présence de ces métabolites dans la plante *A. linosyris* avec une quantité plus forte dans et absence dans les deux autres plantes *C. eriophora* et *Ch. multicaule*.

La présence de Anthraquinones libres mais uniquement dans la plante *Ch. multicaule* et absence dans les plantes *C. eriophora* et *A. linosyris*.

La présence des terpénoïdes dans les trois plantes, mais plus marquant dans la plante *Ch. multicaule* et avec faible moyen dans la plante *A. linosyris*. aussi avec une faible intensité dans *C. eriophora*.

Les tanins sont présents avec une intensité importante dans les deux extraits aqueux et éthanolique, sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleue verte (tanins catéchiques) et bleue noire (tanins galliques) dans les trois plantes.

La présence des Alcaloïdes, les composés phénoliques et les coumarines dans les trois plantes.

On remarque aussi la présence des flavonoïdes dans les deux plantes (*C. eriophora* et *Ch. multicaule*), et absence dans la plante *A. linosyris*.

La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles.

Au vu de la bibliographie, il n'y a pas de travaux réalisés sur ces espèces. Les tests de caractérisation présentent des imprécisions car ils sont basés sur l'analyse qualitative. La composition chimique des extraits varie selon les organes et suivant les espèces. Toute fois, ce screening phytochimique ne renseigne point sur la nature des molécules chimiques.

Des études chimiques sur l'Artémisia indiquent que toutes les classes de composés sont présentes dans le genre avec une référence particulière aux terpènes et flavonoïdes selon **(Wright, 2002)**.

Nous y avons décelé la non présence de saponines et des alcaloïdes. En revanche **(Sellami et al., 2010)** confirment la présence des alcaloïdes.

Les molécules identifiées dans Artemisia herba alba (AHA) sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques **(Da Silva J. A, 2004)**.

La non concordance des résultats serait due probablement au choix du solvant et au mode d'extraction.

2. Rendement et résultats d'extraction

Les résultats du rendement d'extraction des trois plantes étudiées (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*) par macération avec EtOH sont représentés dans le (tableau 5) et (figure17).

Tableau 5 : Rendement d'extraction (%) des trois plantes étudiées (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*) par macération avec EtOH.

Plante	couleur	Rendement[R(%) = (mext/ mmv) x 100]
<i>C. eriophora</i>	Verte foncée	R(%) = 4.3%
<i>A.linosyris</i>	Verte	R(%) = 6.61%
<i>Ch. Multicaule</i>	Verte foncée	R(%) = 4.2%
mext : masse de l'extrait en g.		mmv: masse de la matière végétale en g.

Les rendements de l'extraction varient de 4.2 à 6.61 %, dans le quelle l'extrait de *A. linosyris* a donné le meilleur rendement que ceux des deux autres espèces.

Au vu de la bibliographie, il n'y a pas de travaux réalisés sur la composition chimique des extraits bruts éthanoliques de nos espèces étudiées. Mais en comparaison avec d'autre plante médicinale de la famille astéracée, comme les résultats trouvés par (Hamza, 2019) sur *Centaurea Parviflora* sont moins importante que nos résultats par 2.36%.

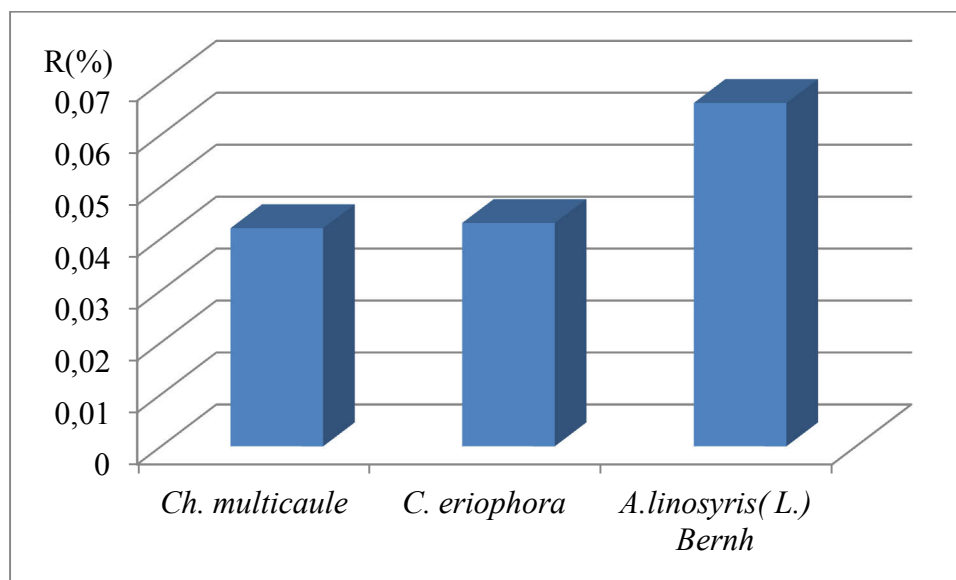


Figure17 : Rendement des extractions à EtOH.

3. Analyse Quantitative des composés phénoliques

3. 1. Dosage des polyphénols totaux

Dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, de l'extrait éthanolique des trois plantes médicinales (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*), a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les concentrations de l'extrait d'acide gallique ont été variées entre 0.1 à 1mg/ml permet de tracer la courbe d'étalonnage, des mesures de l'absorbance de l'extrait à longueur d'onde 730nm.

La quantité des polyphénols totaux déterminée par l'équation $y = 0.010x - 0.043$ avec $R^2 = 0.996$

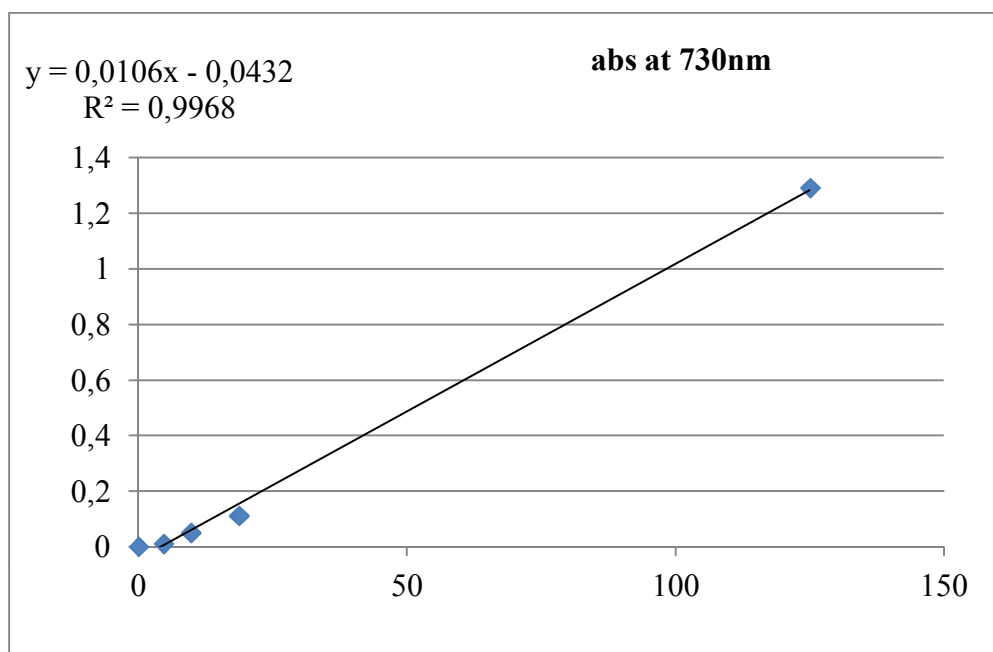


Figure18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

La mesure de l'absorbance d'extrait éthanolique a été effectuée à une longueur d'onde 730nm, les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Tableau 6: Teneur des polyphénols totaux d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiée (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*).

Plantes	<i>C. eriophora</i>	<i>A. linosyris</i>	<i>Ch. multicaule</i>
mg EAG/g ES	48.1	34.4	51.0
C mg EAG/g P	2.0	1.5	3.4

Les teneurs en polyphénols totaux (**tableau 6**) montrent que l'extrait éthanolique de *Ch. Multicaule* représente la teneur la plus élevée de l'ordre de 3.4 mgEAG /g (mg équivalent acide

gallique par g d'extrait), tandis que la teneur moyenne a été obtenue avec l'extrait éthanolique de plante *C. eriophora* de l'ordre de 2 mgEAG /g. Tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait éthanolique de plante *A. linosyris* de l'ordre de 1.5 mgEAG /g.

Nous avons remarqué que la plante *Ch. Multicaule* renferme plus de composés phénoliques que les deux autres espèces.

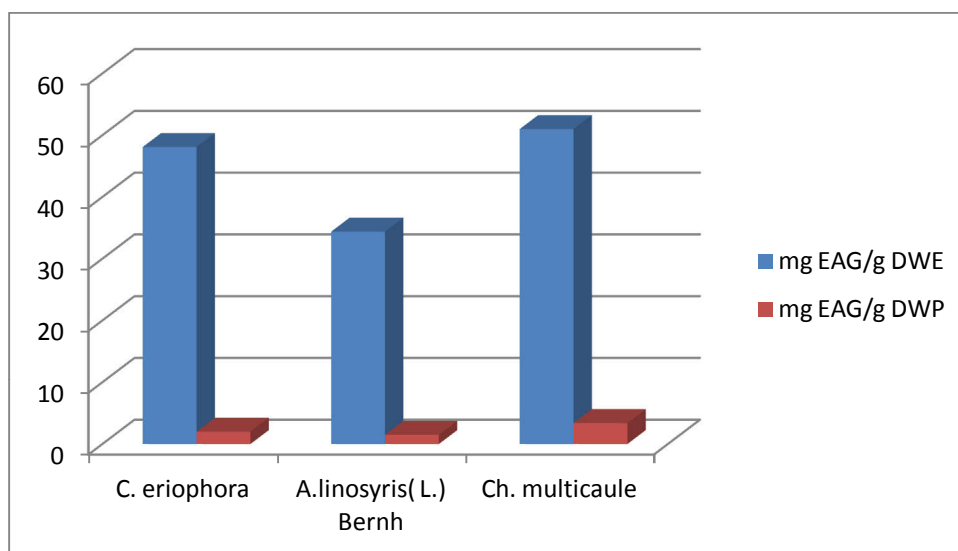


Figure19 : Teneurs des polyphénols totaux pour les trois plantes médicinales étudiée.

3. 2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique, la quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage, et delà le calcul de la teneur de flavonoïde dans notre extrait.

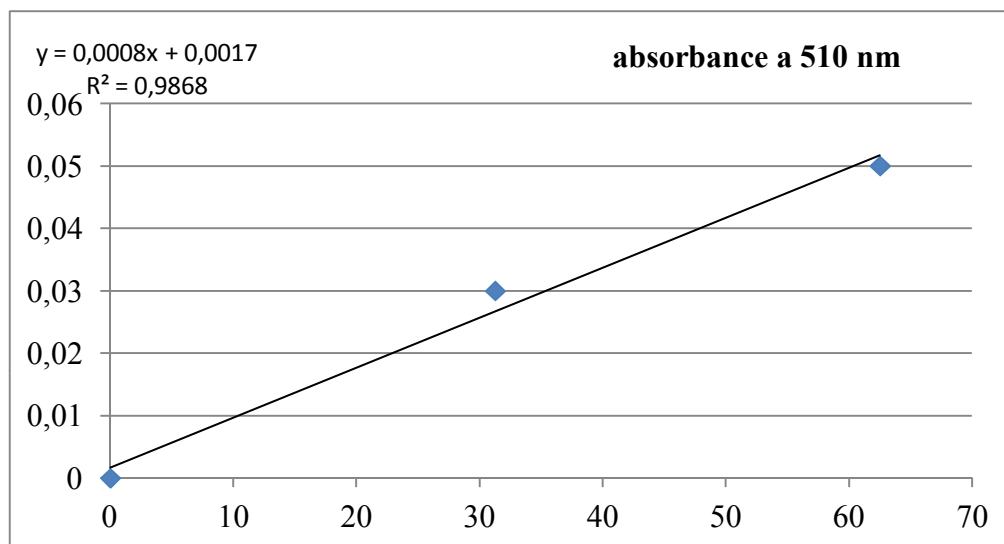


Figure20 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

L'absorbance d'extrait éthanolique a été effectuée à longueur d'onde 510nm, les résultats obtenus dans le tableau7 suivant :

Tableau 7 : Teneur des flavonoïdes d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiée (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*).

Plantes	<i>C. eriophora</i>	<i>A.linosyris</i>	<i>Ch. multicaule</i>
mg EQ/g ES	10.1	12.2	16.2
C mgEQ/g P	0.4	0.5	1.1

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (**Tableau 7**) révèlent que l'extrait éthanolique de *Ch. multicaule* est le plus riche en flavonoïdes 1.1 mg EQ/g. tandis que la teneur de l'extrait éthanolique de plante *A. linosyris* contient une peu quantité de l'ordre de 0.5mgEQ/g.

L'extrait éthanolique de *C. eriophora* contient une quantité, mais relativement faible par rapport à la plante *ch. multicaule*, la teneur est de l'ordre de 0.4mg EQ/g.

Nous avons remarqué que la plante *Ch. multicaule* renferme plus des flavonoïdes que les deux autres espèces.

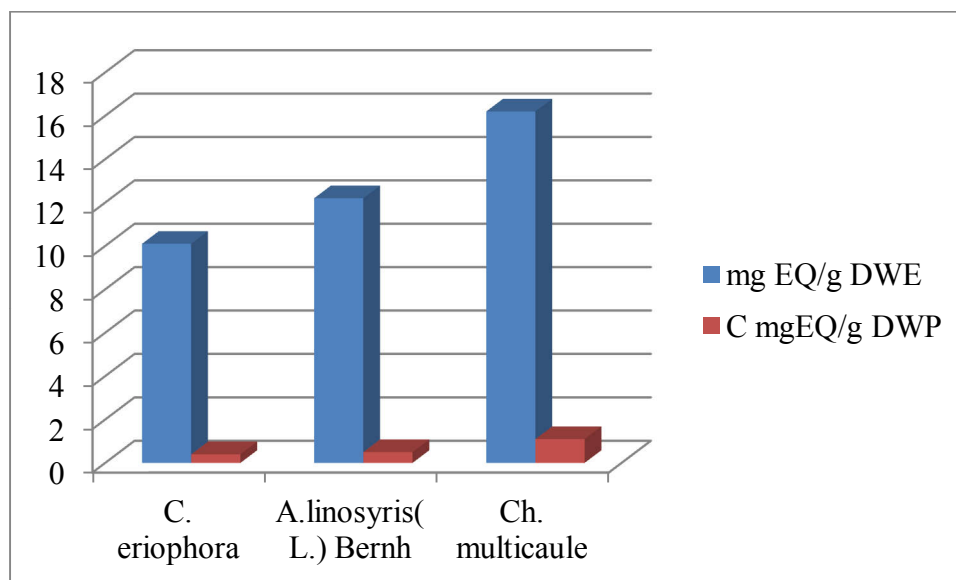


Figure 21 : Teneurs des flavonoïdes pour les trois plantes médicinales étudiée.

3.3. Dosage des tanins

Le dosage des tanins a été réalisé par la méthode colorimétrique, la catéchine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage, et delà le calcul de la teneur de tanins dans notre extrait.

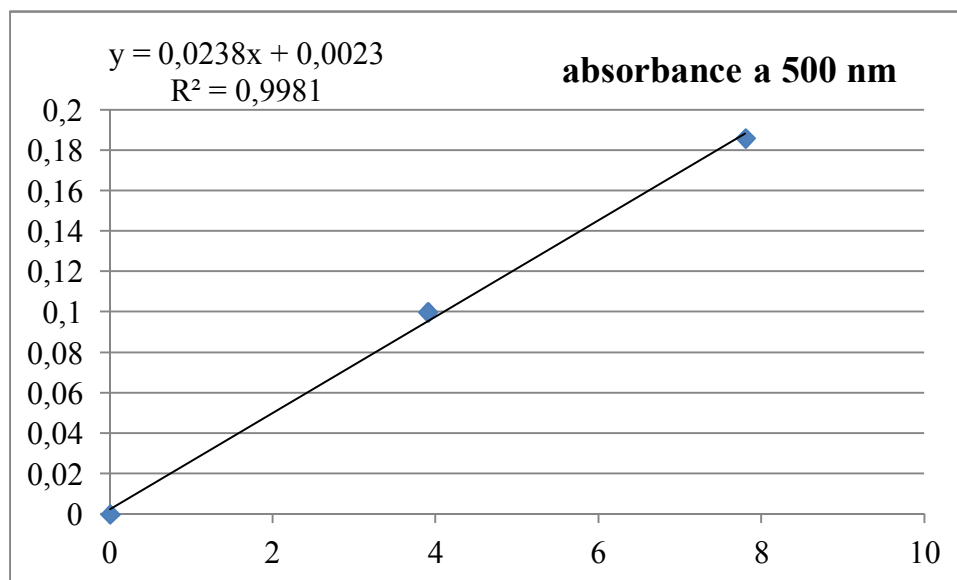


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

L'absorbance d'extrait éthanolique a été effectuée à longueur d'onde 500nm, les résultats obtenus dans le tableau 8 suivant :

Tableau 8: Teneur des tanins d'extrait éthanolique des trois plantes médicinales étudiées (*C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. multicaule*).

Plantes	<i>C. eriophora</i>	<i>A. linosyris</i>	<i>Ch. multicaule</i>
mg EAT/g ES	18.04	15.51	3.03
C mgEAT/g P	0.76	0.67	0.20

Les résultats du dosage quantitatif des tanins (**Tableau 8**) révèlent que l'extrait éthanolique de *C. eriophora* est le plus riche en Tanins 0.76 mgEAT/g tandis que la teneur de l'extrait éthanolique de plante *A. linosyris*(L.) Bernh contient une quantité de l'ordre de 0.67mgEAT /g.

L'extrait éthanolique de *Ch. multicaule* contient une quantité, mais relativement faible par rapport à la plante *C. eriophora* , la teneur est de l'ordre de 0.20mgEAT/g.

Nous avons remarqué que la plante *C. eriophora* renferme plus des Tanins que les deux autres espèces.

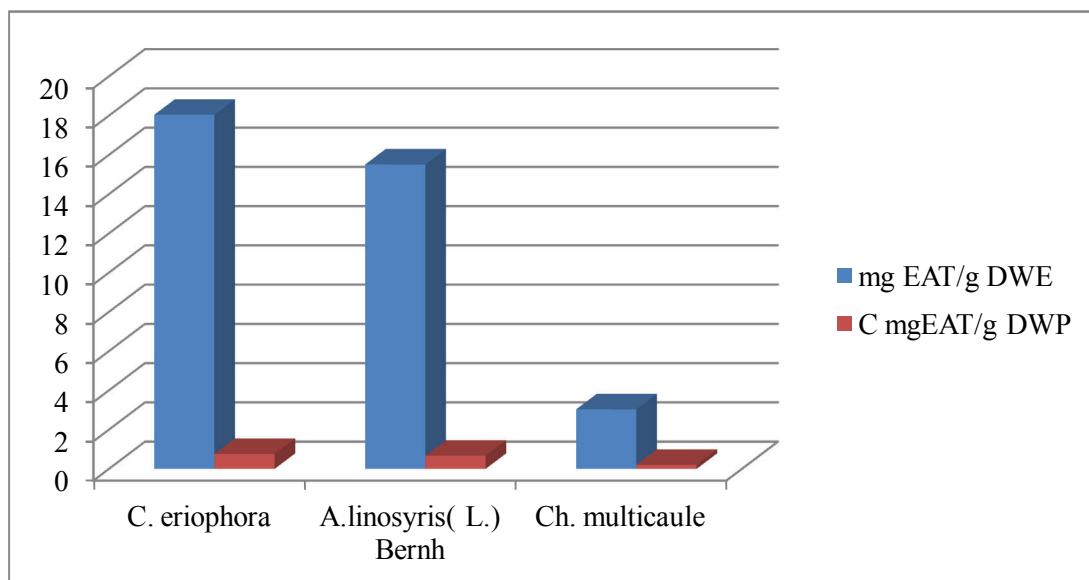


Figure 23 : Teneurs des Tanins pour les trois plantes médicinales étudiée.

En comparant nos résultats avec d'autres travaux sur l'espèce *Centaurea choulettiana*, on trouve les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits AcOEt et n-BuOH (feuilles et fleurs) de l'espèce exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mgEAG/g d'extrait) pour les polyphénols et en mg d'équivalent de quercétine par g d'extrait (mgEQ/g d'extrait) pour les flavonoïdes comme suit :

Tableau 9 : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de *C. choulettiana*.

Extrait	Polyphénols mgEAG/g d'extrait	Flavonoïdes mgEQ/g d'extrait
AcOEt feuilles	325.81 ± 0.038	263.73 ± 0.004
AcOEt fleurs	248.35 ± 0.005	188.20 ± 0.013
n-BuOH feuilles	176.91 ± 0.003	145.20 ± 0.001
n-BuOH fleurs	133.13 ± 0.002	122.33 ± 0.003

Les résultats présentés précédemment permettent de tirer les constatations suivantes: Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de nos espèces sont moins importantes.

Les résultats du dosage des polyphénols par (Slinkard et Singleton, 1977) et des flavonoïdes par (Türkoğlu et al., 2007). Pour *C. segetum* sont présentés dans le **tableau 10**

Tableau 10 : valeurs des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits du *C. segetum*.

Extrait	Teneur en polyphénols (mg/g)	Teneur en flavonoïdes (mg/g)
Chloroforme	42,70±2,31	28,42±2,03
Acétate d'éthyle	216,18±12,97	126,64±11,35
<i>n</i> -butanol	154,51±2,92	106,64±11,27

D'après les résultats, on constate que la teneur est plus élevée en polyphénols totaux que le notre .

En effet, la teneur des phénols totaux, flavonoïdes et tanins n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre.

En générale, on remarque que nos valeurs sont proches à celles de la littérature parce que toutes les plantes appartiennent à la même famille (Astéracée).

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs:

- 1- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc.
- 2- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante.
- 3- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain, leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. La présente étude est apportée sur les espèces *C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. Multicaule* qui appartiennent à la famille des astéracées.

Les extraits éthanoliques ont été préparés par la macération à froid, cet extrait a fait l'objet d'une étude phytochimique, et les résultats étaient comme suivants:

Le criblage phytochimique a montré la présence de : Terpénoïdes, tanins vrais et catéchique, alcaloïdes, composés phénoliques et coumarines dans les trois plantes étudiées, et la présence des saponosides seulement dans la plante *A. linosyris*. Les anthraquinones libres sont absentes dans les deux plantes *C. eriophora* et *A. linosyris* et présentes dans *Ch. Multicaule*. Les flavonoïdes sont présents dans les deux plantes *C. eriophora* et *Ch. Multicaule* et absents dans la plante *A. linosyris*.

Le rendement d'extraction est : 4.3% pour *C. eriophora*, 4.2% pour *Ch. Multicaule* et 6.61% pour *A. linosyris*.

Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique de l'extrait éthanolique des trois plantes médicinales montre que l'extrait de *Ch. Multicaule* représente la teneur la plus élevée de l'ordre de 3.4 mg EAG /g P, tandis que la teneur moyenne a été obtenue avec l'extrait éthanolique de plante *C. eriophora* de l'ordre de 2 mg EAG/g P, alors que la teneur la plus basse a été obtenue pour l'extrait *A. linosyris* (1.5 mg EAG/g P).

Le dosage quantitatif des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique en équivalent à la quercétine. Les résultats révèlent que *Ch. multicaule* est le plus riche en flavonoïdes (1.1 mg EQ/g P). Tandis que la plante *A. linosyris* contient une petite quantité de l'ordre de 0.5mgEQ/g P, l'extrait éthanolique de *C. eriophora* contient une quantité faible par rapport à la plante *ch. multicaule*, la teneur est de l'ordre de 0.4g EQ/mg P.

Le dosage des tanins a été réalisé par la méthode colorimétrique en équivalent à la catéchine. Les résultats révèlent que *C. eriophora* est le plus riche en tanins (0.76 mgEAT/g ...), tandis que *A.linosyris* contient une quantité de l'ordre de 0.67mgEAT /g P, *Ch. Multicaule* contient une quantité faible par rapport à la plante *C. eriophora*, de l'ordre de 0.20g EAT/mg P.

Notre étude a montré que les trois plantes *C. eriophora*, *A. linosyris* et *Ch. Multicaule* sont riches en composés phénoliques qui pourraient être utilisés dans la médecine traditionnelle.

Référence Bibliographique

1. **Abderrazak M. et Joël R. (2007).** Labotanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. pp. 177.
2. **Anonyme.** <<Artemisiaplante, un article de Wikipedia .org>> [http :// Fr .Wikipedia .org /wiki / Artemisia \(plante\).](http://fr.wikipedia.org/wiki/Artemisia_(plante))
3. **Arif R.Küveli E. et Ergun F. (2004).** The biological activity of Centaurea L. species (Review). Gazi Univ. J. Sci 17(4) : 149-164.
4. **Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A. et Legret P. (1994).** Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. Journal de pharmacie de Belgique, 49, 462-468.
5. **Ayad R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum cornutum. Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.
6. **Badiaga M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
7. **Barka S. et Ben Attallah S. (2010).** L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), P : 3, P : 13.
8. **Baytop T. (1999).** Therapy with medicinal plants in Turkey. Past and Present, second ed, Nobel Tıp Basımevi. Istanbul. Turkey.
9. **Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J. et Younos C. (1991).** Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. Journal of Ethnopharmacology, 35, 123.
10. **Benaissa O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres Chrysanthemum et Rhantherium, Activité Biologique. Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
11. **Bendif, H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: Ajugaiva (L.) Schreb., Teucrium polium L., Thymus munbyanus subsp. coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et Rosmarinus eriocalyx Jord & Fourr. Thèse de Doctorat, KOUBA-ALGER p42.
12. **Bérubé-Gagnon J. (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de Picea mariana. Mémoire de l'université de Québec.

13. **Boros B., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhare Z., Kilar F. et Felingera A. (2010).** Determination of polyphenolic compound by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.
14. **Bouchama K.E. (2003).** Thèse de magister, Université de Constantine.
15. **Boutaghane N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Asteraceae). Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences, Université de Constantine 1. Page 11-58.
16. **Bremer K. (1994).** Asteraceae. Cladistics and classification. Portland, OR: Timber Press.
17. **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
18. **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Éditions médicales internationales, Tec & Doc, Paris, France.
19. **Bubenchikov V.N., Kitvinenko V.I. et Popova T.P. (1992).** Phenolic compounds of *Centaurea pseudomaculosa*. *Chemistry of Natural Compounds* 28 (5): 507.
20. **Cheng W., Li J., You T. et Hu C. (2005).** Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne. *Journal of Ethnopharmacology*. 101, 334–337.
21. **Choi Y.J. (1992).** Korean Traditional Herbal Plants. Academic Press, Seoul, Korea, p. 53.
22. **Cyril T. (2001).** Étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus roseus*, vue du développement d'un modèle cinétique. université de Montréal. 28p.
23. **Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S. et Alfred S.T. (2005).** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.
24. **Dapkevicius A., Venskutonis R., Van B.T.A. et Linssen J.P.H. (1998).** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal science food agriculture*, 77, 140-146.
25. **Da Silva J. A. (2004).** Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (12), 706-720 p.
26. **Decaux I. (2002).** Phytothérapie, Mode d'emploi. Ed, Le bien public. Pp 6.
27. **Dittrich M. (1977).** Cynareae-Systematic review. In Heywood V.H., Harborne J.B., Turner B.L., the Biology and Chemistry of (Compositae). Oriole New York. Pp: 999-1015.

28. **Durling N.E., Catchpole O.J., Grey J.B., Webby R.F., Mitchell K.A., Foo L.Y. et Perry N.B. (2007).** Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101, 1417-1424.
29. **Fleuriet A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
30. **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.
31. **Gokhan Z., Gokalp O.G., Yavuz S.C., Abdurrahman A. (2011).** Antioxidant capacity and fatty acid profile of *Centaurea kotschyi* (Boiss. & Heldr.) Hayek var. *Persica* (Boiss.) Wagenitz from Turkey. *grasas y aceites* 62 (1): 90-95.
32. **Hamza A., (2019)** . Essai de caractérisation phytochimique des extraits de trois plantes médicinales de l'Algérie. (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila), P25.
33. **Hartmann T. (2007).** From wasteproducs to ecochemicals, Fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry*, p 68, 2831-2846.
34. **Hellwig F.H. (2004).** *Centaureinae* (Asteraceae) in the Mediterranean history of ecogeographical radiation. *Plant Syst. Evol.* 246:137-162.
35. **Iserin P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, 335.
36. **Iserin P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres.
37. **Jiang H., Xia Q., Xu W., Zheng M. (2004).** *Chrysanthemum morifolium* attenuated the reduction of contraction of isolated rat heart and cardiomyocytes induced by ischemia, reperfusion. *Farmazie*, 59, 565-567.
38. **Judd, Campbell, Kellogg ET Stevens. (2002)** . Botanique systématique _ une perspective phylogénétique. Edition de Boeck _ université.
39. **Julkunen-Titto R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .33: 213-217.
40. **Karamenderes C., Konyalioglu S., Khan S. et Khan I.A. (2007).** Total phenolic contents, free radical scavenging activities and inhibitory effects on the activation of NF-kappa B of eight *Centaurea L.* species. *Phytother Res* 21: 488-491.
41. **Kargioglu M., Cenkci S., Evliyaoglu N., Konuk M., Kok M.S. et Bagcı y. (2008).** An ethnobotanical survey of inner- West Anatolia. Turkey *Hum Ecol* 36, 763 -777.
42. **Kargioglu M., Cenkci S., Serteser A., Konuk M. et vural G. (2010).** Traditional uses of wild plants in the middle Aegean region of Turkey. *Hum Ecol* 38: 429 -450.

43. **Karioti A., Skaltsa H., Lazari D., Sokovic M., Garcia B. et Harvala C. (2001).** Secondary Metabolites from *Centaurea deusta* with Antimicrobial Activity. *Z Naturforsch* 57: 75-80.
44. **Khan A.M., Qureshi R.A., Ullah F., Gilani S.A., Nosheen A. et Sahreen S. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (25), 6017-6023.
45. **Khenaka K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée. p19, 24.
46. **Kim H.J. et Lee Y.S. (2005).** Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities. *Planta Medica*, 71, 871–876.
47. **Klejdusa B., Kopecký J., Benesová L. et Vaceka J. (2009).** Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. *Journal of chromatography A*, 1216, 763-771.
48. **Koukoulitsa E., Skaltsa H., Karioti A., Demetzos C. et Dimas K. (2005).** Bioactive sesquiterpene lactones from *Centaurea* species and their cytotoxic/cytostatic activity against human cell lines in vitro. *Planta Med.* 68 (7): 649-52.
49. **Kumar A., Singh S. P. et Bhakuni R. S. (2005).** Secondary metabolites of *chrysanthemum* genus and their biological activities. *Current science*, 89, 1489.
50. **Kwon H. S., Ha T. J., Hwang S. W., Jin Y. M., Nam S. H., Park K. H. et Yang M. S. (2006).** Cytotoxic flavonoids from the whole plants of *Chrysanthemum zawadskii* Herbieh var. *latilobum* Kitamura. *Korean Journal of Life Science*, 16, 746–749.
51. **Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus* L.). p36.
52. **Malecky M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins. thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
53. **Manallah A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée, Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
54. **Mebarki N. (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara Boumerdes. 11p.
55. **Miyazawa M., Hisama M. (2003).** Antimutagenic activity of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67, 2091–2099.

56. **Morel S (2011).** Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, n° 1031, 1-266.
57. **Nacer A., Bernard A., Boustie J. et Touzani R. (2006).** Aglycone flavonoids of *Centaurea tougourensis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds* 42(2): 230-231.
58. **Olson B.E. et Kelsey R.G. (1997).** Effect of *Centaurea maculosa* on sheep rumen microbial activity and mass in vitro. *J Chem Ecol.* 23:1131–1144.
59. **Picher M., Savane T., et Ampara T. J. (1984).** *J. Nat. Prod.*, 47, p184-185.
60. **Price M.L., Van scoyoc S., et Butler L.G. (1978).** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem*, 26: 1214-1218.
61. **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 2. Ed. CNRS, Paris France.
62. **Rakotonanahary M. (2012).** Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.
63. **Rhattas M., Allal D. et Lahcen Z. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, p9200.
64. **Ribéreau –Gayon J., Peynaud M., Ribéreau –Gayon P. et Sudraud P. (1972).** Sciences et technique du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins. Ed. Dunod, Paris, p. 671.
65. **Scalbert A., Manach C., Morand C. et Rémésy C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. p45, 287-306.
66. **Sellami S., Mezrket A. et Dahmane T. (2010).** Activité nématicide de quelques huiles essentielles 6+ contre *Meloidogyne incognita* Nematol. mediterr., 38: 195-201
67. **Sezik E., Yesilada E., Honda G., Takaishi Y., Takeda Y. et Tanaka T. (2001).** Traditional medicine in Turkey X, Folk medicine in Central Anatolia. *J Ethnopharmacol* 75, 95–115.
68. **Slinkard K., Singleton V.L. (1977).** Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1): 49-55.
69. **Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition Karthala p.22.
70. **Susanna A. et Garcia-Jacas N. (2009).** The tribe Cardueae, In: Funk VA, Susanna A, Stuessy T, Bayer R, editors, *Systematic Evolution and biogeography of the Compositae*, Vienna: IAPT pp: 293–313.
71. **Tarasov V.A., Kasymov S.Z. et Sidiyakin G.P. (1975).** The isolation of Cnicin from *Centaurea squarrosa*. *Chemistry of Natural Compounds* 9: 414.

72. **Trease E. et Evans W.C. (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall .London 13th E Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili P A et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. Balsamia* (Baume du pommier). Journal of Medicine and Science. 4(3), 179-182. Ni geria. ISSN 1682-4474.
73. **Türkoğlu A., Duru M E., Mercan N., Kivrak D. et Gezer K. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food Chemistry, 101(1):267-273.
74. **Ugur A., Duru M.E., Ceylan O., Sarac N., varol O. et Kivrak I. (2009).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Centaurea ensiformis* Hub.-Mor (Asteraceae). A species endemic to Mugla (Turkey). Nat Prod Res 23(2), 149-167.
75. **Wang H., Provan G.J. et Helliwell K. (2004).** Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. Food Chemistry, 87, 307-311.
76. **Wagenitz G.H. et Hellwig F.H. (1996).** Evolution of characters and phylogeny of the Centaureinae. In: Hind D.J.N. Beentje H.G., 1994. Compositae: Systematics. Proceedings of the international Compositae Conference, Kew, Royal Botanical Gardens Kew pp. 491-510.
77. **Wright C.W. (2002).** Artemisia. Taylor & Francis. New York.
78. **Yusuf Y. (2006).** Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.
79. **Zapesochay G.G., Ivanova S.Z., Shevchenko V.I., Tyukavkina N.A. et Medvedeva S.A. (1978).** O-acylated flavonoid glycoside of the needles of *Picea obovata*. Chemistry of Natural Compounds Volume 14 (5): 490-494.

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, cette étude a pour objet de caractériser les parties aériennes de trois plantes médicinales d'Algérie de différentes régions. L'objectif de notre travail est une contribution scientifique à la détermination de certains composés phytochimique des extraits éthanolique, l'analyse de ces extraits par les tests colorimétrique a révélé la présence de quelque groupes chimique tel que : saponosides anthraquinons libres, terpénoides, tanins (vrais et cathéchique), alcaloïdes, flavonoïdes composés phénolique et coumarines. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de *Ch. multicaule* est de l'ordre de 3.4 mgEAG/g P, tandis que celle de l'extrait de la plante *C. eriophora* de l'ordre de 2 mgEAG/g P. alors que celle de l'extrait de la plante *A. linosyris* de l'ordre 1.5mgEAG/g P. La teneur en flavonoïdes a révélé que l'extrait de *Ch. multicaule* est plus riche en flavonoïdes (51.1mgEQ/gP) que l'extrait éthanolique de *A. linosyris* qui contient 0.5mgEQ/g P, tandis que celle de l'extrait de la plante de *C. eriophora* contient une quantité faible de l'ordre 0.4mgEQ /g P. La teneur en tanins a révélé que l'extrait éthanolique de *C. eriophora* est riche en tanins (0.76mgEAT/gP) par rapport l'extrait éthanolique de *A. linosyris* qui contient 0.67mgEAT/g P, tandis que celle de *Ch. Multicaule* est 0.20 mgEAT/g P.

Tous ces résultats montrent l'importance de nos espèces et la nécessité de faire d'autre analyse et activités biologique pour bien les valoriser.

Mots clés : *C. eriophora*, *A. linosyris*, *Ch. multicaule*, dosage, polyphénols, flavonoïdes, tanins.

Abstract

Medicinal plants constitute an immense source of bioactive molecules; this study aims to characterize the aerial parts of three medicinal plants from different regions of Algeria. The objective of our work is a scientific contribution to the determination of certain phytochemical compounds of ethanolic extracts, the analysis of these extracts by colorimetric tests revealed the presence of some chemical groups such as: free anthraquinon saponosides, terpenoids, tannins, alkaloids, flavonoids, phenolic compounds and coumarins. The total polyphenol content of the ethanolic extract of *C. multicaule* is of the order of 3.4 mgEAG / g P, while that of the extract of *C. eriophora* was 2 mgEAG / g P. while that of the extract of the plant *A. linosyris* of the order 1.5mgEAG / g P. The flavonoid content revealed that the extract of *C. multicaule* is richer in flavonoids (51.1mgEQ / gP) than the ethanolic extract of *A. linosyris* which contains 0.5mgEQ / g P, while that of the extract of the plant of *C. eriophora* contains a small amount (0.4mgEQ / g P). The tannin content revealed that the ethanolic extract of *C. eriophora* is rich in tannins (0.76mgEAT / gP) compared to the ethanolic extract of *A. linosyris* which contains only 0.67mgEAT / g P, while that of *Ch. Multicaule* is 0.20 mgEAT / g P. All these results show the importance of our species and the need for further analysis and biological activities to properly value them.

Key words: *C. eriophora*, *A. linosyris*, *Ch. Multicaule*, dosage, polyphenols, flavonoids, tannins.

المخلص:

تشكل النباتات الطبية مصدرا هاما للجزيئات النشطة بيولوجيا. تهدف هذه الدراسة إلى توصيف الأجزاء الهوائية لثلاثة نباتات طبية من مناطق مختلفة من الجزائر. الهدف من عملنا هو مساهمة علمية في تحديد مركبات كيميائية نباتية معينة من المستخلصات الإيثانولية ، وقد أظهر تحليل هذه المستخلصات عن طريق الاختبارات اللونية وجود بعض المجموعات الكيميائية مثل: السابونوسيدات، الكومارين. بينت النتائج ان إجمالي محتوى البوليفينول للمستخلص الإيثانولي من *C. multicaule* هو 3.4 mgEAG/g P، بينما محتوى مستخلص *C. eriophora* كان 2 mgEAG/g P، في حين محتوى مستخلص نبات *A. linosyris* هو 1.5mgEAG/g P. نتائج معايرة الفلافونويد أظهرت أن مستخلص *Ch. multicaule* أكثر غنى بالفلافونويد 51.1mgEQ/gP من المستخلص الإيثانولي لـ *A. linosyris* الذي يحتوي فقط 0.5mgEQ/g P، في حين مستخلص *C. eriophora* يحتوي على كمية صغيرة 0.4mgEQ /g P. أظهرت نتائج معايرة التانين أن المستخلص الإيثانولي لنبات *C. eriophora* غني بها (0.76mgEAT/gP) مقارنة بالمستخلص الإيثانولي لـ *A. linosyris* الذي يحتوي فقط على 0.67mgEAT/g P، بينما يحتوي مستخلص *Ch. Multicaule* على 0.20 mgEAT/g P. كل هذه النتائج تظهر أهمية الانواع المدروسة والحاجة إلى مزيد من التحليل و تقييم الأنشطة البيولوجية لها بشكل أعمق.

الكلمات المفتاحية: *C. eriophora* ، *A. linosyris* ، *Ch. Multicaule* ، معايرة ، بوليفينول ، فلافونويد ، التانينات.