

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة المسيلة

UNIVERSITE DE M'SILA



FACULTEDES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : ANALYSES BIOCHIMIQUES

Présenté par

**Bouchareb Ouahiba**

**Thème :**

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DE**  
*Matricaria pubescens*

DEVANT LE JURY :

**BENABDALLAH Hassiba**

**MCB**

**Présidente**

**BOUBKEUR Hafsa**

**MAA**

**Encadreuse**

**GUESMIA Khoukha**

**MAA**

**Examinatrice**

**TOUMATIA Omrane**

**MAA**

**Examinateur**

*Promotion : 2013*

# Remerciement

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience et la volonté pour élaborer ce modeste travail.*

*A vous lumière de ma vie, le plus beau don de dieu, avec vous je partage le plus sacré lien spirituel et affectif : mes parents ; que dieu vous gardent*

*Tout d'abord, je désire remercier vivement madame Boubekeur.H pour son encadrement et de m'avoir soigneusement guidé et dirigé pour la réalisation de ce travail Je remercie les membres de jury M<sup>lle</sup> Benabdallah H, Mm Guessmia K et Mr Toumatia O, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Je remercie également mes collègues et mes amis pour leur amitié*

*J'aimerais exprimer mes remerciements les plus sincères aux personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de mon projet.*

*Merci à tous*



# Dédicace

*Je dédie ce travail :*

*A mon très cher père **EIMekki**, je lui dédie avec fierté ce travail qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

*À ma mère **Naiima** qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, merci maman.*

*A mes chers frères : **Mahdi, Mohsen, Mehammed**, et sœurs*

***Siham** et son petite fille **Djouri**, à **Rawya, ALgia, Mariama, Mefida** et ses enfants : **ALawa, farah, Adem** .*

*A ma tante **Bahia** pour son aide et son soutien moral*

*A mes maîtres et enseignants depuis le primaire*

*À toute ma grande famille chacun par*

*son nom*

**Liste des abréviations :**

**Aq** : aqueux

**BuOH** : n-butanol

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**DCM** : dichlorométhane

**DEE** : diethyl éther

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl

**EAc** : acétate d'éthyle

**EP** : éther de pétrole

**EtOH** : éthanol

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé

**HPLC** : Haute Pression Liquide Chromatography « Chromatographie Liquide à Haute Pression »

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**MeOH** : méthanol

**R<sub>f</sub>** : rapport frontal

**ROS** : reactifs oxygen species « espèces réactives de l'oxygène »

**UV** : ultra-violet

**µgEq AG/mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

**µgEq Q/mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

---

**Liste des figures :**

**Figure 01 :** photo de la plante *Matricaria pubescens*

**Figure 02 :** Squelette de base des flavonoïdes

**Figure 03 :** les différents types des flavonoïdes

**Figure 04 :** Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène

**Figure 05 :** Protocole de préparation de l'extrait hydroéthanolique [hydroacétonique]

**Figure 07 :** Protocole d'extraction par Soxhlet

**Figure 08 :** Forme libre et réduite du DPPH

**Figure 09 :** Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse des extraits par CCM sous  
lampe UV à 366 nm

**Figure 10 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Figure 11 :** Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits étudiés

**Figure 12 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine

**Figure 13 :** Teneurs en flavonoïdes dans les extraits étudiés

**Figure 14 :** Activité antioxydante des différents extraits éthanoliques

**Figure 15 :** Activité antioxydante des différents extraits acétoniques

**Figure 16 :** Activité antioxydante des extraits obtenus par Soxhlet et l'extrait Aqueux

**Figure 17 :** résultats de l'essai de l'activité antimicrobienne de *Matricaria pubescens*

---

**Liste des tableaux :**

**Tableau 01 :** Les principales classes de composés phénoliques

**Tableau 02 :** Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés

**Tableau 03 :** Identification des constituants des extrais selon leurs couleurs sous UV 366

**Tableau 04 :** le rendement d'extraction

**Tableau 05 :** Résultats des tests phytochimiques

**Tableau 06 :** Résultats de la séparation par CCM des extraits de *Matricaria pubescens*

**Tableau 07 :** Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extrais de la partie  
aérienne de *Matricaria pubescens*

**Tableau 08 :** IC50 des extraits de *Matricaria pubescens*.

**Tableau 09 :** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les  
différents extraits étudiés (en mm)

**Tableau 10 :** Résultats de l'activité antibactérienne de *Matricaria pubescens* obtenus par  
(Makhloufi *et al.* , 2012).

---

---

**SOMMAIRE**

Introduction .....	01
<b>Première partie : Etude bibliographique</b>	
Chapitre I : Généralité sur <i>Matricaria pubescens</i> .....	03
1.1. Définition et importance des plantes médicinales.....	03
1-2-La famille des Compositae (Asteraceae) .....	04
1-3-Le genre <i>Matricaria L.</i> .....	04
1-3-1-Principes actifs du genre <i>Matricaria</i> .....	05
1-4- <i>Matricaria pubescens</i> .....	05
1-4-1-Description botanique.....	05
1-4-2-Utilisation traditionnelles de <i>Matricaria pubescens</i> .....	06
1-4-3- Travaux antérieurs sur <i>Matricaria pubescens</i> .....	07
Chapitre II : Nature et diversité des composés phénoliques.....	08
2-1-Généralité.....	08
II-2- Les composés phénoliques.....	08
II-2-1- Les acides phénoliques .....	09
II-2-2-Les flavonoïdes .....	10
II-2-3 Les tannins .....	12
Chapitre III : Rappel sur les activités biologiques étudiés.....	14
3-1- L'activité antioxydante.....	14
3-2-L'activité antimicrobienne .....	18
<b>Deuxième partie : Étude expérimentale</b>	
Chapitre I : Matériel et méthodes.....	20
1-1- Matériel végétal .....	20
1-2- Préparation des extraits .....	20

---

---

1.2.1. Les extraits hydroéthanolique et hydroacétanique.....	20
1.2.3. Extrait de Soxhlet .....	22
1.2.4. L'extrait aqueux .....	23
1.3.Étude phytochimique.....	24
1.3.1. Analyses qualitatives.....	24
1.3.1.1. Essais de caractérisation en tubes (tests phytochimiques) .....	24
1.3.1.2. chromatographie sur couche mince .....	25
1.3.2. Analyses quantitatives.....	27
1.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	27
1.3.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
1.4. Tests des effets biologiques .....	28
1.4.1. Test d'activité antioxydante .....	28
1.4.2. Test d'activité antimicrobienne.....	29
Chapitre II : Résultats et discussion.....	31
2.1. Rendement d'extraction .....	31
2.2. Résultats de l'étude phytochimique .....	32
2.2.1. Analyses qualitatives.....	32
2.2.1.1. Les tests phytochimiques .....	32
2.2.1.2. La chromatographie sur couche mince.....	34
2.2.2. L'analyse quantitative.....	36
2.3. Résultats des tests des effets biologiques .....	40
2.3.1. L'activité antioxydante .....	40
2.3.2. L'activité antimicrobienne .....	43
Conclusion et perspectives .....	45
Références bibliographiques .....	46

---

## **Introduction**

Depuis les dernières décennies, les plantes médicinales effectuent un retour en force, s'appuyant sur des valeurs sûres, testées de longues dates par nos ancêtres. La transmission du savoir-faire, par nos anciens, s'est interrompue avec la médecine "moderne". Ainsi, les plantes médicinales constituent un trésor d'informations pour ceux et celles qui ont décidé d'aborder leurs maux quotidiens différemment, en tournant le dos à l'arsenal chimique de la médecine actuelle (Hseini et Kahouadji ,2007).

Bien que la médecine moderne soit bien développée presque partout dans le monde, une proportion non négligeable de la population dans les pays en développement compte encore sur les tradipraticiens, les plantes médicinales et les médicaments à base de plantes pour leurs soins de base. En outre, au cours des décennies passées, l'intérêt public pour les thérapies naturelles a considérablement augmenté dans les pays industrialisés, en même temps que l'utilisation des plantes médicinales et des médicaments à base de plantes (OMS, 1998).

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels...)(Penchev ,2010).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection contre l'oxydation.

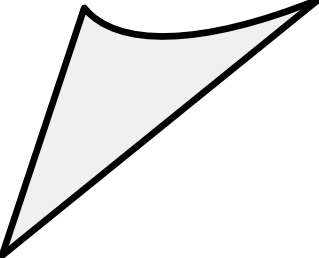
Ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits bruts d'une plante du Sahara appartenant à la famille des Compositae, *Matricaria pubescens*. Cette famille, largement distribuée dans le règne végétal est une source de métabolites secondaires variés, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les terpenoïdes, ce qui nous encourage de choisir cette plante en plus du manque des études sur elle.

Notre travail sera réparti en deux parties :

- Ø une partie relative à l'étude bibliographique de la plante, *Matricaria pubescens*, des composés phénoliques principales « les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins » et des activités recherchées « l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne ».
- Ø Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

*Première partie*

*Étude  
bibliographique*



*Deuxième partie*  
*Étude*  
*expérimentale*

# *Chapitre I*

*Généralité sur  
Matricaria pubescens*

# *Chapitre II*

*Nature et diversité des  
composés phénoliques*

# *Chapitre III*

*Rappel sur les activités  
biologiques étudiés*

# *Chapitre I*

## *Matériel et méthodes*

# *Chapitre II*

*Résultats et discussion*



*Conclusion*



# ***Introduction***

## Chapitre I : Généralité sur *Matricaria pubescens*

### 1.1. Définition et importance des plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En effet il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986).

L'utilisation des végétaux par l'homme se confond avec l'histoire même de l'humanité, à la fois à des fins alimentaires (pour son alimentation et ultérieurement celle des animaux qu'il progressivement domestique), de protection (celle de ses abris et pour ses propre vêtements), énergétiques (feu, énergie fossiles) et de lutte contre la maladie par les constituants chimiques des végétaux (Macheix *et al.*, 2005).

Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal. Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, voire l'unique recours de la tradition orale pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne (Jean et Jiri, 1983). L'utilisation des plantes médicinales ou- phytothérapie- est à la fois la plus ancienne et la plus moderne des thérapeutiques qui soit environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus important éventail de biodiversité utilisée par les êtres humains (Elqaj *et al.*, 2007).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique, 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 les principes actifs sont étudiés depuis une vingtaine d'années (Djebaili ,1984).

## 1.2. La famille des Compositae (Asteraceae)

La famille des Compositae est l'une des plus distribuées dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 1000 genres et 23000 espèces (Gaussen et Leroy, 1982 ; Bruce et Tod, 2001). En Algérie elle renferme 408 espèces réparties en 109 genres (Quezel et Santa, 1963). Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires : Laitues (*Lactuca*), Chicorée (*Cichorium*), Artichauts (*Cynara*), Salsifis (*Tragopogon*). Le tournesol (*Helianthus annuus*) est cultivé pour son huile riche en acides gras. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Le Semen-contra (*Artemisia cina Berg*) comme vermifuge, l'Arnica (*Arnica montana L.*) pour leurs propriétés vulnérinaires, la Chamomille (*Matricaria chamomilla L.* et *Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antennaria dioica gartn*) (Guignard, 1994).

Une des propriétés typiques de la famille des Compositae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes et des alcaloïdes. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représentent des principes amers typiques de cette famille (Harborne et Swain, 1969), et en flavonoïdes principalement les flavones, les flavonols, les flavanones et les dihydroflavonols (Bruce et Tod, 2001).

C'est une famille répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées et froides du globe (Paris et Moysse, 1971), ce sont principalement des herbes, vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plantes aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales (Paulian, 1967).

Les fruits sont des achaines, c'est-à-dire des fruits secs, indéhiscents et contenant chacun une seule graine (Ozenda, 2004).

Les Compositae sont réparties en fonction de la forme de leurs fleurs en deux types : l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées (Gaussen et Leroy, 1982). Le genre *Matricaria* appartient à ce dernier type (Benkiki, 2006).

## 1.3. Le genre *Matricaria L.*

Le genre *Matricaria* renferme des espèces à réceptacle fortement conique à maturité. Feuilles en lanières filiformes, odorantes, de capitules soit hétérogames et radiés à fleurs marginales femelles ou neutres et les centrales hermaphrodites, soit homogames et discoïdes à fleurs toutes hermaphrodites. Involucre à bractées le plus souvent sur deux rangs. Réceptacle convexe ou conique et nu. Akènes homomorphes, munis ou non d'une collerette (Quezel et Santa 1963).

### 1.3.1. Principes actifs du genre *Matricaria*

A l'exception des alcaloïdes, les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des Compositae (Benkiki, 2006). Ces dernières, lors des études ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence, au cours des études chimiques sur les Compositae, différents types de composés chimiques (Guignard *et al.*, 1985) :

§ Coumarines

§ Flavonoïdes

§ Terpènes

§ Hétérosides

§ Sesquiterpènes lactones

## 1.4. *Matricaria pubescens*

### 1.4.1. Description botanique

*Matricaria pubescens* est une petite plante, de 10 à 20 cm, rarement de 40 cm. (Makhloufi *et al.*, 2012), à tiges couchées puis redressées, nombreuses, en touffes, à feuilles découpées velues et d'un vert sombre; involucre à bractées ayant une marge membraneuse large, fleurs toutes en tubes; achaines surmonté d'une écaille membraneuse plus longue que lui, rejetées sur un côté et ayant l'aspect d'une ligule; commun dans tout le Sahara septentrional et central. C'est une espèce endémique très connue en Afrique du Nord (Ozenda, 2004).

C'est une plante pubescente à racine de 5-15 cm, à tiges décombantes, feuilles pubescentes et pinnatifides, capitules très petits (5 à 7 mm de diamètre), pédoncules non épaissis au sommet, bractées de l'involucre amplement scarieuses-lacérées tout autour. Akènes jaunâtres, munis d'une collerette déjetée sur le côté et aussi longue qu'eux, triangulaires et à faces courbes (face antérieure convexe, deux faces latérales concaves), lisses, pâturages steppiques et désertiques (Quezel et Santa, 1963)

Ø **Synonymes** : -*Chlamydophora pubescens*

-*Cotula pubescens*

Ø **Noms vernaculaires** : -Ghartoufa

- Filia

- Ouazouza

Ø **Anglais** : Hairy camomile

Ø **Français** : Camomille pubescente

#### I.4.2. Classification taxonomique de *Matricaria pubescens* (Benkiki ,2006)

<b>Embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe :</b>	Gamopétales
<b>Ordre :</b>	Astérales
<b>Famille :</b>	Compositae
<b>Genre :</b>	<i>Matricaria</i>
<b>Espèce :</b>	<i>pubescens</i>



**Figure 01 :** photo de la plante *Matricaria pubescens*

#### 1.4.2. Utilisation traditionnelles de *Matricaria pubescences* :

*Matricaria pubescens* se prépare par infusion, décoction, macération et inhalation (Ould el hadj *et al.*, 2003), ou utilisé en poudre, elle a des propriétés antiseptiques, utilisé pour les troubles gastro-intestinales et les Calculs biliaires, les tiges et les feuilles broyées sont utilisées comme un filtre pour le beurre de chèvre et pour le parfumer et conserver, elle est aussi additionnée à les aliments traditionnelle et donnée une très bonne odeur (Makhloufi *et al.*,2012 ; Bellakhdar J, 1997).

Elle est utilisés aussi pour le traitement de : dysménorrhée, toux, affections oculaires, maux de rein (Ould el hadj *et al.*, 2003), rhumatismes, courbatures, déshydratation, dentition, affection oculaires, allergies, piqure de scorpions (Maiza *et al.*, 1993).

#### 1.4.4. Travaux antérieures sur *Matricaria pubescens*

Des travaux réalisés sur l'espèce *Matricaria pubescens* ont permis d'isoler des métabolites secondaires divers et mis en évidence leurs activités :

Øles travaux de Makhloufi et ses collaborateurs (2012) ont montré la présence des phénols, des tannins, des glycosides, des saponosides, des flavonoïdes et des stéroïdes, et l'absence des alcaloïdes et des quinone et permis de mettre en évidence la grande activité antibactérienne des extraits brutes(aqueuse et éthanolique) comparativement avec l'activité des huiles essentiel.

Øles travaux de Gherboudj ses collaborateurs ont pu isoler et identifier à partir des extraits du *Matricaria pubescens* quelque flavonoïdes : apigénine, luteoline , quercétine, apigénine 7-O-glucoside, luteoline 7-O-glucoside et quercétine 3-O-glucoside, et des coumarines :

herniarin, 3, 4- dehydroherniarin, et un isobutylamide :(2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadieneisobutylamide.

ØBenkiki (2006) a révélé la présence de deux coumarines : Herniarine, Dihydroherniarine et d'un isobutylamide : (2E, 4E)-6-(2-thienyl)-2,4- hexadien-isobutylamide.

## Chapitre II : Nature et diversité des composés phénoliques

### 2.1. Généralité

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à coté des métabolites primaires classiques (glucides, protides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits «secondaires» dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc. (Macheix *et al.*, 2005).

### 2.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un large groupe de métabolites secondaires constituants des plantes, ils sont des alcools aromatiques où une ou plusieurs groupements hydroxyle est toujours attaché à un ou plusieurs cycles benzéniques (Andrew, 2004 ; Macheix *et al.*, 2005 ). Ce sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles telles que l'amertume et l'astringence (Macheix *et al.*, 2005; Pincemaila *et al.*, 2007). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau 01) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.), et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (Macheix *et al.*, 2005).

**Tableau 01** : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix *et al.* , 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	origine
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins		Raisin rouge, Kaki

### 2.2.1. Les acides phénoliques

#### Ø Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (les hydroxybenzoïques)

Les acides hydroxybenzoïques (*p*-hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique...) sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (Macheix *et al.* , 2005). Ils sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. l'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables (Brunton ,1999).

#### Ø Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique(les hydroxycinnamiques)

Les acides hydroxycinnamiques (l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique ...) représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérivée de celle de l'acide cinnamique (Brunton ,1999 ; Macheix *et al.*, 2005). les autres (ex :acide2-coumarique) sont peu fréquents (Brunton, 1999).

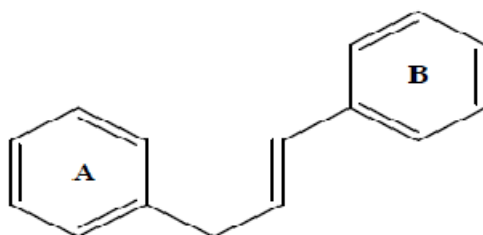
### 2.2.2. Les flavonoïdes

Le mot «flavonoïde» a été introduit en 1952 par Hinreier (Macheix *et al.*, 2005) pour désigner tous les pigments ayant un squelette C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, lui-même dérivant du Latin *flavus* qui signifie jaune (Andrew,2004 ; Macheix *et al.* , 2005 ).

Ils sont des pigments quasiment universels des végétaux presque toujours hydrosolubles, ils constituent les pigment les plus communs des plantes après la chlorophylle et les caroténoïdes (Andrew,2004), ils sont responsables de la coloration des fleurs ,des fruits et par fois des feuilles, tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones ,aurons ,flavonols jaunes), des anthocyanosides rouges , bleus ou violet . Quant ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à coloration par leur rôle de co-pigments: tel est le cas des flavones et des flavonols incolores co-pigments et protégeant les anthocyanosides . Dans certains cas la zone d'absorption de la molécules est située dans la proche ultraviolet: la «coloration» n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transports du pollen, condition de la survie de l'espèce végétale. Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (Bruneton, 1999).

#### A .Classification des flavonoïdes selon la composition chimique

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone (figure 02) (Bruneton, 1999).



**Figure 02** : Squelette de base des flavonoïdes

Ils ont tous en commun la structure de la flavane, 3 cycles dont un hétérocycle dont la configuration variée permet la classification en sous groupes (figure 03) : flavones, flavanones, flavonols, flavanols, flavanediols, et chalcone. L'hétérocycle est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des diverses flavonoïdes. Le noyau flavonoïde est souvent lié à un sucre pour former un glycoside hydrosoluble (Harborne et Baxter, 1999).

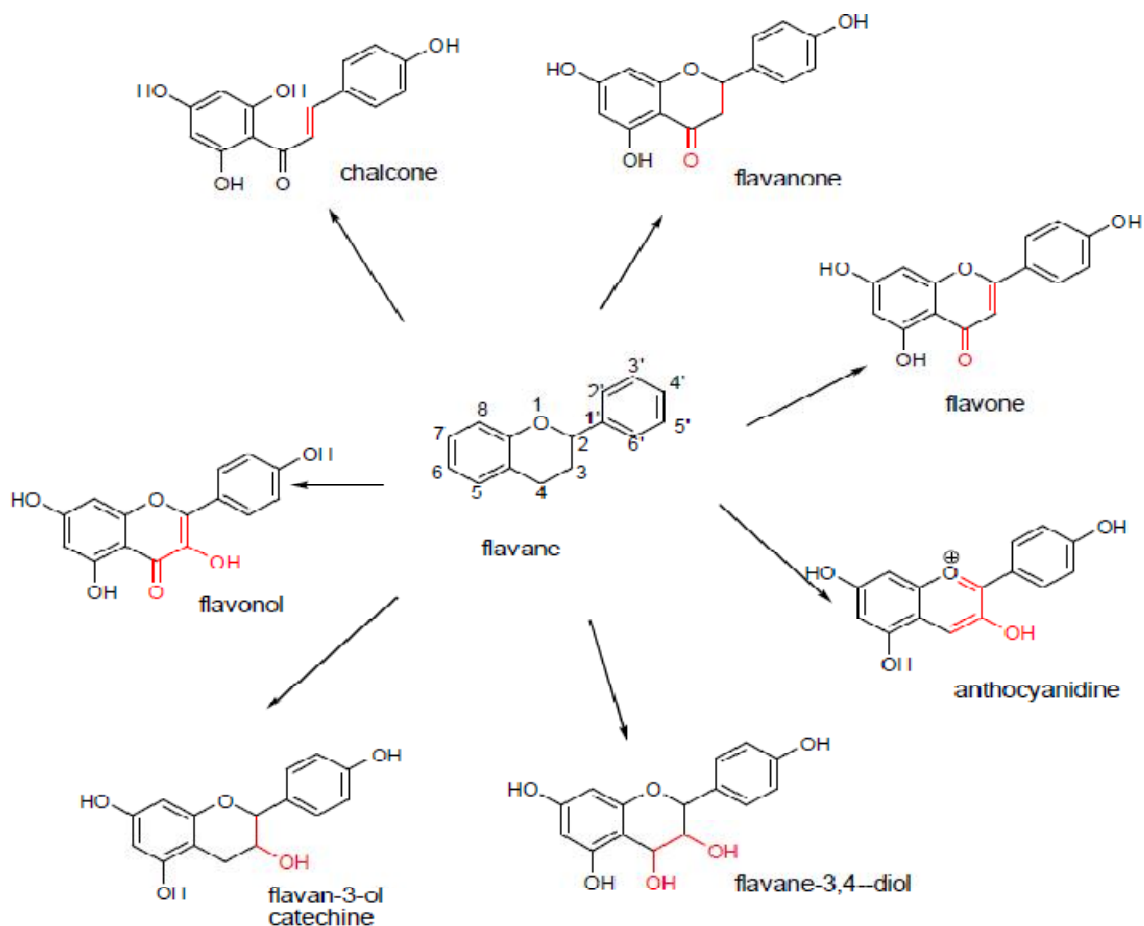


Figure 03 : Les différents types des flavonoïdes (Boutiti, 2010).

### B. Caractérisation et extraction de flavonoïdes

▼ Les flavonoïdes lipophiles des tissus superficiels des feuilles (et des frondes) sont directement extraits par des solvants moyennes polaires (dichlorométhane); il faut ensuite les séparer des cires et des graisses extraits simultanément (en peut certes laver d’abord l’hexane, mais la sélectivité de ce solvant n’est pas absolue) (Bruneton, 1999).

▼ Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l’acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés de l’eau (20% à 50 % selon que la drogue est fraîche ou sèche) (Bruneton, 1999).

▼ La séparation et la purification des différents flavonoïdes sont fondées sur les techniques habituelles (sur polyamide, sur cellulose...) comme la plupart des autres métabolites secondaires, l’HPLC a pris une place de choix dans l’arsenal des techniques d’isolement des hétérosides flavonoïdiques. Dans l’extrait brut, l’étude préliminaire de ces extraits est, classiquement, dominée par une analyse en CCM (Bruneton, 1999).

▼ Les méthodes de dosage classiques sont, le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques, l’HPLC offre maintenant la possibilité d’une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes présents dans un drogue, elle est donc largement utilisée (Bruneton, 1999).

### C. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes

▼L'activité antioxydante des aliments d'origine végétale est attribuée à la présence des nutriments antioxydants, spécialement les vitamines antioxydantes telles que les vitamines A, C et E, le  $\beta$ -carotène et liée aussi à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes (Fokou *et al.*, 2008).

▼Plusieurs études publiés récemment afferment que les hydroxyflavones ont des propriétés antioxydantes similaires à la vitamine C. En effet, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires connues par leurs excellentes propriétés antioxydantes, de plus des autres propriétés biologiques (Kokoska et Janovska, 2009).

▼Les flavonoïdes peuvent être intéressants puisque quelques uns d'entre eux sont utilisés en pharmacie pour leurs effets anti-inflammatoires et antispasmodiques ou en cosmétologie (Harborne et Baxter ,1999)

▼De nombreuses études épidémiologiques et expérimentales récentes sur l'homme et l'animal suggèrent que les composés flavoniques très abondants dans les plantes médicinales et alimentaires pourraient jouer un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers, vu leurs pouvoir antioxydants puissants et leurs capacité d'activer les mécanismes naturels de défense anti cancéreuse (Johnson, 1999; Nicoli ,1999).

▼Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leurs actions se situent au niveau de petites veines ou de capillaires (on a une diminution de la perméabilité et augmentation de la résistance des capillaires). Ce sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires (Johnson, 1999).

#### 2.2.3. Les tanins

Wole et Waterman (1987) ont défini les tanins comme des produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses (Bruneton, 1999).

On distingue des tanins galliques ou éllagiques qui sont des esters de l'acide gallique et du glucose. Ce sont des composés hydrolysables et des tanins catéchiques ou tanins condensés non hydrolysables. Chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différent par leur structure aussi bien par leur origine biogénétique :

§**Les tannins hydrolysables** : ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol.

§**Les tanins condensés** : ce sont des polymères flavaniques. ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbonées carbonées. les tanins condensés ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux (Bruneton, 1999).

### ØPropriétés des tanins

Les tannins utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux (Macheix *et al.*, 2005). L'importance des drogues à tanins est liée à leur propriété tannante c'est-à-dire à la propriété qu'ils ont de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible (Bruneton, 1999).

Les propriétés biologiques des tanins sont principalement liées à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. C'est pourquoi ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits. Ils font également partie des formulations des agents de conservation du bois (Rira, 2006).

Les tanins forment avec les métaux lourds, et notamment les sels de fer, des précipités de couleur très foncée : noirs, bruns, bleus sombres, utilisés pour cette raison dans la fabrication de certaines encres. Ils sont également utilisés comme coagulants dans le caoutchouc (Rira, 2006).

En solutions alcooliques, ils donnent avec le chlorure ferrique, très dilué, une coloration bleue (tanins galliques) ou verte (tanins catéchiques) (Rira, 2006).

Les tanins sont caractérisées les sels ferriques où les tanins galliques et ellagiques donnent des colorations et des précipitations bleu-noir et les tanins condensés des précipité brun verdâtre. Les tanins galliques donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium. Les tanins ellagiques sont colorés par l'acide nitreux en milieu acétique et les tanins condensés sont colorés en rouge par la vinilline chlorhydrique (Bruneton, 1999).

### ØExtraction des tanins

Les tanins se dissolvent dans l'eau sous forme de solution colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente), ils sont solubles dans les alcools et l'acétone. Les meilleures méthodes pour détecter et doser les tanins celles qui visent à évaluer leurs capacités spécifiques à précipiter les protéines. L'extraction des tanins est réalisée par un mélange d'eau et d'acétone (Bruneton, 1999).

## Chapitre III : Rappel sur les activités biologiques étudiés

### 3.1. L'activité antioxydante

#### 3.1.1. Généralité

L'oxydation est un processus essentiel pour plusieurs organismes vivants à la production d'énergie nécessaire aux processus biologiques. Mais les radicaux libres de l'oxygène et autre espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont continuellement, produits *in vivo*, conduisent à la mort cellulaire et endommagent les tissus (Subramanion *et al.*, 2011).

Il y a quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est préoccupé par un nouveau concept, le stress oxydant c'est-à-dire une situation où la cellule ne contrôle pas la présence excessive des radicaux libres toxiques (Favier, 2003).

#### 3.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les ROS sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante [anion peroxyde ( $O_2^{2-}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peroxyde d'azote ( $ONOO^-$ )] et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron célibataire - non apparié) [anion superoxyde ( $O_2^-$ ), radical hydroxyle ( $HO^\cdot$ ), monoxyde d'azote ( $NO^\cdot$ ) ...] (Novelli, 1997). Le stress oxydant semble être impliqué dans de multiples maladies telles que le cancer, les maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. (Ojeil *et al.*, 2010).

L'organisme produit quotidiennement des ROS appelé les radicaux libres (Pincemail *et al.*, 2001), qui sont des composants fortement réactifs avec un nombre impair des électrons (Favier, 2003). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxyde ( $ROO^\cdot$ ), Radical alkoxyde ( $RO^\cdot$ )], se forment par réaction de ces radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule (lipides, protéines, glucides...) (Novelli, 1997).

La surproduction des radicaux libres peut être nocive pour l'organisme, elle endommage divers composants cellulaires y compris les protéines, les lipides ou l'ADN (Favier, 2003).

### 3.1.3. Les sources de radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées: la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux lourds (chrome, cuivre) (Favier 2003).

De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95% dans les mitochondries ("centrale énergétique de la cellule") par voie enzymatique en molécule non toxique comme H<sub>2</sub>O. Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et formé une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiqué précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle HO<sup>•</sup> (Mabile, 1997)(figure 04).

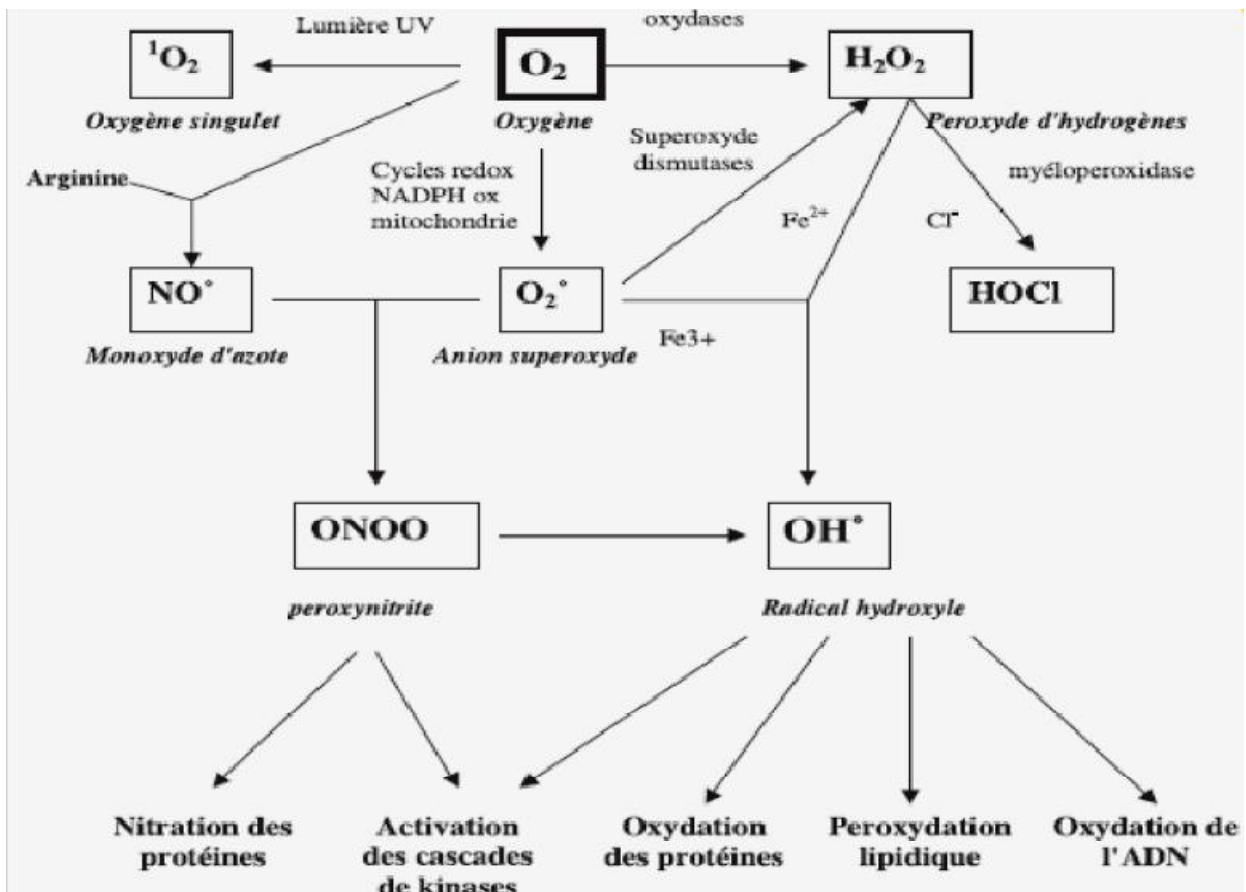


Figure 04 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003)

### 3.1.4. Les antioxydants

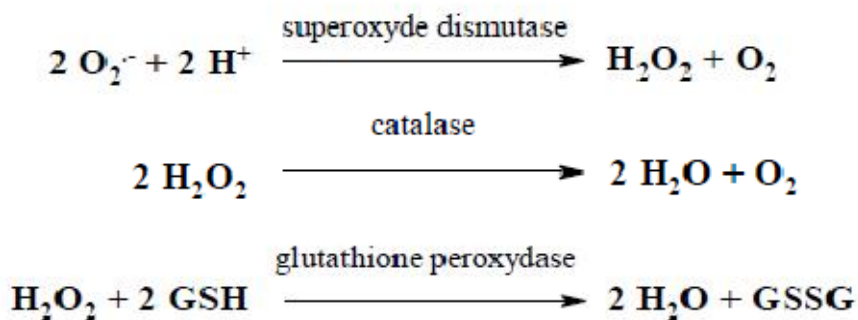
Un antioxydant est une molécule peut diminuer ou empêcher l'oxydation des autres substances chimiques, il joue un rôle très important comme un protecteur de santé. Les scientifiques suggèrent que les antioxydants réduisent le risque des maladies chroniques tel que le cancer et les maladies cardiaques. La principale caractéristique d'un antioxydant est leur capacité de piéger les radicaux libres. Les antioxydants comme les acides phénoliques et les flavonoïdes piègent les radicaux libres ainsi les mécanismes oxydatifs qui conduisent à des maladies dégénératives (Harborne and Williams, 2000).

L'action protectrice des aliments d'origine végétale est attribuée à la présence des nutriments antioxydants, spécialement les vitamines antioxydantes telles que les vitamines A, C et E, le  $\beta$ -carotène. Toutefois, l'activité antioxydante est aussi liée à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes (les isoflavones, flavones, anthocyanes) et à la présence de certains minéraux (sélénium, zinc) qui renforcent l'efficacité du système antioxydant (Fokou *et al.*, 2008).

#### Ø Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent notamment la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

## Ø Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les composés phénoliques, ...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Kohen et Nyska, 2002).

Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygènes en particulier les radicaux peroxydes ( $\text{ROO}^\cdot$ ), alkoxyles ( $\text{RO}^\cdot$ ), superoxydes ( $\text{O}_2^\cdot$ ) et les hydroxyles ( $\text{OH}^\cdot$ ) (Min et Ebeler, 2008).

### 3.1.5. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants/Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal, 2002).

Le stress oxydant est responsable du dommage cellulaire lié au vieillissement, aux maladies cardio-vasculaires, au cancer et à la plupart des maladies dégénératives. Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

## **3.2. Activité antimicrobienne**

### **3.2.1. Généralité**

Biens que des nombreux micro-organismes soient bénéfiques et nécessaires à l'être humain (à la production du pain, du fromage, des antibiotiques, des vaccins, des vitamines, des enzymes et de beaucoup d'autres produits importants). Ils provoquent aussi des problèmes aux hommes et à la société telle que la détérioration des nourritures et la maladie (Prescott *et al.*, 2003).

Les maladies causées par les bactéries sont considérés comme une majeure cause de mortalité et morbidité dans le monde. L'apparition de la résistance des microorganismes ouvre la voie à l'occurrence des infections traitées uniquement par un nombre limité d'agent antimicrobien. L'émergence de la résistance des bactéries Gram négatif représente un défi la thérapie l'antimicrobienne des maladies infectieuses et augmente la mortalité et la morbidité. la résistance aux agents antimicrobien est un problème médicale à la santé public, socioéconomique, et même implications politiques (Abdel massih *et al.*, 2010).

### **3.3.2. Les principales substances antimicrobiennes**

Le contrôle des micro-organismes est essentiel à la prévention et au traitement des maladies; on utilise ordinairement la chaleur et d'autres agents physiques (les basses températures, les radiations, la filtration) mais on emploie en plus des produits chimiques (les composés phénoliques, les alcools, les halogènes...) (Prescott *et al.*, 2003). L'utilisation des agents chimiothérapeutiques qui sont des composés chimiques ou de synthèse inhibent le développement des microorganismes. Ces composés agissent en faible dose et exercent une action très spécifique sur le fonctionnement cellulaire. Il existe actuellement deux grandes catégories d'agents chimiothérapeutiques antibactériennes, ils ont un mode d'action comparable et se distinguent principalement par leur origine : les sulfamides sont des produits de synthèse et les antibiotiques beaucoup sont d'origine naturel (les plus anciens) d'autre de synthèse ou hémisynthèse (Singleton, 2005).

#### **Ø Les antibiotiques**

À l'origine, le mots « antibiotique » désigne tout produit microbien qui, même à de très faibles concentrations, inhibe ou tue certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclus , en outre, toutes substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés (Singleton, 2005). Il s'agit de substance antimicrobienne, d'origine naturelle préparée par fermentation de diverses souches de micro-organismes. Cependant, les dérivés d'hémisynthèse ou de synthèse total ont également cette activité et peuvent prés caractéristiques thérapeutiques améliorées (Serg, 1996)

Outre, il y a des substances naturelles qui ont une activité antimicrobienne notable tel que :

#### **Ø Les polyphénols**

Notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

#### **Ø Les huiles essentielles**

Qui sont toujours utilisées comme substances aromatisantes et parfumantes en parfumerie, industries alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire (Baudoux, 2000). Différentes études récentes ont confirmé, *in vitro*, l'activité antimicrobienne de diverses huiles essentielles (Hili *et al.*, 1997).

### **3.2 .3. Les bactéries étudiées**

-*Escherichia coli* : (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (Avril *et al.*, 1992).

-*Staphylococcus aureus* : Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. L'espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Avril *et al.*, 1992).

## Chapitre I : matériel et méthodes

### 1.1. Matériel végétal

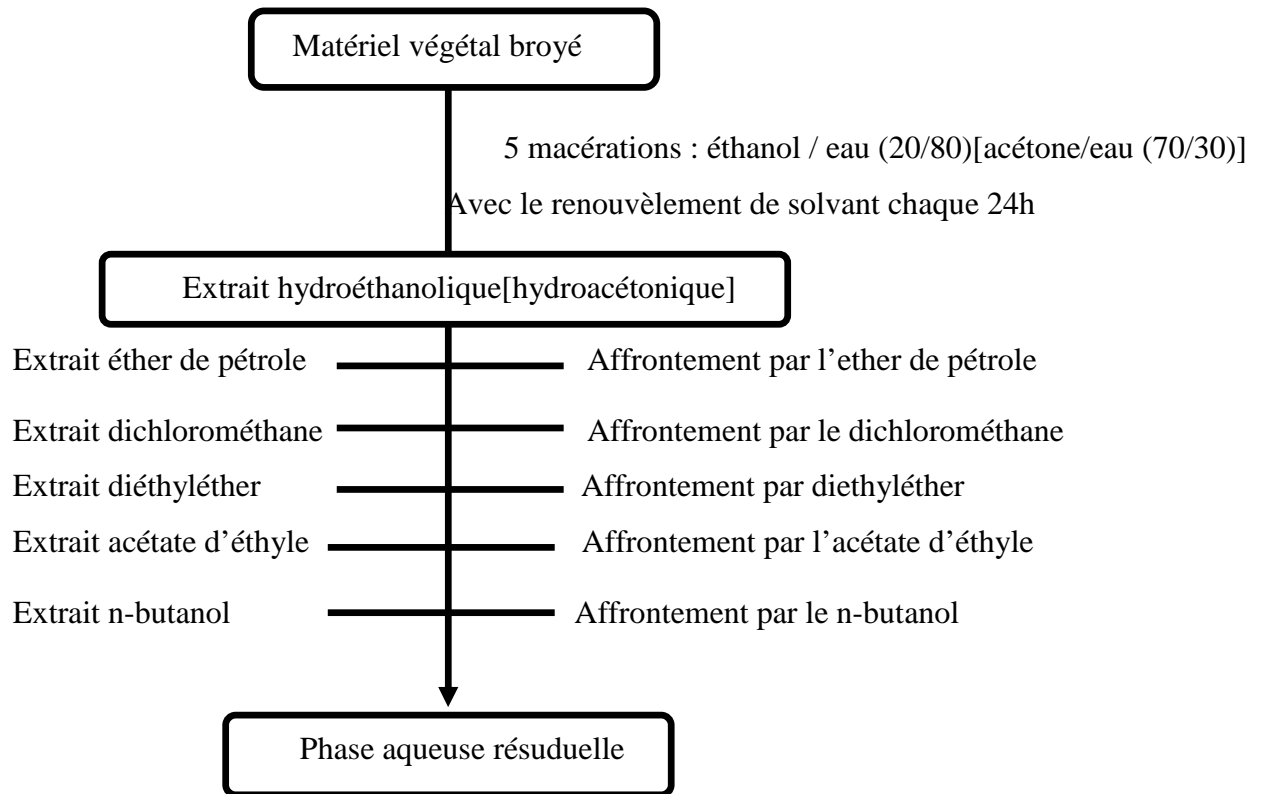
La plante *Matricaria pubescens* a été récoltée durant le mois d'Avril 2012, de la région de Bechar du sud Algérien. La plante a été séchée pendant plusieurs jours à l'air libre, mais à l'abri de la lumière directe du soleil.

### 1.2. Préparation des extraits

#### 1.2.1. Les extraits hydroéthanolique et hydroacétonique :

La partie aérienne de la plante *Matricaria pubescens* préalablement nettoyée et broyée est mise à macération dans un mélange éthanol/eau (20:80 V/V) [acétone /eau (70 :30)]. Cette macération est répétée 5 fois en renouvelant le solvant chaque 24 h, Les macérats hydroéthanolique sont réunies et filtrées ; puis évaporées presque à sec sous pression réduite par l'évaporateur rotatif (BÜCHI) à une température inférieure à 50°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sirupeux sec, L'extrait obtenu a été ensuite mis en suspension dans de l'eau distillée et soumis à une extraction liquide-liquide, en utilisant cinq solvants à polarité croissante : éther de pétrole (EP), dichlorométhane (DCM), diethyl éther (DEE), acétate d'éthyle (EAc) et n-butanol (BuOH). Cette étape se repose sur la spécificité et la polarité des solvants organiques vis-à-vis les molécules polyphénoliques séparées contenant dans le résidu obtenu.

Après évaporation à sec les différentes phases ont été reprise par du méthanol à fin d'effectuer les analyses phytochimiques. La figure 05 illustre les étapes suivies dans cette extraction.



**Figure 05** : protocole de préparation de l'extrait hydroéthanolique [hydroacétonique]

**Tableau 02** : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés.

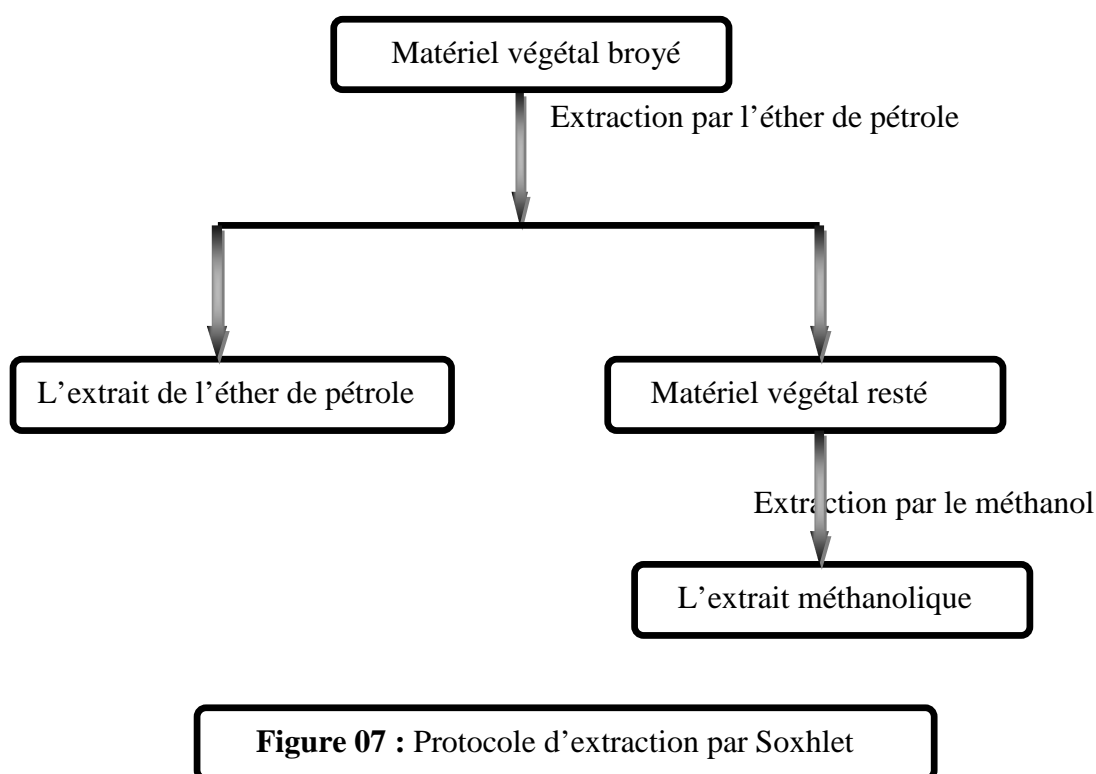
Extraits	Constituants probables	référence
EP	Cires, chlorophylle, lipides, acides gras, stéroïls, triterpènes, caroténoïdes, huiles essentielles, flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, coumarines.	(Ciulei, 1982)
DCM	Terpénoïdes, polyphénols aglycones (flavonoïdes, coumarines, tanins, anthracenosides), chlorophylle	(Ciulei, 1982)
DEE	<ul style="list-style-type: none"> <li>•pour les extraits éthanoliques : les composés phénoliques simples tels que les acides phénols et les flavones lipophiles.</li> <li>•Pour les extraits acétoniques : les tannins monomériques.</li> </ul>	(Akroum, 2006)
AcE	<ul style="list-style-type: none"> <li>•pour les extraits éthanoliques : flavonoides aglycones, les mono-Oglycosides et partiellement les di-O-glycosides</li> <li>•Pour les extraits acétoniques : les tannins dimériques</li> </ul>	(Akroum, 2006)
BuOH	les tannins trimériques, oligomériques et une partie des polymériques.	(Akroum, 2006)
Aq	Flavonoïdes, aminoacides, terpènes, cires, tanins.	(Ciulei, 1981).
MeOH	Flavonoïdes et coumarines glycosylés, flavonoïdes sulfatés, alcaloïdes, acides aminés, tanins, acides phénoliques, triterpènes et stéroïls glycosylés.	(Ciulei, 1981)

### 1.2.3. Extrait de Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est l'une des plus simples et la plus répandue des méthodes d'extraction de matières végétales. Elle est aussi la plus ancienne des méthodes puisque son invention date de 1879 par Franz Von Soxhlet. L'extraction par l'appareil Soxhlet est une méthode nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée. Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc... (Penchev, 2010).

## ØProtocole

Un échantillon de 20 g de la plante *Matricaria pubescens* mise dans la cartouche du Soxhlet. Le solvant est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction, deux solvants sont utilisés pour l'extraction l'éther de pétrole puis le méthanol. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide. Le temps de traitement est différent selon le solvant, souvent plus de 3 heures (après environ six cycles de solvants dans l'extracteur Soxhlet). Les deux extraits obtenus sont ensuite traités à l'aide de l'évaporateur rotatif pour éliminer les solvants et les résidus ont été repris par du méthanol à fin d'effectuer les analyses phytochimiques, La figure 07 illustre les étapes suivies dans cette extraction.



### 1.2.4. L'extrait aqueux

L'extrait aqueux de *Matricaria pubescens* est préparé par l'infusion de 10 g de la matière végétale dans 200 ml de l'eau distillée bouilli pendant 15 à 20 min, et laissé refroidir puis filtrer (Sqalli *et al.*, 2007; Loubaki *et al.*, 1999). L'infusé est évaporé presque à sec sous pression réduite par l'évaporateur rotatif (BÜCHI), l'extrait a été repris par du méthanol à fin d'effectuer les analyses phytochimiques.

### 1.3. Étude phytochimique

#### 1.3.1. Analyses qualitatives

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes phénoliques (polyphénols, flavonoïdes) dans la plante. Les essais de caractérisation en tube permettent une recherche grossière des composants chimiques ; les résultats peuvent être difficilement interprétables. La CCM et l'HPLC confirme les tests en tube.

##### 1.3.1.1. Essais de caractérisation en tubes (tests phytochimiques)

###### ØDétection des polyphénols

Dix gramme de poudre sont mit à infuser dans 100 ml d'eau bouillant pendant 15 min. le filtrat est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. En suite quelque gouttes d 'HCl sont ajoutées à 5 ml d'infuser, la réaction donne une coloration rouge en présence de polyphénols (Bidie *et al.*, 2011).

###### ØDétection des flavonoïdes

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide appelé " réaction de Shinoda" (Lock *et al.*, 2006). Le test consiste à ajouter à 5 ml de l'infusé, quelques gouttes d'HCl, et environ 0,5g de magnésium. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur. La présence de flavonoïdes est confirmée par la coloration rouge, orangée, rosée ou rouge violacé.

###### Ødétection des anthocyanes

02 ml d'infusé sont prélevés, aux quels sont ajoutes quelque gouttes d'HCl, puis quelque gouttes d'ammoniaque, La présence des anthocyanes est confirmée par la coloration bleu, bleu noirâtre.

###### ØDétection des tannins

2 ml d'infusé sont prélevés, aux quels sont ajoutes quelque gouttes de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1%. la coloration ou la précipitation confirme la présence des tannins.

###### ØDétection des coumarines

Un gramme de poudre végétale est placé dans un tube, on l'additionne quelque gouttes d'eau, le tube est recouvre de papier imbibé de NaOH dilué, puis porté à l'ébullition. Toute fluorescence jaune indique la présence des coumarines après l'examen sous l'UV.

## ØDétection des saponines

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml d'extrait aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes, puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Bidie *et al.*, 2011).

### 1.3.1.2.chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique permet de séparer des molécules organiques (Voet, 2002), c'est une méthode sensible, de faible coût, pouvant être automatisée (Voet, 2002 ; Rouessac *et al.*, 2004), sachant aussi qu'il est possible de mener plusieurs séparations en parallèle ( Rouessac *et al.*, 2004)

## ØMise en évidence de la chromatographie sur couche mince (CCM)

La séparation par chromatographie planaire des constituants de l'échantillon est réalisée sur une fine couche (100–200 µm) de phase stationnaire, généralement à base de gel de silice, déposée sur une plaque rectangulaire de verre, de plastique ou d'aluminium (Voet, 2002 ; Rouessac *et al.*, 2004). La séparation entre phases se fait selon les étapes suivantes :

### §Choix de la phase mobile (systèmes solvants appropriés)

#### -Systèmes solvants essayés :

- Hexane /éther diéthylique (1/1)
- Acétate d'éthyle/méthanol/acide formique /eau (1/0 ,5/ 0,5/ 1)
- chloroforme /méthanol (6 /1)
- Acétate d'éthyle/méthanol /eau (8,5/1,5/1)

On a retenu celui ayant donnés les meilleures séparations : Acétate d'éthyle/méthanol /eau (7,5/1,5/1)

### §Dépôt de l'échantillon

On commence par déposer un petit volume (compris entre quelques nanolitres et plusieurs microlitres) de l'échantillon en solution diluée, à proximité du bord inférieur de la plaque sous forme d'une tache de 1 à 3 mm de diamètre.

La plaque ainsi préparée est introduite dans une cuve spéciale munie d'un couvercle, au fond de laquelle se trouve un peu de la phase mobile servant d'éluant (Rouessac *et al.*, 2004).

### §Développement de la plaque

La phase mobile migre par capillarité à travers la phase stationnaire sèche, entraînant à des vitesses différentes les constituants à séparer. Quand le front de solvant a parcouru une distance considérée comme suffisante (quelques centimètres), on retire la plaque de la cuve, on repère la position limite atteinte par la phase mobile et on évapore cette dernière (Rouessac *et al.*, 2004).

### §Révélation post-chromatographique

La localisation des composés après migration se fait sur la plaque débarrassée de l'éluant. Les composés qui donnent des taches invisibles doivent être révélés ( Rouessac *et al.*, 2004) : principalement à l'aide d'une lampe UV pour la révélation des produits absorbant la lumière UV ou avec l'iode (Buorguent et Augéc, 2008).

### ØMéthode

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice 0,25 mm d'épaisseur) déposées sur feuille d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques préparées, on a déposé quelque microlitre de chaque extrait et les plaques sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée. Dans notre cas le système solvant utilisé est : Acétate d'éthyle/méthanol /eau (7,5/1,5/1).

Après développement, les plaques CCM sont séchées, observées sous lampe UV à 365 nm, à fin de révéler les spots issus de la séparation.

La valeur du  $R_f$  est définie comme suit :

$$R_f = D_i / D_s$$

Où :  $D_i$  : Distance entre l'origine et la tâche du produit après élution.

$D_s$  : Distance entre l'origine et le font du solvant après élution.

Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV, par son rapport frontal ( $R_f$ ) et par sa couleur.

**Tableau 03 : Identification des constituants des extraits selon leurs couleurs sous UV 366**(N'Guessan *et al.*, 2011).

Couleurs sous UV 366 nm	Groupes de composés identifiés
Jaune, jaune-vert	Stérols
Rouge	Triterpènes
Jaune-orangé	Génines triterpéniques
Violet, rouge	Anthracènes
Jaune, orange, Rose-violet	Saponines
Bleu, brun, Jaune-vert	Flavonoïdes
Bleu, vert, pourpre	Coumarines

### 1.3.2. Analyses quantitatives

#### 1.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de la partie aérienne de *Matricaria pubescens* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999).

#### ØPrincipe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. (Daels-rakotoarison, 1999).

#### ØMode opératoire

A 0.2 ml d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec les dilutions convenables) est ajouté à 0.8 ml de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 mg/ml d'eau distillée), après agitation, 1 ml de la solution de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait.

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax+b$ ), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-200µg/ml), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{gEq AG/mg}$ ) (Yakhlef ,2010).

### 1.3.2.2. Dosage des flavonoïdes

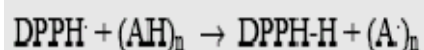
La méthode du trichlorure d'aluminium (Yi et *al.*, 2007) est employée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de feuilles de *Matricaria pubescens*. 1 ml de l'échantillon (préparé dans le méthanol avec les dilutions convenables) est ajouté à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Une courbe d'étalonnage ( $y=ax+b$ ) établie par la quercétine (0-50 $\mu\text{g/ml}$ ), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{gEq Q/mg d'ext}$ ) (Yakhlef ,2010).

## 1.4. Tests des effets biologiques

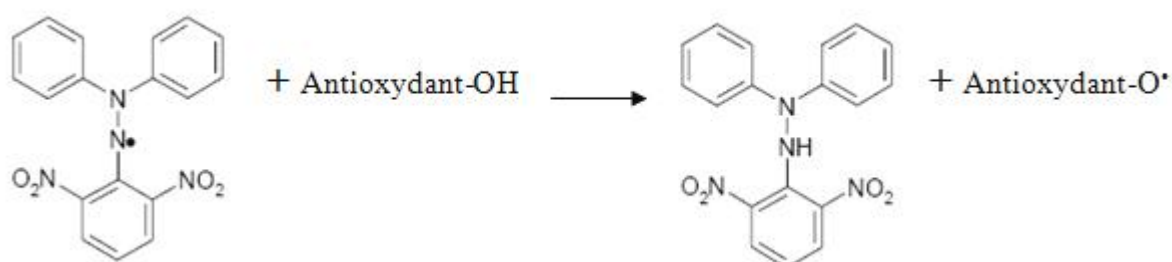
### 1.4.1. Test d'activité antioxydante par la méthode de réduction du radical libre DPPH

La méthode de réduction du radical libre DPPH est basé sur la réduction de DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl), un radical libre stable, par des antioxydants dans un solution méthanolique, dans la présence des antioxydants, la couleur violet de la solution de DPPH se change à la couleur jaune brillant et l'intensité de cette virage peut être contrôlé spectrophotométriquement (Blois, 1958).

Le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où  $(\text{AH})_n$  représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (jaune) (Brand-Williams *et al.*, 1995).



**Figure 08** : Forme libre et réduite du DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

### Ø Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH est ajouté à un volume de 1 ml des extraits de différentes concentrations compris entre (0 et 500µg/ml) , le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la capacité antioxydante des extraits est évalué par la mesure de l'absorbance à 517 nm, les résultats ont été exprimer comme la pourcentage de réduction (inhibition) du DPPH , Celui-ci est calculé en utilisant la formule suivante (Musa, 2008) :

$$\%d'activité\ antiradicalaire = [(Abs_{517\ contrôle(-)} - Abs_{échantillon517}) / Abs_{517\ contrôle (-)}] \times 100$$

Le paramètre IC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, (Bidie *et al.*, 2011)

### 1.4.2. Test d'activité antimicrobienne

La détermination de l'efficacité antimicrobienne à l'égard d'organisme pathogène spécifiques est essentielle pour une thérapie appropriée. L'analyse peut indiquer à quels agents un germe pathogène est le plus sensible est donne une estimation de la dose thérapeutique appropriée (Prescott *et al.*, 2003).

### Ø Les souches microbiennes testées

Les souches bactériennes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de *Matricaria pubescens* proviennent l'instituté pasteur de M'sila, préparé et prés à l'utilisation, elles s'agissent de :

§ *Escherichia coli*

§ *Staphylococcus aureus*

### Ø milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes est la gélose Mueller Hinton.

### Ø Préparation des disques

des disques de 6 mm sont autoclavés , ces disques sont ensuite trempés dans les principes actifs ( extraits aqueux et MeOH) (50µl et 10µl) et laissés sécher pendant 15 à 20 min avant l'utilisation.

## ØPrincipe

La méthode employée pour l'évaluation de l'effet antimicrobien est la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier. Le principe de la technique est relativement simple, lorsque un disque imprégné d'un antibiotique est placé sur une gélose préalablement inoculée avec la bactérie testée, il s'humidifie et l'antibiotique est diffusé radialement du disque, dans la gélose, en formant ainsi un gradient de concentration. L'antibiotique est présent en forte concentrations à la proximité du disque et affecte des micro-organismes même faiblement sensible (les micro-organismes résistants se développent jusqu'au disque). Plus l'on écarte du disque, plus la concentration en antibiotique diminue est seules les bactéries pathogène les plus sensibles sont affectées. Après incubation une zone ou un halo clair est présent autour d'un disque d'antibiotique si l'agent inhibe le développement bactérien. Plus grande est la zone entourant le disque plus le germe pathogène est sensible (Prescott *et al.*, 2003).

### ØTest de sensibilité aux extraits de *Matricaria pubescens*

Pour tester l'activité antibactérienne de *Matricaria pubescens* on utilise les extraits brutes qui représentent le rendement le plus élevé (l'extrait aq et l'extrait MeOH). 100 mg de chaque extrait est solubilisés dans 0,5 ml d'eau distillé stérile + 0,5 ml de méthanol. La gélose appropriée est coulée dans des boîtes de pétri et inoculée avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée. Des disques de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre sont imbibés par deux volumes 50µl et 10µl de chaque extrait (de 100 mg/ml de concentration) puis déposé à la surface de la géloseensemencée, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Dès l'application des disques imprégné l'extrait diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci a cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

## Chapitre II : Résultats et discussion

### 2.1. Rendement d'extraction

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne de *Matricaria pubescens* a été effectuée par trois méthodes : macération à la température ambiante par deux solvants « l'éthanol 20% et l'acétone 70% » et l'affrontement par la suite des solvants à polarité croissante (EP, DCM, DEE, EAc, BuOH), extraction par Soxhlet par l'utilisation de deux solvants (EP, MeOH), et par l'infusion dans l'eau distillée.

Ces méthodes permis d'obtenir plusieurs extraits dont le rendement calculé selon la relation suivante :  $R = (\text{poids de l'extrait obtenu} / \text{poids de la matière végétale totale}) \times 100$ , les résultats sont résumés dans le tableau 04.

**Tableau 04 : Rendement d'extraction**

Procédé d'extraction	Extraits	Le poids g	Le rendement %
Macération dans l'éthanol 20%	EP	0,048	0,48
	DCM	0,160	1,16
	DEE	0,018	0,18
	EAc	0,243	2,43
	BuOH	0,267	2,67
	Aq	0,299	2,99
Macération dans l'acétone 70%	EP	0,103	1,03
	DCM	0,037	0,37
	DEE	0,040	0,4
	EAc	0,118	1,18
	BuOH	0,243	2,43
	Aq	0,248	2,48
Soxhlet	EP	0,184	0,92
	MeOH	2,384	11,92
Infusion dans l'eau distillée	extrait Aq	1,1	11

L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction, Tableau 04. Cette méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

L'extraction par Soxhlet est une technique très efficace nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (Penchev, 2010).

Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait brut, l'extrait méthanolique et aqueux représentent les rendements les plus élevés (11,92 % et 11% respectivement), par rapport au poids total de la plante, alors que l'extrait aqueuse résiduelle représente le rendement le plus élevé (2,99%) pour les extraits obtenus par macération dans l'éthanol suivi par le BuOH (2,67%), EAc (2,43%), DCM(1,16%), EP(0,48%), DEE(0,18%) et pour les extraits obtenus par macération dans l'acétone l'extrait aqueux résiduel représente le rendement le plus élevé (2,48%) suivi par le BuOH (2,43%), EAc (1,18%), EP (1,03%), DEE (0,4%), DCM (0,37%).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

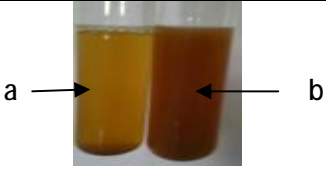
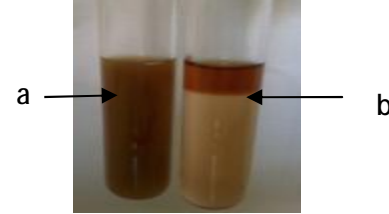
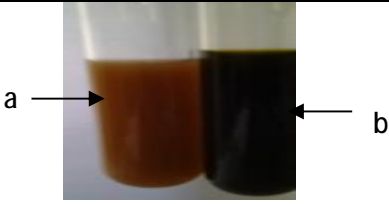
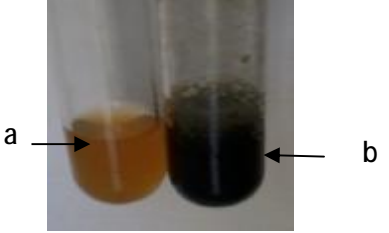


## **2.2. Résultats de l'étude phytochimique**

### **2.2.1. Analyses qualitatives**

#### **2.2.1.1. Les tests phytochimiques**

Les résultats des tests phytochimiques résumés dans le tableau 05 :

**Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques**

Métabolites secondaires testées	Observation	Résultats
polyphénols		+
Flavonoïdes		+
anthocyane		+
tannins		+
Coumarine		+
Saponosides		+

(+) présence de métabolite secondaire testé

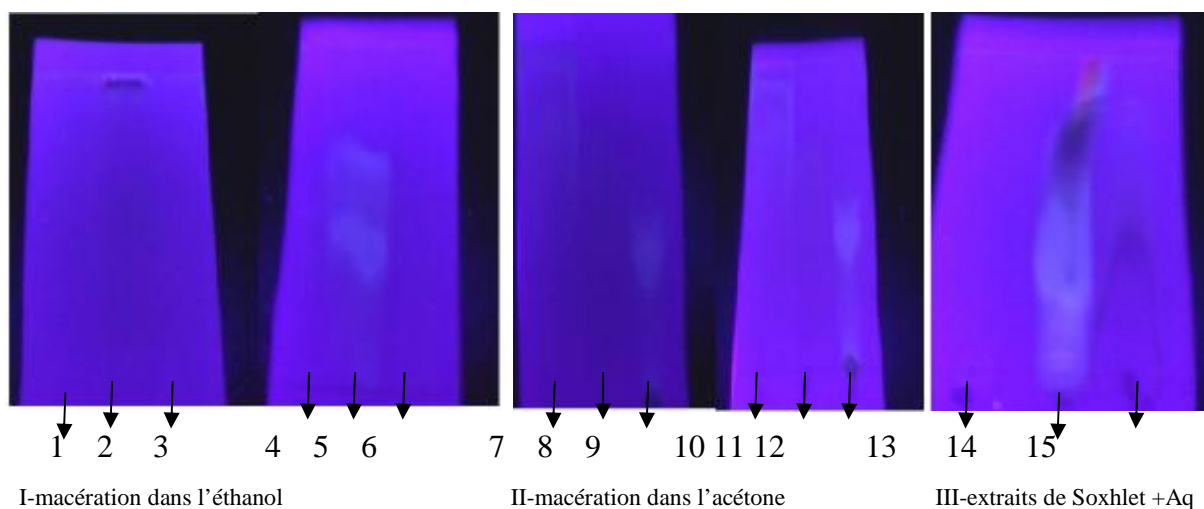
a- L'extrait témoin    b- l'extrait testé

L'extrait de *Matricaria pubescens* est soumis à une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante « polyphénols, flavonoïdes, anthocyanes, tannins, caumarines, saponines », La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués, et selon la disponibilité de réaliser ces tests.

Ces tests confirment la richesse de la plante *Matricaria pubescens* en substances bioactifs « polyphénols, flavonoïdes, anthocyanes, tannins, caumarines ». Ces résultats est similaires à celles obtenus par (Makhloufi et ses collaborateur (2012).

### 2.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

Pour une caractérisation partielle des différents extraits de *Matricaria pubescens*, une chromatographie sur couches minces (CCM) a été réalisée avec le système solvant : Acétate d'éthyle/méthanol /eau (7,5/1,5/1) qui permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots (la figure 09).



I-macération dans l'éthanol

II-macération dans l'acétone

III-extraits de Soxhlet +Aq

**Figure 09 : Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse des extraits par CCM sous lampe UV à 366nm**

1- EP	7- EP	13- EP
2- DCM	8- DCM	14- MeOH
3- DEE	9- DEE	15- extrait aq
4- EAc	10-EAC	
5- BuOH	11-BuOH	
6- Aq	12-Aq	

Les résultats de la chromatographie sur couche mince de tous nos extraits sont résumés dans le tableau 06. Il s'agit des informations sur les rapports frontaux des constituants chimiques, et les couleurs observés à la lumière UV (366 nm).

**Tableau 06 : Résultats de la séparation par CCM des extraits**

Procédé d'extraction	Extraits	Nombre de spots	$R_f$ (cm)	Fluorescence à 366 nm
Macération dans l'éthanol 20%	EP	02	0,941 0,835	Rouge vert
	DCM	04	0,929 0,894 0,588 0,423	Violet brun Bleu Vert-jaune
	DEE	02	0,917 0,177	Bleu jaune
	EAc	04	0,941 0,917 0,564 0,164	Bleu Vert Vert vert
	Bu-OH	03	0,929 0,588 0,188	Bleu Jaune Vert
	Aq	02	0,905 0,188	Bleu jaune
Macération dans l'acétone 70%	EP	02	0,964 0,941	Rose Rouge
	DCM	02	0,964 0,941	Rose Rouge
	DEE	04	0,964 0,941 0,411 0,352	jaune jaune vert vert
	EAc	02	0,952 0,882	violet jaune
	n-BOH	01	0,929	bleu
	Aq	03	0,952 0,458 0,4	Bleu jaune
Soxhlet	EP	01	0,894	Bleu
	MéOH	05	0,894 0,870 0,517 0,2 0,094	Rouge Bleu brun Bleu Bleu
Infusion dans l'eau distillée	extrait Aq	03	0,929 0,741 0,223	Bleu jaune

Le CCM visualiser sous UV 366 nm représente des taches de couleur rouge, verte, violette, brune, bleue, vert-jaune, Jaune, rose qui peuvent correspondre à plusieurs classes des métabolites secondaires.

On comparant notre résultats avec celle de (N'Guessan et *al.*, 2011).Tableau 06, on peut déduire la présence des Triterpènes, Stérols, Génines triterpéniques, Anthracènes, Saponines, Flavonoïdes, Coumarines dans notre plante, ce qui confirme les résultats des tests préliminaires réalisés.

### 2.2.2. L'analyse quantitative

#### Ø Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits bruts, préparés à partir de la partie aérienne de *Matricaria pubescens* au moyen des dosages spectrophotométriques avaient pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués. Deux droites d'étalonnages (figure 10, 12) ont été tracées pour cet objectif qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations.

Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en microgramme d'équivalents de l'étalon utilisé par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EE/mg d'extrait}$ ) et déterminés par l'équation de type :  $y = a x + b$

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). L'acide gallique a été utilisé comme étalon (figure 09). Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Yi et *al.*, 2007) et l'étalon été la quercétine (Figure 12). Les résultats sont représentés dans le tableau 07.

**Tableau 07:** Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits

Procédé d'extraction	Extraits	Teneur en polyphénols ( $\mu\text{gEq AG/mg}$ d'extrait)	Teneur en Flavonoïdes ( $\mu\text{gEqQ/mg}$ d'extrait)
Macération dans l'éthanol 20%	EP	13,801	2,365
	DCM	14,002	11,317
	DEE	155,510	33,707
	EAc	77,303	13,219
	BuOH	136,310	30,585
	Aq	16,203	1,609
Macération dans l'acétone 70%	EP	11,210	8,121
	DCM	44,120	18,390
	DEE	234,801	49,804
	EAc	131,742	38,780
	BuOH	220,731	18,121
	Aq	100,562	20,926
Soxhlet	EP	15,615	1,414
	MeOH	70,105	27,926
Infusion dans l'eau distillée	extrait Aq	225,730	9,219

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'extrait aqueux représente une teneur très élevée en polyphénols ( $225,730 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait), et les extraits bruts obtenus par l'extracteur Soxhlet (l'extrait MeOH et EP) contient respectivement ( $70,105$  et  $15,616 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait).

Cependant, la fraction DEE obtenue après la macération dans l'éthanol constitue dans les extraits de *Matricaria pubescens* la fraction phénolique la mieux représentée ( $155,510 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) suivi par l'extrait de BuOH ( $136,310 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait), puis l'extrait EAc avec ( $77,303 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait), l'extrait aq résiduel renferme ( $16,203 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait), alors que les extraits de DCM et de EP ne contient que ( $14,002$  et  $13,801 \mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) respectivement .

Pour les extraits obtenus après la macération dans l'acétone l'extrait de DEE représente aussi la teneur la plus élevée en polyphénols (234,801  $\mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) suivi par l'extrait de BuOH (220,731  $\mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) et par la suite EAc et l'extraits aq résiduelle (131,742 et 100,562  $\mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) respectivement, alors que les extraits de DCM et EP ne contiennent que (44,120 et 11,210  $\mu\text{g EqAG/mg}$  d'extrait) respectivement. Si on compare nos résultats on remarque le même ordre décroissant des extraits obtenus par la macération dans l'éthanol ou bien par l'acétone « DEE > BuOH > EAc > aq résiduel > DCM > EP ».

Par l'observation des résultats de l'analyse qualitative « tests phytochimiques + CCM » ainsi que ceux du dosage quantitatif des polyphénols et selon (le tableau 02) on peut déduire la richesse de *Matricaria pubescens* par les composés phénoliques simples (les acides phénols et les flavones lipophiles) et les tannins monomériques en premier lieu ces substances qui sont présentes dans les phases DEE, et en les tannins trimériques, oligomériques, flavonoïdes aglycones, les mono-Oglycosides et les di-O-glycosides, les tannins dimériques, et par une teneur plus basse en flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, coumarines, polyphénols aglycones.

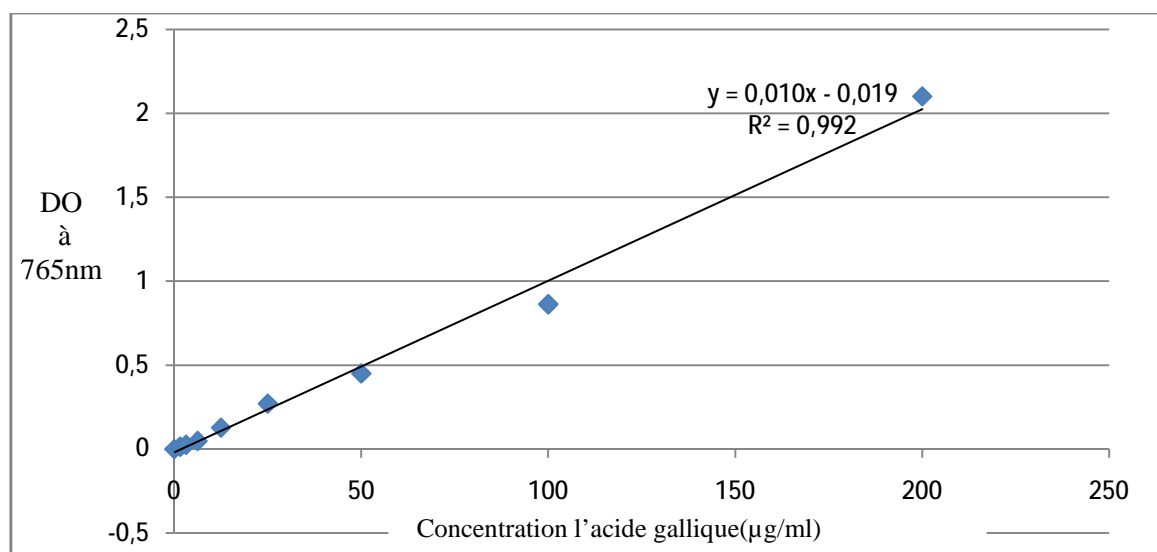
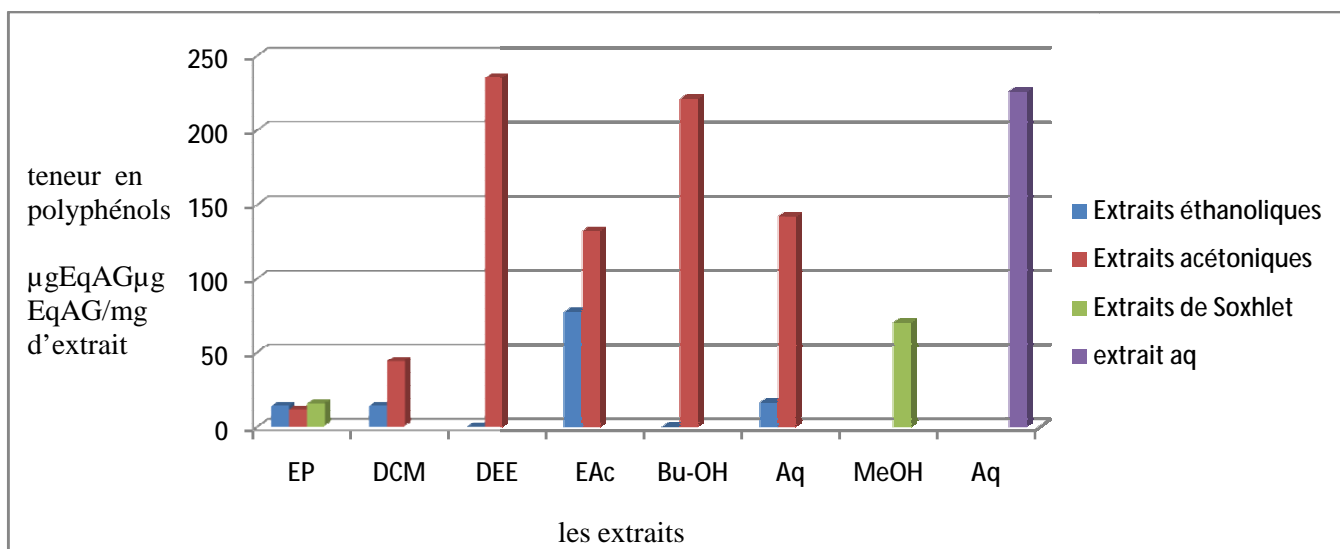


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés**

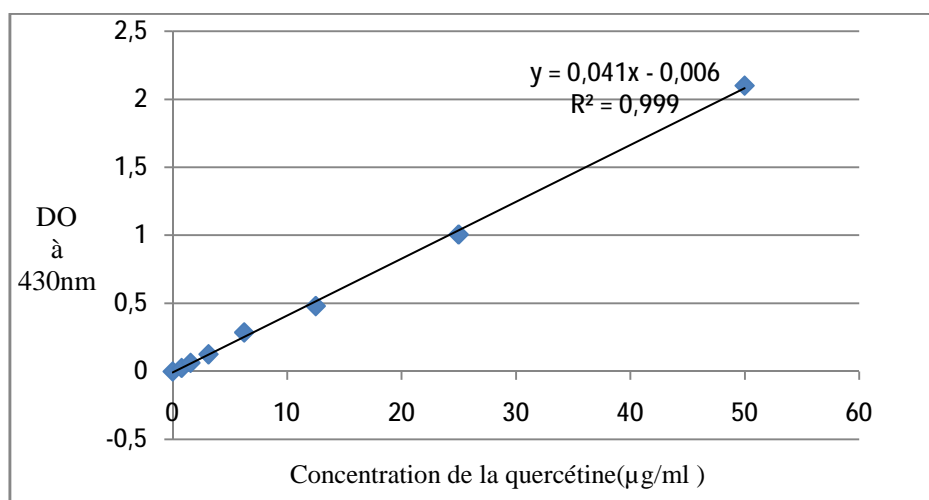
Concernant la teneur en flavonoïdes, les résultats sont exprimés en équivalent de quercétine en µg par mg d'extrait. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant différentes concentrations de la quercétine (figure 12). La teneur en flavonoïdes totaux variable, et diffère d'un extrait à un autre.

Selon la méthode d'extraction les extraits représentent les résultats suivants :

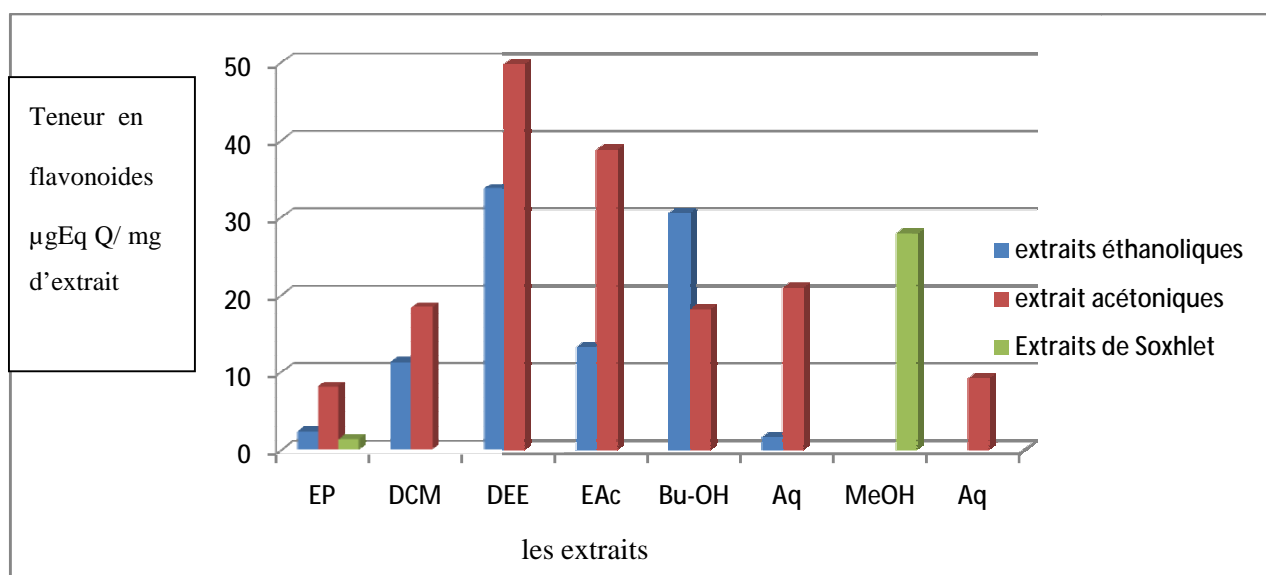
Pour les extraits obtenus après la macération dans l'éthanol l'extrait de DEE représente la teneur la plus élevée avec 33,707 µg EQ/mg d'extrait suivi par BuOH(30,585 µg EqQ/mg d'extrait) puis EAc -DCM- EP -Aq (13,219- 11,317- 2,365 - 1,609 µg EqQ/mg d'extrait) respectivement

Concernant les extraits obtenus après la macération dans l'acétone l'extrait DEE aussi représente la teneur la plus élevée (49,804 µg EQ/mg d'extrait) suivi par EAc , Aq, DCM, BuOH, EP ( 38, 780- 20,926-18, 390- 18 ,121-8,121 µg EQ/mg d'extrait)

L'extrait MeOH obtenus par l'extracteur Soxhlet a une teneur de 27,926 µg EqQ/mg d'extrait) et l'extrait d'EP très basse de 1,414 µg EqQ/mg d'extrait, alors que l'extrait aqueux ayant 9,219 µg EqQ/mg d'extrait



**Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la quercétine**



**Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits étudiés**

En comparant les teneurs en flavonoïdes à celles des polyphénols dans tous les extraits, nous remarquons qu'elles sont toutes plus faibles, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acides phénoliques, tanins...).

## 2.3. Résultats des tests des effets biologiques

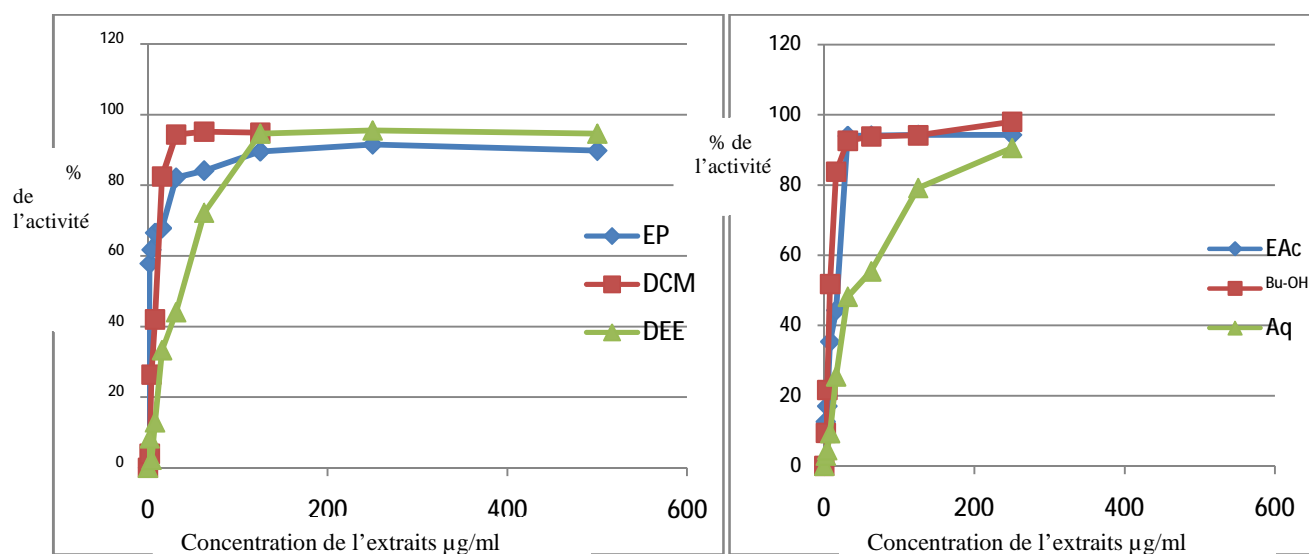
### 2.3.1. Résultat du test du pouvoir antioxydant

Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) est formée. L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub> (tableau 08), ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits (Bidie et *al.*, 2011). Plus cette valeur est faible, plus le composé est antioxydant (Belkheiri, 2010).

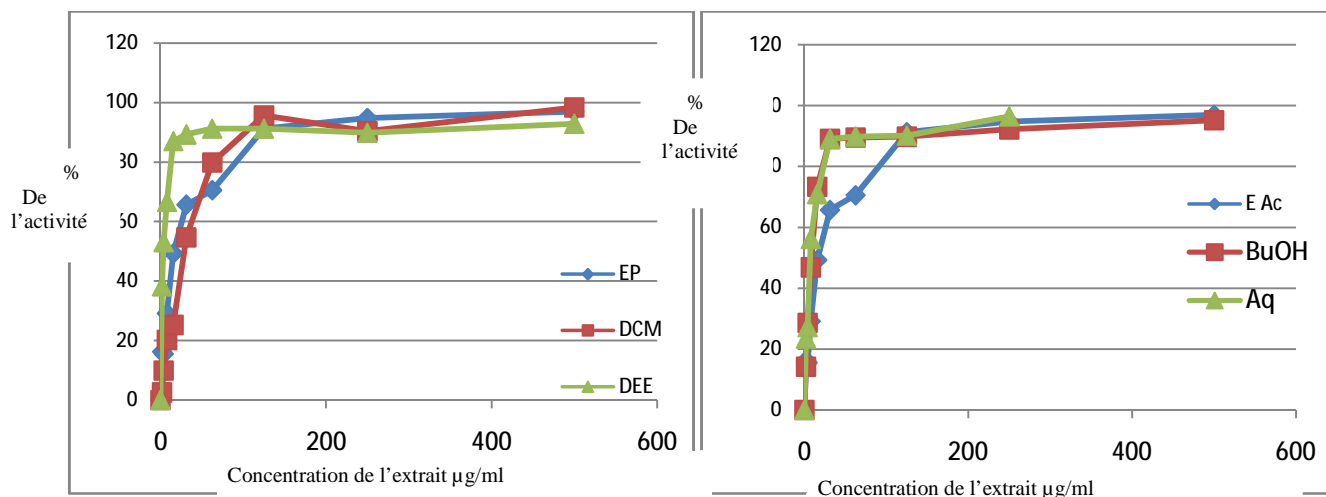
**Tableau 08** : IC<sub>50</sub> des extraits bruts des *Matricaria pubescens*.

Procédé d'extraction	extrait	IC <sub>50</sub>
Macération dans l'éthanol	EP	2,595
	DCM	18,810
	DEE	32,901
	EAc	15,819
	BuOH	17,776
	Aq	171,192
Macération dans l'acétone	EP	20,534
	DCM	28,575
	DEE	6,078
	EAc	8,657
	BuOH	8,048
	Aq	13,731
Extraction par Soxhlet	EP	49,462
	MéOH	7,565
Infusion dans l'eau distillée	extrait aqueux	67,358

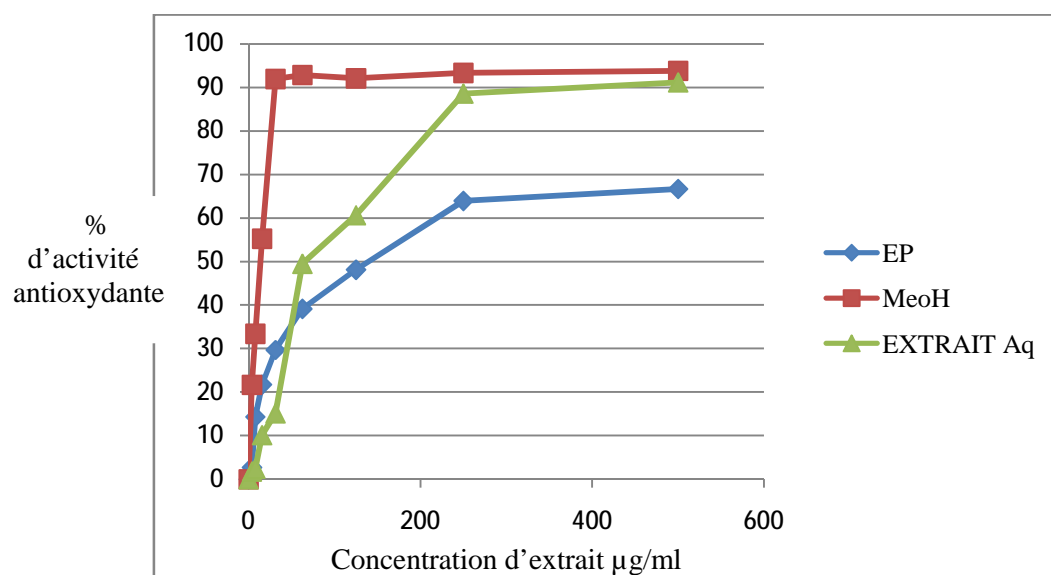
Le profil d'activité anti-radicalaire de chaque extrait testé vis-à-vis du radical DPPH est présenté dans les figures ci-dessous (Figures 14, 15 et 16). Le pourcentage du DPPH réduit par les différents antioxydants mesurés à 517 nm, montre une augmentation rapide de ce dernier dans un intervalle très réduit de la dose de l'extrait brut.



**Figure 14** : Activité antioxydante des différents extraits éthanoliques



**Figure 15 :** Activité antioxydante des différents extraits obtenus après une macération dans l'acétone



**Figure 16 :** Activité antioxydante des extraits obtenus par Soxhlet et l'extrait Aqueux

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les extraits de *Matricaria pubescens* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante :

Parmi les six extraits obtenus après la macération dans l'éthanol, l'EP représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre 2,595µg/ml cette résultat confirme l'activité des huiles essentielles et des flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés présents dans la plante , suivi par le EAc, BuOH, DCM, DEE et Aq avec des IC<sub>50</sub> de 15,819/ 17,776/ 18,810/ 32,901 et 171,192 µg/ml.

Et concernant les extraits obtenus après la macération dans l'acétone le DEE représente l'extrait le plus actif 6,078 µg/ml suivi par la BuOH 8,048 µg/ml, puis EAC, Aq, EP et DCM avec des IC<sub>50</sub> de 8,657/ 13,731/20,534 µg /ml

Pour les extraits de l'extracteur Soxhlet extrait de MeOH et la plus actif avec 7,565 µg/ml et l'EP représente une activité faible avec 49,472 µg/ml. L'extrait aqueux aussi représente une activité moins importante 67,358 µg/ml.

À partir de cette étude on peut déduire qu'il y a une corrélation entre la présence de polyphénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante des plantes médicinales.

### 2.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne

#### ØTest de sensibilité aux extraits bruts de *Matricaria pubescens*

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans le tableau 09. Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

**Tableau 09 :** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les différents extraits bruts étudiés (en mm)

Extraits	Volumes (µl)	<i>E .coli</i>	<i>S. aureus</i>
Extrait Aq	50	20,5	21
	10	12,5	13
Extrait MeOH	50	12,5	12 ,5
	10	5,5	10

On observe que les deux extraits ont réagi positivement sur les deux souches microbiennes testées. Le pouvoir antimicrobien le plus élevé est observé chez l'extrait aqueux contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 21 mm.

L'activité antimicrobienne des extraits bruts( aqueux et éthanolique) et huiles essentiels de *Matricaria pubescens* a été testé par Makhloufi et ses collaborateurs(2012), par la technique de diffusion à partir d'un disque de papier et la méthode des microdilutions en milieu solide ,cette étude montre que l'activité des huiles essentiels des *Matricaria pubescens* est moins importante en comparaison avec l'activité des extraits brutes contre les micro-organismes testés ,avec les zones d'inhibitions résumé dans le tableau 11.

**Tableau 10 :** Résultats de l'activité antibactérienne obtenus par (Makhloufi et *al.*, 2012).

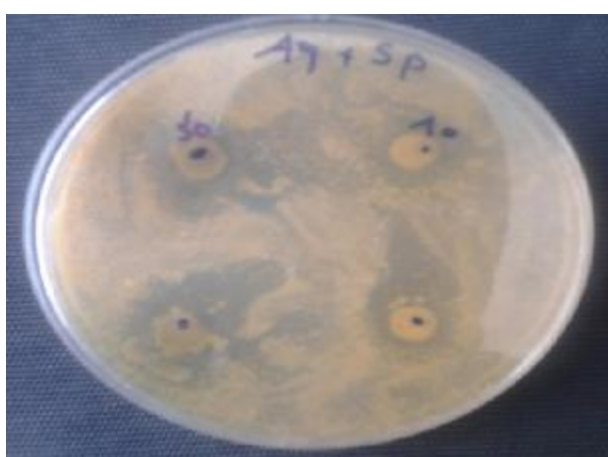
Extrait	<i>E .coli</i>	<i>S. aureus</i>
Aq	30	18
EtOH	19	15

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits. On remarque aussi que la plante *Matricaria pubescens* est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antibactérien



L'effet de l'extrait MeOH sur la croissance de *S. aureus*

L'effet de l'extrait MeOH sur la croissance de *E .coli*



L'effet de l'extrait aq sur la croissance de *S. aureus*

L'effet de l'extrait aq sur la croissance de *E .coli*

**Figure.17.** résultats de l'essai de l'activité antimicrobienne des extraits de *Matricaria pubescens*

## Conclusion et perspectives

La croissance de l'industrie pharmaceutique et le développement incessant de nouveaux produits médicaux synthétiques et biologiques plus efficaces n'a pas diminué l'importance des plantes médicinales dans beaucoup de sociétés (OMS, 1998). De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété des métabolites secondaires auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antioxydantes.

Au cours de ce mémoire, on a étudié la plante *Matricaria pubescens*, une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle dans le Sahara d'Algérie pour des vertus thérapeutiques. Malgré son importance biologique et médicinale, cette espèce a été très peu étudiée.

Deux aspects principaux sont visés par ce travail, le premier est l'aspect phytochimique de *Matricaria pubescens* qui consiste à diagnostiquer les extraits par des tests phytochimiques préliminaires et la technique de CCM, et la quantification des polyphénols et flavonoïdes se fait par des méthodes spectrophotométrique. Le deuxième aspect est de nature biologique, qui a été mis en évidence par deux tests biologiques différents ; un test antioxydant et antibactérien. L'activité antioxydante des molécules isolées est évaluée par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les extraits sont doués d'un pouvoir antioxydant très important. L'effet antibactérien important de ces molécules est mis en évidence par la méthode de diffusion à partir d'un disque, en présence de deux espèces bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Partant de ces résultats, il est nécessaire d'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...) pour une identification fiable des molécules isolées. Établir des tests antibactériens, antioxydants et autres plus détaillés et plus avancés. Appliquer les techniques biotechnologiques dans le domaine des métabolites secondaires à fin de tirer le maximum de ces molécules, et les utilisées pour l'intérêt de la santé humaine.

En conclusion nous pouvons dire que le monde végétal dans lequel nous vivons est très riche et très diversifié et la plupart des propriétés de beaucoup de plantes qui nous entourent restent inconnues.

## Références bibliographiques

- §Abdel-Massih R., Abdou E., Baydoun E., Daoud Z.,(2010). Antibacterial Activity of the Extracts Obtained from *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, and *Trigonella foenum-graecum* on Highly Drug-Resistant Gram Negative Bacilli. *J. Bot.*,464087: 1-8.
- §Akroum S., (2006). Étude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L*, mémoire de magister, Université Mentouri de Constantine, 91 pages
- §Andrew P., (2004). The constituents of medicinal plants, 2<sup>nd</sup> edition, USA: 15 - 33.
- §Avril J-L.Dabernat H. Denis F. Monteil H., (1992).Bacteriologie clinique, 2<sup>ème</sup> édition , Paris, 507 pages
- §Baudoux D., (2000) . l'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles. Ed Atlantica.
- §Belkheiri N., (2010). Derives phenoliques a activites antiatherogenes, Thèse de doctorat ,l'université de Toulouse *III - Paul Sabatier*,116
- §Bellakhdar J., (1997). Médecine arabe ancienne et savoir populaire, La Pharmacopée Marocaine et Traditionnelle, Ibis Press, France.
- §Benkiki N., (2006). Étude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens*, *Hypericum perforatum*, thèse de doctorat ,université de El-Hadj Lakhdar, Batna,112.
- §Bidie A., Guessan B., Yapo A-F., Guessan J-D. Djaman A-J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne, *Sciences et Nature*, Vol. 8:1 – 11, Abidjan , Côte d'Ivoire .
- §Blois M- S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200
- §Boutiti A., (2010). Étude phytochimique de l'espèce *Globularia alypum L.*, mémoire de Magister en sciences, Université de Constantine, 82 pages
- §Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol.* 28 : 25-30
- §Bruce A.B., Tod F.S., (2001). flavonoïds of the sunflower family (Asteraceae),Springer –verlag, Now York : 1-466.
- §Bruneton J., (1999).pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, éditions TEC & DOC,Paris : 227- 384 .
- §Buorguent E., Augéc., (2008). Les techniques de laboratoire purification et analyse des composés organiques ,Ellipses ,43-54

- §Ciulei J., (1982). Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania. 67 p
- §Cowan M- M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews., 12 (4) : 564-570.
- §Dacosta Y., (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 pages
- §Daels-rakotoarison D., (1999) Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64).
- §Djebaili S., (1984). Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger, 177 p.
- §Elqaj M., Ahami A., Belghyti D., ( 2007 ). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie », Kénitra, Maroc.
- §Farnsworth N-R., Akerele O., Bingel A- S., Soejarto D-D., Guo Z., (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64 (2) : 159-164.
- §Favier T-O., (2003). Oxidant stress: Conceptual and experimental interest in the understanding of the mechanisms of the illnesses and therapeutic potential. The chemical actuality , special number : 108-115.
- §Fokou É., Ponka R., Sielinou-Tchegnimba A., Ngu B., Mbiapo Tchouanguép F., (2008). Alimentation et statut en deux micronutriments antioxydants (zinc et vitamine C) de quelques patients camerounais hypertendus, Science Direct, Nutrition clinique et Métabolisme, Cameroun, 22 (2008) : 4–9.
- §Gaussen H., Leroy H.F., (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2ème Ed., 426.
- §Gherboudj O., Benkiki N., Seguin E., Tillequin F., Kabouche Z., (2012). Components of *Matricaria pubescens* from algerian septentrional sahara, Chemistry of Natural Compounds, Vol. 48:470-471.
- §Guignard J.L., (1994). Abrégé Botanique, 9<sup>ème</sup> Edition , Masson ,paris, France, 204.
- §Guignard J. L., Cossen L., Henry M., (1985). Abrégé de Phytochimie, Ed.Masson, Paris
- §Harborne J-B., Baxter H., (1999). The handbook of natural flavonoids, Vols 1 and 2. Chichester , UK: John Wiley and Sons.
- §Harborne J-B., Swain T., (1969). Perspectives in Phytochemistry, Academic Press, London, New York.
- §Hili P., Evans C. S., Veness R. G., (1997) Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulfoxide on the activity of cinnamon oil. Lett Appl Microbiol 24 : 269-275.

- §Hseini S., Kahouadji A., (2007). Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental), *Lazaroa Maroc*, pp 79-78
- §Jean V., Jiri S., (1983). Plantes médicinales. 250 illustrations en couleurs. Ed. Larousse, Paris, 19 pages.
- §Johnson I., (1999). Antioxydants et anticancéreux, *biofuture* N° 186 : 14-15,17.
- §Kohen R., Nyska A., (2002) Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol.* **30**: 620-650.
- §Kokoska L., Janovska D., (2009). Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: A review. *Phytochemistry*, 70 (7): 842-855.
- §Lehucher-Michel M-P., Lesgards J-F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., (2001). Stress oxydant et pathologies humaines, *La Presse médicale.* **30**: 1076-1081.
- §Lock O.,Cabello I., Doroteo V. H., (2006) .Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry.* 20 : 6-11.
- §Loubaki B-C., Outtara A-S., Ouedraogo C-A-T., Traore A-S., (1999). Antimicrobial Activities of aqueous extracts of *Detarium microcarpum* *Cesalpinaceae* on eight species of bacteria involved in infectious diseases at Burkina Faso. *Science et Médecine, Rev. CAME-*.01:67..
- §Mabile L., Meilhac O., Escargueil-Blanc I., Troly M., Pieraggi M-T., Salvayre R., Nègre-Salvayre A., (1997). *Arterioscler . Thromb. Vasc. Biol.*: 1575-1582.
- §Macheix J-J., Fleriet A., Christian J-A., ( 2005 ). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique, *Presses polytechniques et universitaire romandes, Lausanne*,10-
- §Maiza k., Perrière R-A., Hammiche V., (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional, Actes du 2<sup>ème</sup> colloque européen d 'ethnopharmacologie et de la 11<sup>ème</sup> conférence internationale d'ethnomédecine, médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique, Alger, 169
- § Makhloufi A., Moussaoui A., Lazouni H-A., (2012). Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, South west of Algeria, *Journal of medicinal plants research* ,Vol. 6(16) : 3124-3128
- § Min K., Ebeler S-E., (2008). Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 96–10.
- §Musa A-A., (2008). Activité antioxydante et antibactérienne de *Commiphora kerstingii angl.* Extrait d'écorce de souches, *Research Journal de phytochimie*, 2:106-111

- §N'Guessan H-A., Dago Déliko C-E., Mamyrbékova-Békro J- A., Békro Y-A., (2011). CCM D'extraits Selectifs de 10 Plantes Utilisees Dans le Traitement Traditionnel de L'hypertensionArterielle en Cote d'Ivoire, European Journal of Scientific Research, Vol.66 : 575-585
- §Nicoli M-C., Anese M., Parpinel M., (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables, J, Sci, food techn.: 94-100.
- §Novelli G-P., (1997). Role of free radicals in septic shock, J Physiol Pharmacol., 48 : 517-527.
- §Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Toufic J-R., Richard G.-M., (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin chateau ksara, *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 2, **Liban**.
- §OMS. (1998). Réglementation des médicaments à base de plantes La situation dans le monde, Genève : 1-49
- §Ould el hadj M., didi, Hadj-Mahammed M., Zabeirou H.,(2003). place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de ouargla (sahara septentrional est), Courrier du Savoir, Université de Ouargla, Algérie : 50-51.
- §Ozenda P.,(2004).flore et végétation du Sahara.3<sup>ème</sup> édition , CNRS édition, Paris,416,438.
- §Paris R- R., Moyses H., (1971), Précis de matière Médicale, Tome III. Paris, 397.
- §Paulian P., (1967) .Guide pour l'étude de quelques plantes Tropicales, Ed. Gauthier – Villards, Paris.
- §Penchev P-I., (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Thèse de doctorat , l'université de Toulouse : 129-130.
- §Pincemail J., Degruneb F., Voussurec S., Malherbe C., Paquod N., Defraigne J.O., (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. Nutrition Clinique et Métabolisme, 21: 66–75.
- §Pincemail J., Lecomte J., Collart E., Castiaux J-P., Defraigne J., (2001). Stress oxydant, antioxydant et exercice physique, Vaisseaux, Cœurs, Poumons ,6 (5) : 1-3.
- §Prescott L-M ., Hartley J-P., Klein D-A., (2003).Microbiologie, 2<sup>ème</sup> édition, de boeck ,Paris , 1126 pages
- §Quezel F., Santa S., (1963).Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, tome II. Éditions du CNRS, Paris, France : 1170 pages
- §Rira M., (2006). Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins, thèse de magistère, université Mentouri Constantine.

- §Rouessac F., Rouessac A., Cruché D., (2004). Analyse chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris : 100-102
- §Serg K., (1996). Guide de chimie thérapeutique, Allipses, édition marking S-A, Paris, p 419
- §Singleton P., (2005).bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6<sup>ème</sup> édition, Dunod, Paris :447-455.
- §Singleton V-L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R-M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. **299** : 152-178
- §Sohal R-S., Mockett R-J., Orr W-C., (2002) Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Rad. Biol. Med.* **33** (5) : 575.
- §Sqalli H., el ouarti A., ennabili A., Ibnsouda S., Farah A., Haggoud A., Houari A., Iraqui M., (2007). Antimycobacterial evaluation of the effect of plants of North Central Morocco .bull. Soc. Pharm. Bordeaux, Syed H, Keshava C, Chandrashekar,(146) : 271-288
- §Subramanion L- j., Zuraini Z., Sreenivasan S., (2011). Phytochemicals screening, DPPH free radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activities of *Cassia fistula* seeds extract, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(10) : 1941-1947.
- §Unesco., (1960) .Les plantes médicinales des régions arides recherches sur la zone aride, Paris, xiii
- §Voet D., Voet J-G.,(2002).biochimie, 2<sup>ème</sup> édition, traduction de la 3<sup>ème</sup> édition américaine par Guy Rousseau et Lionel Domenjoud, boeck,paris,143
- §Yakhlef G., (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis*, mémoire magister, université El hadj Lakhdar, Batna :40-41 .
- §Yi Z-B., Yu Y., Liang Y-Z., Zeng B., (2007). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids, *LWT-Food Science and Technology*. **4**: 1000-1016

## Résumé

*Matricaria pubescens* appelée communément Ghartoufa est une plante de la famille des Compositae, très répandue dans le Sahara algérien. Ce travail a porté sur l'étude des extraits bruts de la partie aérienne de cette plante. L'analyse de ces extraits a révélée la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols, flavonoïdes) susceptibles d'exprimer les activités recherchées et leurs teneurs ont été déterminées par des méthodes spectrophotométriques. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de réduction de radical DPPH les résultats obtenus ont montré que les extraits peuvent agir en tant que piègeurs de radicaux, Deux extraits semblent être de bons piègeurs de radicaux EP et DEE avec des  $IC_{50}$  de 1,953 et 3,906  $\mu\text{g/ml}$  respectivement. Deux extraits aq et MeOH ont été également soumis à un criblage pour leurs activité antibactérienne possible contre deux souches de bactéries pathogène *E. coli* et *S. aureus*, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque, les deux extraits ont réagi positivement sur les deux souches microbiennes testées, l'extrait Aq représente l'activité antimicrobienne la plus importante contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 21 mm et de 20,5 mm contre *E. coli*.

**Mots clés :** *Matricaria pubescens*, *E. coli*, *S. aureus*, Activité Antioxydante, Activité antimicrobienne.

## Abstract

*Matricaria pubescens* called commonly Ghartoufa is a plant from the family of Compositae very spread in the Algerian Sahara. This work focused on the study of the crude extracts of the aerial part of this plant. The analysis of these extracts revealed the presence of some chemical groups (total polyphenols, flavonoids) likely to express the activities required and their contents were given by spectrophotometric methods. The antioxidant activity was investigated with the method of DPPH radical scavenging assay. The obtained results showed that the extracts can act as radical traps. Two extracts seem to be good trappers of radicals EP and DEE with  $IC_{50}$  from (1,953 and 3,906  $\mu\text{g/ml}$ ). two extracts, aq and MeOH, were also subjected to a sifting for their possible antimicrobial activity against two strains of bacteria pathogenic *E. coli* and *S. aureus* by employing the method of diffusion starting from a disc. The extracts tested reacted positively with the microbial stocks tested. The aq extract show the bigger antimicrobial activity against *S. aureus* with an inhibition area of 21 mm and 20,5 mm against *E. coli*.

**Key words:** *Matricaria pubescens*, *E. coli*, *S. aureus*, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

## ملخص

*Matricaria pubescens* تعرف بالجرتوفة هي نبتة من العائلة المركبة جد منتشرة في الصحراء الجزائرية. هذا العمل يحتوي على دراسة فيتوكيميائية لمستخلصات الجزء الهوائي لهذه النبتة كشفت النتائج عن وجود بعض المركبات الكيميائية (متعددة الفينولات، الفلافونيدات) القادرة على تمثيل الأنشطة مدروسة و كميتها تم قياسها بطرق طيفية. تقييم النشاط المضاد للأكسدة تم باستعمال تقنية ارجاع الجذر الحر DPPH النتائج المحصل عليها أثبتت أن المستخلصات لها قدرة اقتناص الجذور الحرة، مستخلصان يظهران كصائد جيد للجذور EP (1,953  $\mu\text{g/ml}$ ) و DEE (3,906  $\mu\text{g/ml}$ ). مستخلصين المائي و الميثانولي خضعا أيضا لدراسة للكشف عن نشاطها المضاد للميكروبات المحتملة ضد نوعين من البكتيريا الممرضة *E. coli* و *S. aureus* باستعمال طريقة الانتشار من خلال قرص. المستخلصين تفاعلا ايجابيا مع البكتيريا المختبرة، المستخلص المائي يمثل النشاطية المضادة للميكروبات الأكثر أهمية ضد *S. aureus* مع حلقة تثبيط تقدر ب 21 mm و 20,5 mm ضد *E. coli*.

**الكلمات المفتاحية :** *Matricaria pubescens*, *E. coli*, *S. aureus*