

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICRPBIOLOGIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : AMROUCHE Malak

AMROUCHE Raniya

KHEMISSA Ahlem

Intitulé

**Evaluation de l'activité antioxydante de quelques
extraits organiques de *Matricaria chamomilla* L.**

Soutenu devant le jury composé de

SARRI Madani

Prof

Président

HENDEL Noui

MCA

Encadreur

KHERBACHE Abdallah

MAA

Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

DEDICACE

Tout d'abord, nous remercions notre [ALLAH](#), notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté, la patience, l'espoir et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'études à :

A ma nounou mère [Nasira](#), décédée trop tôt, qui m'a toujours poussée et motivée dans mes études. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours priée pour le salut de son âme.

Puisse [ALLAH](#), le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde

A mes plus chers au monde et respectueux parents en récompense de leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur clairvoyance qui m'ont servi et me serviront : [Hassan](#) et [Monya](#) ; que dieu les garde et les protège ;

A ma grand-mère [Djamila](#) et mon grand-père [Mohammed](#), [Belhadj](#)

A mes chères sœurs et frères : [Raniya](#), [Yasmine](#), [Sami](#), [Adem](#), [Mohammed](#)

À tous mes oncles, mes tantes et mes cousins et mes voisins

À tous les membres de la famille [AMROUCHE](#) et [BETTICHE](#)

A ma collègue [Ahlem](#) et mes amies [Khawla](#), [iman](#), [maymouna](#), [chahinaz](#), tout en leur souhaitant la réussite dans tout ce qu'ils entreprennent

Enfin je le dédie à moi-même

Malak

DEDICACE

Je remercie ALLAH le tout puissant qui m'a permet d'entreprendre mes études et les achevés dans la sérénité et de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail que je dédie :

A Mon très cher Père **Hassan**, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.

Ma mère **MOUNIA**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour,

A ma grand-mère **NASSIRA** que ALLAH ait pitié d'eux.

A tous mes oncles, tantes

A Toute ma famille, **AMROUCHE** et **BETTICHE** et **KHERBACHI**

A ma sœur jumelle **Malak**, ma sœur **Yasmine**, et Mes chers frères **Sami, Adem, Mohammed**

A mon fiancé **Okba**

A ma collègue **Ahlem** et mes amies **Khawla, Kawthar, Manel Nour El Houda**. A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

Raniya

DEDICACE

Tout d'abord, je remercie "ALLAH", le tout-puissant, de m'avoir donné la force de survivre, ainsi que l'audace de surmonter toutes les difficultés.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs années d'études à :

Mes *parents* les plus chers au monde et respectueux en récompense de leurs sacrifices, de leur amour, de leur gentillesse et de leur soutien qui m'ont servi et me serviront ; que dieu les garde et les protège.

A mes chères sœurs et frères : *Fatima, Nawal, Chahra, Nora, Wafa, Samia, Zouhir* et *Houcine* pour leurs encouragements, leur soutien constant et leur soutien moral et Au mon frère *Fateh* rabi yrahmou et à la personne la plus chère *Deradji*.

Tous mes amis du travail *Malak* et *Raniya*, tout en leur souhaitant la réussite dans tout ce qu'ils entreprennent.

A tous les gens que j'aime et qui m'aiment

A moi-même

Ahlem

Remerciements

Le thème de cette mémoire a été proposé et réalisé sous la direction de monsieur
HENDEL Noui.

En remerciement, nous tenons à remercier ALLAH Tout-Puissant de nous avoir donné
la force et la patience de faire ce travail.

Tout d'abord, Nous voudrions remercier notre encadreur Dr HENDEL Noui qui a
aimablement accepté de superviser cette mémoire et de nous avoir donné
l'opportunité de faire ce travail. Nous le remercions pour ses conseils pratiques et
scientifiques tout au long de ce travail.

On veut adresser nos remerciements à Monsieur KHERBACHE Abdallah pour son
soutien et pour nous avoir fourni des produits.

Nous tenons à remercier tous les membres du jury, Prof. SARRI Madani et Monsieur
KHERBACHE Abdallah qui ont accepté d'évaluer notre travail, en même temps, à
remercier les responsables et les personnels des Laboratoires du département de
Microbiologie et Biochimie de l'Université de Mohamed BOUDIAF M'sila.

Nous souhaiterions également remercier nos professeurs de la faculté des Sciences
pendant les cinq années de notre parcours.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ne peuvent être nommées ici
et qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réussite de ce travail.

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction _____ 1

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.	Nature et diversité des composés phénoliques	2
1.1.	Composés phénoliques	2
1.2.	Classification des polyphénols	2
1.2.1.	Acides phénoliques	2
1.2.2.	Flavonoïdes	2
1.2.3.	Tanins	3
1.2.3.1.	Tannins hydrolysables	3
1.2.3.2.	Tanins condensés	4
2.	Activité antioxydante	4
2.1.	Stress oxydant	5
2.2.	Radicaux libres	5
2.2.1.	Formes des radicaux libres	5
2.2.1.1.	Espèces réactives de l'oxygène	5
2.2.1.2.	Espèces réactives de l'azote	5
2.2.2.	Principales sources des radicaux libres	6
2.2.2.1.	Sources endogènes	6
2.2.2.2.	Sources exogènes	6
2.3.	Dommages induits par le stress oxydatif	7
2.3.1.	Oxydation de l'ADN	7
2.3.2.	Peroxydation lipidique	7
2.3.3.	Oxydation des protéines	7
2.4.	Effet du stress oxydatif sur la santé humaine	8
3.	Antioxydants	8
3.1.	Types des antioxydants	9
3.1.1.	Exemples d'antioxydants enzymatiques	9
3.1.1.1.	Superoxyde dismutase (SOD)	9
3.1.1.2.	Catalase (CAT)	9
3.1.2.	Antioxydants non enzymatiques	9
3.1.2.1.	Exemples d'antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène	9
3.1.2.2.	Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène	10
4.	Présentation de la plante d'étude	10
4.1.	Description botanique	10
4.2.	L'espèce <i>Matricaria chamomilla</i>	10
4.3.	Classification (Achoub, 2013).	11
4.4.	Utilisations	11
4.5.	Phytochimie	11

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1.	Matériel végétal	12
2.	Procédés d'extraction	12

2.1.	Extraction par macération	12
2.2.	Extraction par décoction	13
2.3.	Calcul du rendement	13
3.	Dosage des composés phénoliques	14
3.1.	Dosage des polyphénols	14
3.2.	Dosage des flavonoïdes	14
4.	Evaluation de l'activité antioxydante	14
4.1.	Test de DPPH	14
4.2.	Test de capacité antioxydante totale (TAC)	15
4.3.	Blanchiment du β -carotène	16
5.	Analyse statistique	16

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1.	Rendement en extraits de la plante	18
2.	Dosage des polyphénols totaux	18
3.	Dosage des flavonoïdes totaux	19
4.	Evaluation de l'activité antioxydante	20
4.1.	Test de DPPH	21
4.2.	Test de capacité antioxydante totale (TAC)	21
4.3.	Test Blanchiment du β -carotène	22

Conclusion et prescriptives	25
-----------------------------	----

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

Matricaria chamomilla est une plante médicinale de la famille des Astéracées. Cette espèce connue sous le nom "chamomille", très répandue en Algérie, est largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits ; aqueux (EA), méthanolique (EM) et d'acétate d'éthyle (EAE), de *Matricaria chamomilla* et de déterminer leurs teneurs en composés phénoliques à savoir, les polyphénols totaux les flavonoïdes. Les parties aériennes de la plante sont soumises d'une part à une extraction par décoction et d'autre part à une macération. L'extrait aqueux enregistre le rendement le plus élevé (29%). Les extraits ont été analysés pour leur teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats montrent que l'EAE a présenté des teneurs remarquablement élevées en polyphénols ($62.833 \pm 1.018 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$) et en flavonoïdes ($48.929 \pm 0.261 \mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$) par rapport aux extraits EA et EM. L'activité antioxydante des trois extraits a été évaluée *in vitro* par le test du radical libre DPPH, de la capacité antioxydante totale (TAC) et de blanchiment du β -carotène. La méthode de DPPH a montré que les meilleures concentrations inhibitrices exprimées en IC_{50} ont été obtenues par l'EM suivi par l'EAE puis l'EA, respectivement (55.861 ± 0.373 ; 241.818 ± 1.254 ; $339.790 \pm 2.957 \mu\text{g/ml}$). Cependant, le BHT (utilisé comme standard) a montré une activité plus élevée ($\text{IC}_{50} = 21.841 \pm 0.268 \mu\text{g/ml}$). La capacité antioxydante totale est obtenue selon l'ordre suivant EA > EAE > EM, respectivement (253.204 ± 0.160 ; 249.750 ± 0.409 ; $155.565 \pm 0.736 \mu\text{g EAA} / \text{mg}$). Les résultats de blanchiment du β -carotène ont montré des degrés d'inhibition exprimées en IC_{50} par les extraits testés dans l'ordre EM > EA > EAE, respectivement (6.045 ± 4.409 ; 15.445 ± 5.767 ; $32.612 \pm 2.141 \mu\text{g/ml}$). Cependant, le BHT a montré une activité plus importante ($\text{IC}_{50} = 1.292 \pm 1.271 \mu\text{g/ml}$).

Mots clés : polyphénol, flavonoïde, DPPH, activité antioxydante, β -carotène, TAC, *Matricaria chamomilla*.

Matricaria Chamomilla هو نبات طبي من عائلة Asteraceae. هذا النوع المعروف باسم "البابونج" و الذي يحظى بشعبية كبيرة في الجزائر ، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض. الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لكل من المستخلص المائي (EA) والميثانولي (EM) وأسيئات الاثيل (EAE)، من *Matricaria chamomilla* ولتحديد محتواها من المركبات الفينولية، وهي عديدات الفينول والفلافونويدات. تعرضت الأجزاء الهوائية من النبات للاستخراج عن طريق الغلي والنقع. يسجل المستخلص المائي أعلى مردود (29٪). تم تحليل المستخلصات لمعرفة محتواها الكلي من البوليفينول والفلافونويد باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج أن EAE ذو محتويات عالية من البوليفينول (1.018 ± 62.833 ميكروغرام من حمض الغاليك/مغ من المستخلص) والفلافونويد (0.261 ± 48.929 ميكروغرام من الكيرسيتين/مغ من المستخلص) مقارنة بمستخلصات EA و EM. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الثلاثة في الزجاج بواسطة اختبار الجذور الحرة DPPH، والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) واختبار تبييض البيتاكاروتين. أظهرت طريقة DPPH أن أفضل التركيزات المثبطة المعبر عنها في IC_{50} تم الحصول عليها بواسطة EM متبوعًا بـ EAE ثم EA، على التوالي (0.373 ± 55.861 ؛ 1.254 ± 241.818 ؛ 2.957 ± 339.790 ميكروغرام / مل). أظهر BHT (المستخدم كمعيار) نشاطًا أعلى ($IC_{50} = 21.841 \pm 0.268$ ميكروغرام / مل). تم الحصول على إجمالي قيم مضادات الأكسدة وفقًا للترتيب التالي $EA > EAE > EM$ ، على التوالي (0.160 ± 253.204 ؛ 0.409 ± 249.750 ؛ 0.736 ± 155.565 ميكروغرام من حمض الأسكوربيك/مغ من المستخلص). أظهرت نتائج تبييض البيتاكاروتين درجات التثبيط المعبر عنها بـ IC_{50} بواسطة المستخلصات المختبرة بالترتيب $EM > EA > EAE$ ، على التوالي (4.409 ± 6.045 ؛ 5.767 ± 15.445 ؛ 2.141 ± 32.612 ميكروغرام / مل). وأظهر BHT نشاطًا أكبر ($IC_{50} = 1.292 \pm 1.271$ ميكروغرام / مل).

الكلمات المفتاحية: البوليفينول، الفلافونويد، DPPH، النشاط المضاد للأكسدة، β -carotène، TAC، *Matricaria chamomilla*.

Abstract

Matricaria chamomilla is a medicinal plant of the Asteraceae family. This species known as "chamomile", very popular in Algeria, is widely used in traditional medicine for the treatment of several pathologies. The objective of this work is the evaluation of the antioxidant activity of the extracts; aqueous (AE), methanolic (ME) and ethyl acetate (EAE), of *Matricaria chamomilla* and to determine their content of phenolic compounds, namely, total polyphenols and flavonoids. The aerial parts of the plant were subjected to extraction by decoction and maceration. The aqueous extract records the highest yield (29%). The extracts were analyzed for their total polyphenol and flavonoid content using the Folin-Ciocalteu method and aluminum trichloride respectively. The results show that EAE exhibited remarkably high contents of polyphenols ($62.833 \pm 1.018 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ of extract), flavonoids ($48.929 \pm 0.261 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ of extract) compared to EA, and EM extracts. The antioxidant activity of the three extracts was evaluated *in vitro* by the DPPH free radical, total antioxidant capacity (TAC) and β -carotene bleaching tests. The DPPH method showed that the best inhibitory concentrations expressed in IC_{50} were obtained by EM followed by EAE then EA, respectively (55.861 ± 0.373 ; 241.818 ± 1.254 ; $339.790 \pm 2.957 \mu\text{g/ml}$). However, BHT (used as standard) showed higher activity ($\text{IC}_{50} = 21.841 \pm 0.268 \mu\text{g/ml}$). The total antioxidant capacity is obtained according to the following order $\text{EA} > \text{EAE} > \text{EM}$, respectively (253.204 ± 0.160 ; 249.750 ± 0.409 ; $155.565 \pm 0.736 \mu\text{g EVC} / \text{mg}$). The β -carotene bleaching results showed degrees of inhibition expressed in IC_{50} by the extracts tested in the order $\text{EM} > \text{EA} > \text{EAE}$, respectively (6.045 ± 4.409 ; 15.445 ± 5.767 ; $32.612 \pm 2.141 \mu\text{g/ml}$). However, BHT showed greater activity ($\text{IC}_{50} = 1.292 \pm 1.271 \mu\text{g/ml}$).

Key words: polyphenol, flavonoid, DPPH, antioxidant activity, β -carotene, TAC, *Matricaria chamomilla*.

Liste des abréviations

SOD : Superoxyde dismutase.

CAT : Catalase.

GR : Glutathion réductase.

GPx : Glutathion peroxydase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

PH : Potentiel hydrogène

DPPH : 2,2'-diphényle-1-picryl hydroxyle.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

RLs : Radicaux libres.

ERO : Espèces réactives oxygénées.

ERN : Espèce réactive de l'azote.

E.Aq : Extrait aqueux.

E.Met : Extrait méthanolique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

I% : Pourcentage d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition 50%.

BHT : Butylhydroxytoluène.

mg/ml : Milligramme par millilitre

EAG : Equivalents de l'acide gallique

EQ : Equivalents de quercétine

EAA : Equivalents de l'acide Ascorbique

PPT : polyphénols totaux

M : Molaire

Liste des figures

Figure 1. Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	2
Figure 2. Squelette de base des flavonoïdes.....	3
Figure 3. Structure de base des tanins hydrolysables.....	3
Figure 4. Structure chimique des tanins condensés.....	4
Figure 5. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes.....	8
Figure 6. Les paramètres utilisés dans les défenses antioxydantes	8
Figure 7. Plante de Camomille (<i>Matricaria chamomilla</i>).....	11
Figure 8. <i>Matricaria chamomilla</i> poussant au campus du pôle de l'université de m'sila.....	12
Figure 9. étapes d'extraction par macération.....	13
Figure 10. étapes d'extraction aqueuse par décoction.....	13
Figure 11. Réduction du radical DPPH•.....	15
Figure 12. Teneurs en PPT (μg EAG /mg) des extraits EA, EM et EAE de <i>M. chamomilla</i>	19
Figure 13. Teneurs en FT (μg EQ /mg) des extraits EA, EM et EAE de <i>M. chamomilla</i>	20

Liste des tableaux

Tableau 1. Différents types des espèces réactives.....	6
Tableau 2. Le stress oxydatif et les pathologies.....	8
Tableau 3. Rendements en différents extraits de <i>Matricaria chamomilla</i>	18
Tableau 4. Les valeurs IC ₅₀ des extraits EA, EM et EAE de <i>M. chamomilla</i> et du BHT dans le test de DPPH.	21
Tableau 5. La capacité antioxydante totale des différents extraits bruts de <i>Matricaria chamomilla</i>	22
Tableau 6. Les valeurs IC ₅₀ des extraits EA, EM et EAE de <i>M. chamomilla</i> et du BHT dans le test du β-carotène.	23

INTRODUCTION

Introduction

Les produits naturels d'origine végétale présentent un grand intérêt en tant que matières premières pour divers domaines d'activité tels que : cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, agrochimie, industrie (El hilah *et al.*, 2016). Malgré les avancées de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales reste très présent dans certains pays du monde, notamment dans les pays en développement faute de systèmes médicaux modernes (Khouchlaa *et al.*, 2016). Il existe environ 500 000 espèces végétales sur terre, dont 80 000 ont des propriétés médicinales différentes (Benkhnigue *et al.*, 2010).

Ce pouvoir thérapeutique des plantes s'explique par leur possession de principes actifs. Ceux-ci, pour évaluer leurs effets biologiques, nécessitent des dosages biologiques et de méthodes de criblage chimique appropriés. Cependant, il est important de noter que la nature active de ces composés peut avoir des effets à la fois bénéfiques et néfastes sur les organismes (Lehout *et al.*, 2015).

Les antioxydants naturels ont évolué comme alternatives aux antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire en raison de leurs effets secondaires nocifs (Brewer, 2011). Ces produits naturels protègent le corps humain des radicaux libres, aidant à prévenir la progression de nombreuses maladies chroniques et pouvant ralentir le rancissement oxydatif des lipides dans les aliments (Shebis *et al.*, 2013 ; Ribeiro *et al.*, 2019).

La camomille est une plante médicinale utilisée dans les remèdes à base de plantes depuis des milliers d'années et connue dans l'Egypte ancienne, la Grèce et Rome. Camomille est inclus dans 26 pharmacopées nationales (Singh *et al.*, 2011).

L'objectif essentiel visé dans ce mémoire est l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits à savoir l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait acétate d'éthyle de *Matricaria chamomilla* L.

La démarche méthodologique implique les étapes suivantes :

- Collecte du matériel végétal,
- Préparation des extraits aqueux, méthanolique et d'acétate d'éthyle de la plante,
- Détermination de leurs teneurs en polyphénols et en flavonoïdes,
- Evaluation, *in vitro*, de leur activité antioxydante par les tests de DPPH, capacité antioxydante totale (TAC) et blanchiment du β -carotène,

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Nature et diversité des composés phénoliques

Les plantes peuvent produire des substances très diversifiées ; les métabolites primaires tels que les glucides, protéines et lipides, et accumulent souvent des métabolites dits secondaires. Ceux-ci appartiennent à différents groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

1.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes. Ils peuvent être indirectement essentiels à la vie des plantes. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyle. La structure des composés phénoliques naturels varie des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules les plus fortement polymérisées (tannins condensés) (Djoubani *et al.*, 2017).

1.2. Classification des polyphénols

1.2.1. Acides phénoliques

Le phénol ou acide phénolique est un noyau benzénique et a au moins un groupe hydroxyle. Il peut être étherifié sous forme de glycosides et fixé sur des sucres. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Leur biosynthèse dans le règne végétal provient de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (**Figure 1**) (Wichtl et Anton, 2009).

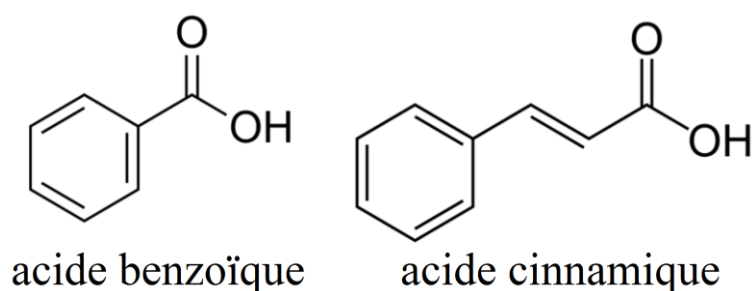


Figure 1. Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009).

1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes répandus dans les plantes. Ils sont particulièrement responsables de la couleur des fleurs, des fruits et même des feuilles (Roux et Cartier, 2007). Ce sont tous des métabolites secondaires avec la même structure de base appelée "Flavane" (**Figure 2**). C'est des composés en C₆-C₃-C₆, souvent des hétérocycles oxygénés (Milane, 2004). Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme liée à des oses et autres substances, dite hétérosides (Heller et Forkmann, 1993).

De même structure de base, ils peuvent être subdivisés en sous-classes selon la structure de l'hétérocycle C. Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier *et al.*, 2009).

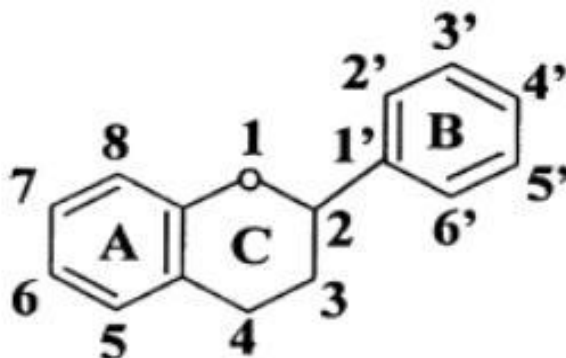


Figure 2. Squelette de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

1.2.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible (Peronny, 2005). Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Ils peuvent être présents dans différents organes végétaux, et sont localisés dans les vacuoles, parfois combinés à des protéines et des alcaloïdes (Roux et Catier, 2007).

Deux groupes sont généralement distingués chez les plantes supérieures : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (Fiorucci, 2006).

1.2.3.1. Tannins hydrolysables

Polymère à base de glucose dans lequel les radicaux hydroxyles forment des liaisons ester avec l'acide gallique (**Figure 3**) (Hopkins, 2003).

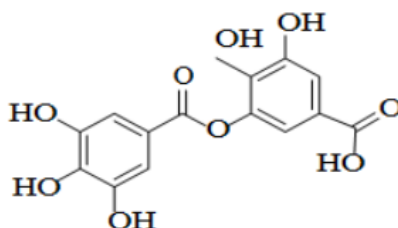


Figure 3. Structure de base des tanins hydrolysables (Hatzfeld *et al.*, 2002).

1.2.3.2. Tanins condensés

Véritables tanins ou tannoïdes, sans sucre et de structure similaire aux flavonoïdes. Ce sont des polymères de flavan constitués d'unités de flavan-3-ols (catéchines) ou de flavan-3-4-diols (leuco anthocyanidines) reliés par des liaisons C-C, non hydrolysées mais oxydées un acide fort qui libère des anthocyanidines (**Figure 4**) (Khanbaba et Ree, 2001).

2. Activité antioxydante

L'importance de l'oxydation dans le corps et l'alimentation est bien reconnue. Le métabolisme oxydatif est essentiel à la survie des cellules. La production de radicaux libres et d'autres espèces réactives de l'oxygène provoquent des changements oxydatifs. Il y a de plus en plus de preuves que ces espèces sont impliquées dans divers systèmes de régulation normaux *in vivo*. Lorsque des radicaux libres en excès se forment, ils peuvent submerger les enzymes protectrices telles que le superoxyde dismutase, la catalase et la peroxydase, provoquant la destruction des cellules et des effets mortels (par exemple, l'apoptose) en oxydant les lipides membranaires, les protéines cellulaires, l'ADN et les enzymes et en arrêtant la respiration cellulaire. De plus, les espèces réactives de l'oxygène semblent influencer les voies de signalisation cellulaire, ce qui reste à élucider. L'oxydation peut également affecter les aliments et est une cause majeure de détérioration chimique, entraînant le rancissement et/ou la détérioration des aliments (valeur nutritive, couleur, goût, texture et sécurité alimentaire). On estime que la moitié des récoltes mondiales de fruits et légumes sont perdues en raison de la détérioration après récolte. Un mécanisme de défense contre les effets d'une oxydation excessive est fourni par l'action de divers antioxydants, et la nécessité de mesurer l'activité antioxydant est bien documentée (Antolovich *et al.*, 2002).

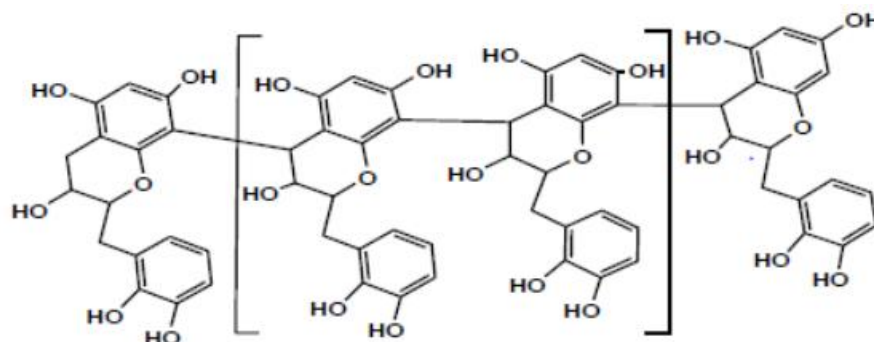


Figure 4. Structure chimique des tanins condensés (Macheix *et al.*, 2005).

2.1. Stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre généralisé entre les systèmes oxydatifs et la capacité antioxydante entraînant des dommages cellulaires irréversibles. Le stress oxydatif est une fonction corporelle normale tant que certaines limites ne sont pas dépassées. En effet, tous les organismes consommateurs d'oxygène produisent des radicaux libres, de petites substances chimiques qui s'oxydent violemment au contact de l'oxygène, mais nos cellules savent s'en débarrasser grâce à leurs systèmes de régulation (Pincemail *et al.*, 1999).

2.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui contient un électron non apparié. Ce déséquilibre est temporaire et est comblé en gagnant un autre électron ou en transférant son électron libre à une autre molécule (Valéry *et al.*, 2006). Les radicaux libres sont des molécules contenant de l'oxygène qui se produisent au cours du métabolisme physiologique et dans certaines maladies. En raison de leur durée de vie très courte de quelques millisecondes à nanosecondes, ils captent les électrons des molécules stables et tentent de les appairer entre eux, laissant la molécule d'origine dans un état instable (Filaire et Toumi, 2012).

2.2.1. Formes des radicaux libres

En biologie, il existe deux types de RLs : radicaux dérivés de l'oxygène, également connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), et radicaux à base d'azote, également connus sous le nom d'espèces réactives de l'azote (ERN). Ces espèces réactives sont nécessaires à un certain niveau dans le corps pour effectuer des fonctions physiologiques importantes (Ramos *et al.*, 2020) Tableau 1.

2.2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène

Ce sont des espèces oxygénées comme les radicaux libres, les ions composés oxygénés et peroxydes qui sont chimiquement très réactifs en raison de la présence d'électrons de valence non appariés. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), y compris les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), les radicaux superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et leurs formes protonées (HO_2), les radicaux peroxy ($\text{ROO}\cdot$) et les espèces non radicalaires telles que : Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singlet (O_2) sont des molécules hautement réactives (Chu *et al.*, 2010). Dans tous les systèmes biologiques aérobies, ces espèces sont généralement produites de manière endogène au cours du métabolisme cellulaire (Kumari et Kakkar, 2008).

2.2.1.2. Espèces réactives de l'azote

Ceux-ci comprennent l'anion peroxydinitrite (ONOO^-), le radical monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$), le radical dioxyde d'azote ($\text{NO}_2\cdot$) les autres oxydes d'azote résultent de la réaction des moxydes d'azote avec l' O_2 (Kumari et Kakkar, 2008).

Tableau 1. Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk, 2013).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Monoxyde d'azote	$\text{NO}\cdot$	Oxygène singlet	O_2
Radical hydroxyle	$\text{OH}\cdot$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Anion superoxyde	$\text{O}_2\cdot$	Acide hypochlorique	HOCl
Radical peroxyde	$\text{ROO}\cdot$	Peroxydinitrite	ONOO^-
Radical alkoxyde	$\text{RO}\cdot$	Peroxyde organique	ROOH

2.2.2. Principales sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont indispensables à la vie, mais ils sont aussi le fléau de notre existence, ayant de multiples origines tant à l'intérieur qu'à l'extérieur du corps (Haleng *et al.*, 2007).

2.2.2.1. Sources endogènes

Les sources endogènes de ERO comprennent différents organes cellulaires tels que les mitochondries, les peroxysomes et le réticulum endoplasmique, où la consommation d'oxygène est élevée (Phaniendra *et al.*, 2015).

Une autre source de production de ERO est la NADPH oxydase, une enzyme à plusieurs sous-unités qui catalyse la production de superoxyde en transférant un électron de la NADPH à l'oxygène moléculaire (Tarafdar et Pula, 2018). La NADPH oxydase, initialement présente dans les neutrophiles, existe également dans d'autres tissus et divers types de cellules, en particulier dans les cellules de l'appareil digestif, notamment dans les cellules épithéliales du côlon et les cellules musculaires lisses vasculaires (Fu *et al.*, 2014). La NADPH oxydase leucocytaire qui est principalement exprimée dans les neutrophiles polymorphonucléaires joue un rôle crucial dans la défense antimicrobienne de l'hôte (Kobayashi *et al.*, 2018).

2.2.2.2. Sources exogènes

Les sources exogènes ERO proviennent principalement de l'exposition à la pollution environnementale, aux métaux lourds tels que Cd, Hg, Pb, Fe et As, les solvants industriels, le tabagisme, certains médicaments comme la cyclosporine, tacrolimus, la bléomycine et la

gentamycine, la cuisson (viande fumée, huile et graisse usagées), l'alcool et les radiations (Phaniendra *et al.*, 2015).

2.3. Dommages induits par le stress oxydatif

2.3.1. Oxydation de l'ADN

Les bases puriques et pyrimidiques et le désoxyribose dans l'ADN sont des cibles potentielles pour les RLs, en particulier le radical hydroxyle HO[•] (Haleng *et al.*, 2007).

Il existe cinq principaux types de dommages oxydatifs médiés par les radicaux hydroxyles qui peuvent être produits (Albert *et al.*, 2003) :

- Des cassures de brins.
- Les adduits intra-caténares.
- Des pontages ADN/Protéines.
- Les bases oxydées.
- Les sites abasiques.

2.3.2. Peroxydation lipidique

In vivo, la peroxydation des lipides est un phénomène très important. Les membranes cellulaires sont riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) et la peroxydation des lipides membranaires altère leur fonction (perméabilité, changements de fluidité, perte d'enzymes, etc.). La peroxydation lipidique des AGPI est une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule en trois étapes : initiation, propagation, terminaison (Josiane et Pierre, 2006).

2.3.3. Oxydation des protéines

Les protéines sont sensibles à l'oxydation par les ERO. Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques et altérer la chaîne protéique. Il le fait en ajoutant des produits issus de la peroxydation. Les dommages aux protéines peuvent se produire par oxydation des thiols, carbonylation, fragmentation ou mauvais repliement et dépliage, ce qui peut entraîner une perte d'activité des protéines (Pisoschi et Pop, 2015). Les protéines oxydées deviennent également hautement hydrophobes en éliminant les groupes amines ionisables ou en externalisant une zone centrale hydrophobe et en formant des amas anormaux à l'intérieur ou autour de la cellule (Goto et Radak, 2013).

Un produit majeur de l'oxydation des protéines est le carbonyle, qui est utilisé comme marqueur du stress oxydatif. Les acides aminés particulièrement susceptibles d'être attaqués par les ROS sont la proline, l'arginine, la lysine et la thréonine. L'oxydation de leurs chaînes latérales forme des groupes carbonyle (aldéhydes et cétones) (Pisoschi et Pop, 2015).

2.4. Effet du stress oxydatif sur la santé humaine

Le stress oxydatif provoque plusieurs effets néfastes sur la santé dans la population générale et chez certains patients souffrant de maladies métaboliques, chroniques et aiguës.

Tableau 2. Le stress oxydatif et les pathologies (Aliouat et Boukelia, 2014).

Organe	Les dommages causés par les RLs
Cerveau	Parkinson, Alzheimer
Cœur	Infarctus cardiomyopathie
Articulation	Arthrite rhumatoïde
Œil	Cataracte, Rétinopathie
Rein	Transplantation
Poumon	Asthme, détresse respiratoire, emphysème
Erythrocytes	Malaria, anémie de Franconie
Vaisseau	Athérosclérose, hypertension
Intestin	Pancréatite, Ulcère
Peau	Brûlures, vieillissement (Rides)

3. Antioxydants

Halliwell et Gutteridge (1989) ont défini le terme antioxydants comme des substances qui retardent ou inhibent de manière significative l'oxydation des substances oxydables lorsqu'elles sont présentes à de faibles concentrations par rapport à ces substances (**Figure 5**). Les antioxydants sont la première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène et, bien sûr, la protection contre leur formation (**Figure 6**). Cette définition inclut les composés de nature enzymatique et non enzymatique (Sies, 1997).

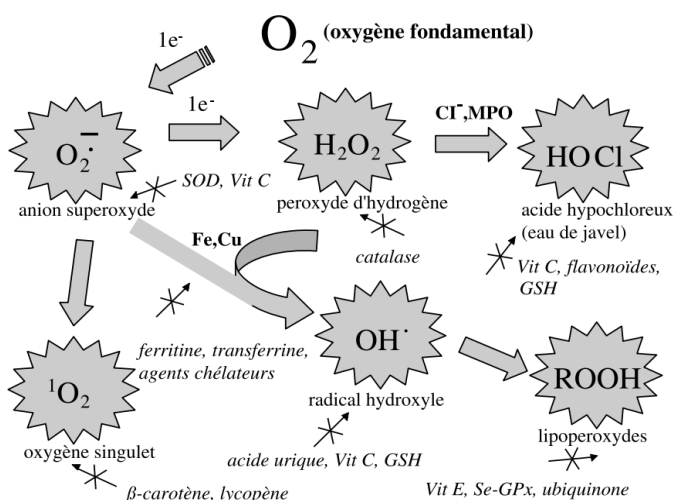


Figure 5. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes (Pincemail *et al.*, 2002)

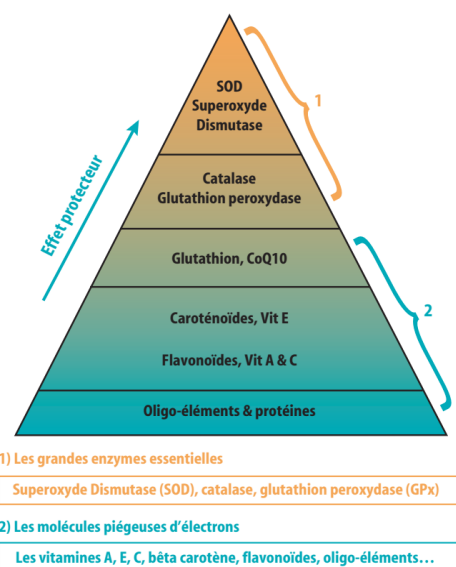


Figure 6. Les paramètres utilisés dans les défenses antioxydantes (Menvielle-Bourg, 2005)

3.1. Types des antioxydants

3.1.1. Exemples d'antioxydants enzymatiques

Pour lutter contre les attaques des ERO, les organismes ont mis au point des systèmes antioxydants visant à :

- Élimination des espèces réactives de l'oxygène et des catalyseurs pour leur formation.
- Induction de la synthèse d'antioxydant.
- Augmente l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées (Pelletier *et al.*, 2004).

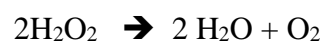
Les antioxydants enzymatiques les plus importants sont : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR) et la glutathion peroxydase (GPx).

3.1.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une enzyme qui joue un rôle important dans les mécanismes de défense des cellules vivantes exposées à l'oxygène. La SOD catalyse la dismutation du radical anion superoxyde (O_2^\bullet) en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Cette réaction est reconnue comme un système antioxydant qui protège les cellules de la toxicité du superoxyde. Il existe plusieurs types de SOD, selon le type d'ion métallique (Aldini *et al.*, 2011).

3.1.1.2. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique contenant de l'hème qui catalyse la dismutation de H_2O_2 en H_2O et O_2 selon la formule :



La catalase a l'un des taux de renouvellement les plus élevés de toutes les enzymes. Une molécule de CAT peut convertir 6 millions de molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 par minute (Gill et Tuteja, 2010).

3.1.2. Antioxydants non enzymatiques

3.1.2.1. Exemples d'antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène

- **Glutathion**

Le glutathion est un tripeptide (glycine-cystéine-acide glutamique) et l'un des métabolites considérés comme la principale défense intracellulaire contre les dommages oxydatifs induits par les ROS. Le glutathion joue un rôle dans plusieurs processus : régulation du transport des sulfates, conjugaison des métabolites, détoxification des xénobiotiques (Gill et Tuteja, 2010).

3.1.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène

- **Polyphénols et flavonoïdes**

Les phénols sont divers métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, hydroxycinnamates et lignine) qui sont abondants dans les tissus végétaux. Les flavonoïdes, un groupe de composés phénoliques, sont largement distribués dans le règne végétal et se trouvent couramment dans les feuilles, les parties florales et le pollen. Leur capacité à agir comme antioxydants dépend de leur réductibilité et de leur accessibilité aux radicaux. Ils sont très réactifs en tant que donneurs d'électrons, peuvent stabiliser et délocaliser les électrons non appariés (c'est-à-dire la fonctionnalité de scission de brin) et peuvent chélater les transitions d'ions métalliques (arrêt de la réaction de Fenton) (Yadav et Sharma, 2016).

4. Présentation de la plante d'étude

Matricaria est un genre de la famille des Astéracées. Certaines de ces espèces portent le nom commun de matricaire. Les plantes portant le nom de genre *Chamomilla* sont aujourd'hui incluses dans le genre *Matricaria* (Heydrova, 2020).

Le genre *Matricaria* comprend environ 30 espèces. La plupart sont très courants régions tempérées d'Europe, d'Asie et d'Amérique, ainsi que du nord et Afrique du Sud (Heydrova, 2020).

4.1. Description botanique

La matricaire est une plante herbacée annuelle de 50 cm à 1,5 mètre de haut, aux tiges dressées et ramifiées. Les feuilles sont alternes, sessiles, épaisses, charnues, très divisées et en bandes avec des stomates acellulaires. Les fleurs sont jaunes au centre et blanches en périphérie, très parfumées et regroupées en capitules simples au sommet des branches. Les baies sont très petites, blanc jaunâtre, légèrement convexes (Quézel et Santa, 1963).

4.2. L'espèce *Matricaria chamomilla*

C'est une plante annuelle de 10 à 40 cm de haut, glabre et parfumée. Sa tige unique dressée et très ramifiée porte des feuilles vertes, alternes et profondément divisées à division sans sillon, sans pointes piquantes. Ses fleurs libres en capitule, c'est à dire serrées les unes contre les autres, sans pédoncules et placée sur l'extrémité d'une tige entourée d'une collerette de bractées (involucre) simulant un calice ; capitule de 1,5 à 2,5 mm, ayant des fleurs de deux couleurs différentes, les fleurs du milieu en tube cylindrique (tubuleuses) jaunes à cinq lobes, les fleurs du pourtour en languette blanche (ligulées) souvent réfléchies ; radiées tous sont insérées sur un réceptacle conique. Les fruits sont des akènes (Griseb, 1965 ; Harborne, 1988) (**Figure 7**).

On la trouve dans certaines régions d'Europe, d'Asie, d'Afrique, d'Amérique du Nord et d'Amérique du Sud. Pousse dans les prés, les champs et les faubourgs chemin.

4.3. Classification (Achoub, 2013).

- Embranchement : Angiospermae
- Classe : Dicotyledoneae
- Ordre : Asterales
- Famille : Asteraceae (Compositae)
- Genre : *Matricaria*
- Espèce : *Matricaria chamomilla*

Nom commun : La Camomille

Nom locale : Babounedj.



Figure 7. Plante de Camomille (*Matricaria chamomilla*) (Chauhan *et al.*, 2022).

4.4. Utilisations

C'est une plante médicinale populaire qui a été utilisée à des fins médicinales dans le passé. Pendant des siècles, des extraits de cette plante ont été utilisés par les guérisseurs pour traiter les plaies, les ulcères, l'eczéma, la névralgie, les douleurs rhumatismales, la varicelle et la fièvre (McKay et Blumberg, 2006 ; Srivastava et Gupta, 2007).

La tisane soigne les crampes, les problèmes digestifs et les brûlures, maux d'estomac, ballonnements et crampes intestinales (Dragland *et al.*, 2003; Subiza *et al.*, 1990). Elle est efficace contre l'insomnie, l'irritabilité, les crampes menstruelles et les contractions utérines (Schilder, 1973 ; Švehliková et Repcák, 2000). Des études phytochimiques récentes sur cette plante indiquent que la plupart des effets prouvés de la camomille peuvent être attribués à la forte teneur en terpènes et flavonoïdes contenus dans cette plante (Srivastava et Gupta, 2007). Ces composés sont biologiquement actifs et possèdent des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antipyrétiques et antispasmodiques (Srivastava et Gupta, 2007 ; Niederhofer, 2009).

4.5. Phytochimie

La camomille romaine contient 0,4 à 1,5 % d'huile essentielle avec 85 % d'esters, en particulier avec des esters d'acide méthylacrylique. Contient également de l'alcool (Anthemol), de la pinocalvone et du pinocalveol, 0,6 % de lactones sesquiterpéniques. Les flavonoïdes, l'acide caféique et ses esters glycosylés ; coumarine, acides gras, mucus et minéraux (Bellakhdar, 2007).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Matricaria chamomilla (figure 8) poussant à l'état spontané a été récoltée au mois de Mars 2022 au niveau du campus du pôle universitaire de M'sila auprès du département des sciences de la nature et de la vie. Après être séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré, les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) sont récupérées dans des sacs de papier propres puis conservées jusqu'à utilisation.



Figure 8. *Matricaria chamomilla* poussant au campus du pôle de l'université de m'sila.

2. Procédés d'extraction

2.1. Extraction par macération

L'extraction par macération a été réalisée par l'utilisation de 02 solvants : le méthanol et l'acétate d'éthyle.

Cinquante grammes des parties aériennes la plante d'étude ont été broyées puis soumises à l'extraction par macération dans un erlenmeyer par l'addition de 500 ml de méthanol ou acétate d'éthyle. Le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24h à température ambiante. Après filtration à travers du papier Whatman, le solvant a été évaporé sous vide à 40°C à l'aide d'un

évaporateur rotatif et l'extrait obtenu a été séché à 40°C dans une étuve (**figure 9**). Enfin l'extrait sec a été récupéré, pesé et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (Atere *et al.*, 2018).

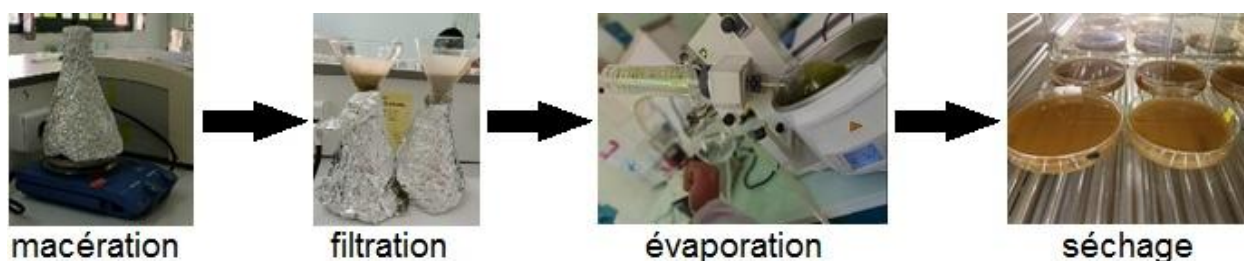


Figure 9. étapes d'extraction par macération.

2.2. Extraction par décoction

L'extrait aqueux (EA) de la plante a été obtenu par décoction ; 20 g de plante en poudre ont été ajoutés à 400 ml d'eau distillée, puis portés à ébullition avec agitation pendant 30 minutes. Le décocté a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman (**figure .10**). L'extrait aqueux a été concentré par séchage dans une étuve à 40 °C, puis recueilli et stocké à 4 °C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Akassa *et al.*, 2019).

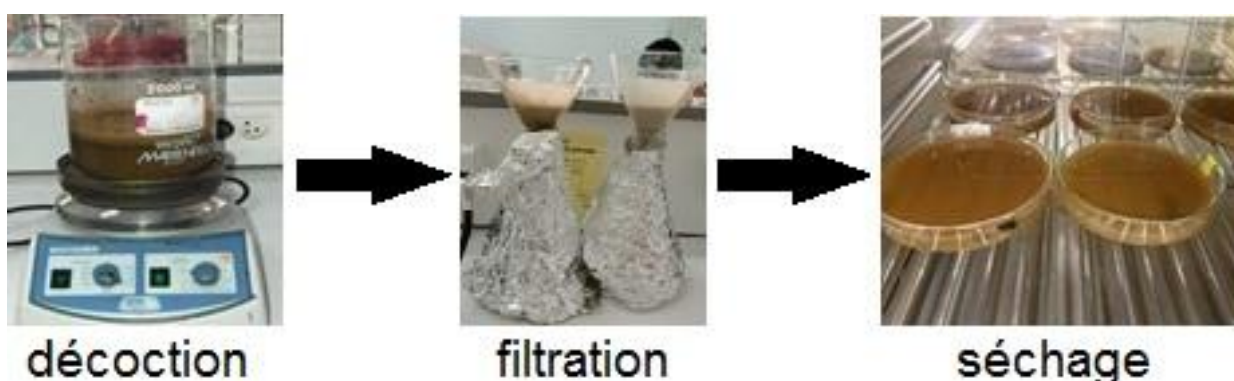


Figure 10. étapes d'extraction aqueuse par décoction.

2.3. Calcul du rendement

Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule :

$$\text{Rendement (R)\%} = M_{\text{Ext}} / M_{\text{Ech}} \times 100$$

Où

M_{Ext} : Masse de l'extrait après séchage en g.

M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols

Tous les composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), qui lors de l'oxydation du phénol est réduit en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Ce dernier a un maximum d'absorption à 765 nm et son intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Matricaria chamomilla* a été déterminé selon Delgado *et al.* (2019). Brièvement, 100 μ l de solutions de différentes concentrations d'extrait sont ajoutés à 500 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, ajouter 400 μ l de Na_2CO_3 (7,5 %). Le mélange est incubé pendant 2 heures à température ambiante et l'absorbance est lue à 765 nm. L'acide gallique (0-200 μ g/ml) est le standard utilisé pour construire la courbe d'étalonnage pour le calcul de la concentration en polyphénols totaux dans l'extrait. Les résultats sont exprimés en μ g d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait (μ g EAG/mg extrait).

3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée à l'aide de la méthode (Baharun *et al.*, 1996). A chaque ml de l'échantillon ou du standard (préparé dans du méthanol) est ajouté 1 ml de solution $AlCl_3$ (2 % dans méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 415 nm. Les concentrations en flavonoïdes ont été dérivées en utilisant une courbe standard générée avec différentes concentrations de quercétine (2,5 - 40 μ g/ml).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en μ g d'équivalents quercétine par mg d'extrait sec (μ g EQ/mg d'extrait).

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1. Test de DPPH

Le pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'extrait de *Matricaria chamomilla* a été déterminé en utilisant le 2,2-diphényl-1picrylhydrazole (DPPH) comme radical libre. Le DPPH violet stable est converti à la forme réduite jaune de DPPH-H, mesurable par spectrophotométrie (Kamal *et al.*, 2013) (Figure 11). Cette méthode est basée sur la capacité de l'extrait à piéger les radicaux DPPH \cdot (Ita et Eduok, 2017).

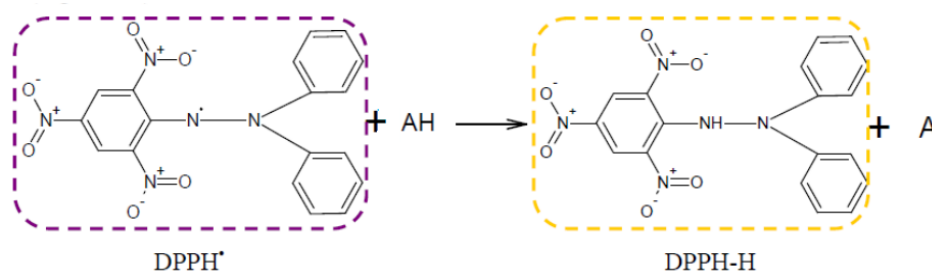


Figure 11. Réduction du radical DPPH• (Popovici *et al.*, 2009)

Un volume de 1 ml de la solution méthanolique de l'extrait méthanolique (EM), l'extrait aqueux (EA) ou l'extrait Acétate d'éthyle (EAE) (à différentes concentrations : 3,9 à 1000 µg/ml) est mélangé avec 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%, w/v de 3heures). Dans le contrôle l'extrait testé est remplacé par le méthanol. Le milieu réactionnel est vigoureusement agité puis incubé à l'obscurité pendant 30min à la température ambiante. L'absorbance à 517nm est ensuite mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Le BHT est utilisé comme standard et le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I (\%) = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100$$

Où **I (%)** est le pourcentage d'inhibition ;

A_c est l'absorbance du contrôle ;

A_t est l'absorbance de l'échantillon (extrait).

La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC₅₀) est calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'EM, l'EA ou de l'AE (Boudjouref *et al.*, 2018).

4.2. Test de capacité antioxydante totale (TAC)

L'activité antioxydante totale des extraits a été évaluée par la méthode au phosphomolybdate en utilisant l'acide ascorbique (AA) comme standard (Gamage *et al.*, 2021). Le dosage est basé sur la réduction de Mo (VI)-Mo (V) par l'extrait et la formation ultérieure d'un complexe phosphate vert/Mo (V) à pH acide. Une aliquote de 0,1 ml d'extrait a été mélangée avec 0,9 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes contenant la solution réactionnelle ont été incubés à 95°C pendant 90 min. Une fois les échantillons refroidis à température ambiante, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Le méthanol et l'eau distillée (0,1 ml) à la place de l'extrait est utilisé comme blanc. Les équivalents d'acide ascorbique ont été calculés en utilisant le graphique standard de l'AA (0-300 µg/ml). L'expérience a été réalisée en triple et les valeurs sont exprimées en équivalent d'acide ascorbique en µg par mg d'extrait (µg EAA / mg extrait).

4.3. Blanchiment du β -carotène

Dans ce test l'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène. L'acide linoléique dans les systèmes d'émulsion aqueuse génère des radicaux peroxydes. Les peroxydes oxydent le bêta-carotène hautement insaturé, lui faisant perdre sa couleur caractéristique. La présence d'antioxydants réduit l'intensité de la destruction du β -carotène en neutralisant les radicaux libres générés, permettant ainsi d'empêcher l'oxydation et le blanchiment du β -carotène (Unten *et al.*, 1997).

En bref, 1 mg de β -carotène dans 10 ml de chloroforme est mélangé avec 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme est évaporé à 40°C sous pression réduite d'un évaporateur rotatif. Cent millilitres (100 ml) d'eau distillée saturée en oxygène sont ensuite ajoutés et le mélange résultant est agité vigoureusement. Le milieu réactionnel contient 2,5 ml d'émulsion β -carotène/acide linoléique et 0,5 ml de solution d'extraction (2 mg/ml) ou d'antioxydant de référence BHT (des concentrations de BHT et des extraits d'échantillons ont été préparés dans le méthanol). Après agitation, l'absorbance a été mesurée immédiatement à 470 nm (au temps $t = 0$ min) et les mélanges ont été ensuite incubés pendant 2 heures à 50°C. L'absorbance des mélanges est à nouveau mesurée après incubation (au temps $t = 120$ min) (Prache., 2011).

La capacité antioxydante des différents extraits a été comparée avec celle de l'antioxydant de référence BHT utilisé comme contrôle positif. Dans le contrôle négatif, l'extrait a été remplacé par un volume égal de méthanol. Toutes les déterminations ont été effectuées en trois exemplaires et la moyenne des résultats a été calculée.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin selon l'équation suivante :

$$\text{L'inhibition } I (\%) = [(A_{120} - C_{120}) / (C_0 - C_{120})] \times 100$$

A_{120} : absorbance échantillon au temps $t = 120$ min.

C_{120} : absorbance contrôle au temps $t = 120$ min.

C_0 : absorbance contrôle au temps $t = 0$ min

Les résultats ont été exprimés en valeurs d'IC₅₀ (μ g/ml) (la concentration requise pour provoquer 50% d'inhibition du blanchiment du β -carotène).

5. Analyse statistique

Toutes les analyses de l'activité antioxydante sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA) unidirectionnelle

ordinaire. Les comparaisons statistiques ont été faites par le test de comparaisons multiples de Tukey, $P < 0.05$, ($n = 3 \pm SD$).

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Rendement en extraits de la plante

Les rendements de *Matricaria chamomilla* en extraits, ainsi que quelques caractéristiques de ces extraits sont résumés dans le **tableau 3**.

Tableau 3. Rendements en différents extraits de *Matricaria chamomilla*.

Extrait	Méthode d'extraction	Aspect	Couleur	Rendement (% , m/m)
EM	Macération	Pâteux	Vert foncé	14.8
EAE	Macération	Pâteux	Vert foncé	3.6
EA	Décoction	Poudreux	Marron claire	29

D'après le tableau, *Matricaria Chamomilla* a donné un rendement en extrait aqueux plus élevé suivi de l'extrait méthanolique, puis un rendement minimal en extrait d'acétate d'éthyle.

Ces résultats montrent que les rendements d'extraction dépendent de la méthode, du type de solvant, de la température, du temps d'extraction et de la composition de l'échantillon.

La variation du rendement des composés phénoliques entre les extraits peut être liée à des paramètres d'extraction spécifiques tels que la polarité, la solubilité et le type et la concentration du solvant, la température et le temps d'extraction (Safdar *et al.*, 2017). Le moment de la récolte affecte également le rendement d'extraction (Kelen and Tepe, 2008 ; Telli *et al.*, 2010).

Dans cette étude, la méthode de macération avec agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact entre le solvant et l'extrait tout en préservant la bioactivité des composants (Rahmani, 2005). De même, réaliser cette extraction à température ambiante et éliminer le solvant sous pression réduite permet d'obtenir un maximum de composés en évitant d'éventuelles dénaturations et modifications dues aux hautes températures.

L'eau a tendance à extraire plus de composés que les autres solvants. Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant hautement polaire et est connue pour extraire une large gamme de molécules, y compris de grandes quantités de composés non phénoliques tels que les glucides et les protéines (Bonnaillie *et al.*, 2012).

2. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux (PPT) ont été dosés par la méthode du réactif de Folin-Cioaltea (Singleton *et al.*, 1999). L'acide gallique a été utilisé comme standard ; une courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations (0 - 250µg/ml) (**Figure 1 / Annexe**) ;

des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 760 nm. Les teneurs en polyphénols ont été déterminées selon l'équation : $Y = 0,008x + 0,050$. Les résultats sont présentés dans la figure.12 :

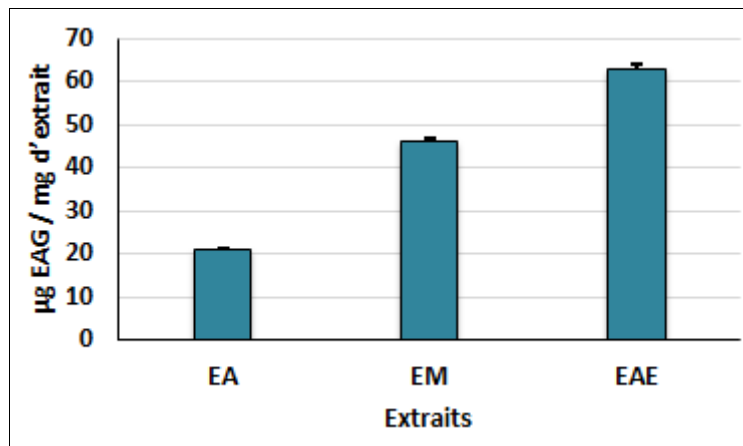


Figure 12. Teneurs en PPT (µg EAG /mg) des extraits EA, EM et EAE de *M. chamomilla*.

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'extrait d'éthyle acétate (EAE) représente une teneur très élevée en polyphénols ($62,833 \pm 1,018$ µg EqAG/mg d'extrait) par rapport l'extrait méthanolique (EM) et l'extrait aqueux (EA) respectivement ($46,083 \pm 0,722$ µg EAG/mg d'extrait) ($20,917 \pm 0,191$ µg EAG/mg d'extrait).

Les résultats trouvés dans l'étude réalisée par Bencheikh (2018) avec l'espèce *Matricaria chamomilla* ont montré que la teneur en polyphénols dans l'EM est $299,14 \pm 0,102$ µg EqAG/mg d'extrait et l'EAE $2079,65 \pm 0,048$ µg EqAG/mg d'extrait et l'EqAE $146,97 \pm 0,046$ µg EqAG/mg d'extrait, qui est supérieur à nos résultats.

Des études ont montré que des facteurs environnementaux tels que les précipitations et la température, la composition du sol, la période de croissance et de récolte, l'emplacement géographique, la maturité des cultures et la durée de stockage, et les différences dans les méthodes d'extraction et les dosages peuvent modifier les niveaux de composés phénoliques (Borges *et al.*, 2013).

3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes ont été mesurés en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium et l'étalon était la quercétine. Une courbe d'étalonnage a été tracée avec la quercétine à différentes concentrations (0-250 µg/ml) (Figure 2 / Annexe) ; des mesures de la densité optique pour chaque

extrait ont été réalisées à 415 nm. Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées par l'équation : $Y=0,013x + 0,485$. Les résultats sont présentés dans la figure 13 :

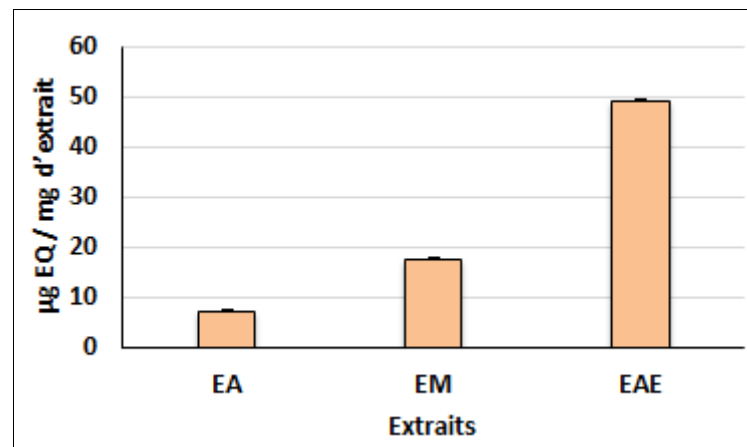


Figure 13. Teneurs en FT (µg EQ/mg) des extraits EA, EM et EAE de *M. chamomilla*.

Les résultats du dosage des flavonoïdes montrent que l'extrait d'EAE représente une teneur très élevée en flavonoïdes ($48,929 \pm 0,261$ µg EQ/mg d'extrait) que l'EM et l'EA ($17,583 \pm 0,246$ µg EQ/mg d'extrait) ($7,381 \pm 0,102$ µg EQ/mg d'extrait), respectivement.

De même, les résultats de l'étude réalisée par Bencheikh, (2018) sur l'espèce *M. chamomilla* ont montré que la teneur en flavonoïdes de l'EM est de $149,33 \pm 0,0046$ µg EAG/mg, celle de l'EAE est de $265,33 \pm 0,030$ µg EAG/mg et de $137,22 \pm 0,029$ µg EAG/mg pour l'EA. Ces teneurs sont plus élevées que celles de notre plante.

La concentration de flavonoïdes dans les extraits de plantes dépend de la polarité du solvant utilisé pour préparer l'extrait (Stankovic *et al.*, 2011).

4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les processus oxydatifs sont très divers, tout comme la nature de l'activité antioxydante, qui peut être attribuée à différents mécanismes tels que : l'élimination des radicaux libres (effet piègeur), la chélation (réduction) des ions de métaux de transition et la prévention de l'initiation des chaînes d'oxydation qui génèrent des ERO (Ozen, 2009). Il est donc raisonnable de combiner plusieurs tests antioxydants complémentaires pour évaluer la capacité antioxydante des extraits végétaux ou de leurs polyphénols (Ksouri *et al.*, 2009).

4.1. Test de DPPH

Ce test est présenté par un graphique montrant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait (Bidie *et al.*, 2011). L'activité antioxydante de l'extrait a été exprimée en IC₅₀ (la concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition des radicaux) et les résultats sont présentés au **tableau 4**. Selon Kadri *et al.* (2011). Une valeur faible de IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait d'inhiber les radicaux libres, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait.

Tableau 4. Les valeurs IC₅₀ des extraits EA, EM et EAE de *M. chamomilla* et du BHT dans le test de DPPH.

	EA	EM	EAE	BHT
IC ₅₀ (µg/ml)*	339,790 ± 2,957	55,861 ± 0,373	241,818 ± 1,254	21,841 ± 0,268

*Les valeurs sont significativement différentes selon l'analyse ANOVA unidirectionnelle ordinaire suivie par le test de comparaisons multiples de Tukey, p<0.05, (n=3±SD).

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard ou pour les extraits testées (**Figure 3 / Annexe**).

D'après les résultats du tableau 4, l'ordre des extraits et du standard ayant une activité de piégeage du radical DPPH du plus fort au plus faible est le suivant BHT > EM > EAE > EA.

En comparaison avec l'antioxydant standard (BHT) les trois extraits de *Matricaria chamomilla* s'avèrent moins actifs. L'EM possède une activité antioxydante plus élevée que celle de l'EAE. Celui-ci possède une activité antioxydante plus élevée que l'EA. Le pouvoir piégeur de nos extraits paraît moins fort par rapport à celui rapporté par d'autres chercheurs (Ayoughi *et al.*, 2011 ; Bouden, 2019 ; Alia *et al.*, 2019). Les différences de valeurs d'IC₅₀ peuvent être dues d'une part aux différentes concentrations de DPPH et du temps d'incubation dans le test, et d'autre part à d'autres facteurs endogènes et exogènes pouvant influencer la composition chimique de la plante (Sharma *et al.*, 2009).

4.2. Test de capacité antioxydante totale (TAC)

Les résultats de la capacité antioxydante totale des extraits EA, EM, EAE de la plante étudiée sont exprimés en µg équivalents d'acide ascorbique par mg d'extrait (µg EqAA / mg d'extrait). Se

sont déterminés à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Figure 4/ Annexe) : les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 5 :

Tableau .5. La capacité antioxydante totale des différents extraits bruts de *Matricaria chamomilla*.

	EA	EM	EAE
TAC ($\mu\text{g EqAA} / \text{mg}$)*	253,204 \pm 0,160	155,565 \pm 0,736	249,750 \pm 0,409

*Les valeurs sont significativement différentes selon l'analyse ANOVA unidirectionnelle ordinaire suivie par le test de comparaisons multiples de Tukey, $p < 0.05$, ($n=3 \pm \text{SD}$).

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits EA et EAE de *M. chamomilla* possèdent des capacités antioxydantes proches mais statistiquement différentes : 253.204 ± 0.160 et $249.750 \pm 0.409 \mu\text{g EqAA} / \text{ml}$. Les extraits EA et EAE possèdent une capacité antioxydante totale supérieure à celle développée par l'EM ; 155.565 ± 0.736 .

Vu le manque de travaux antérieurs sur la capacité antioxydante totale des extraits de la plante *M. chamomilla*, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus par d'autres espèces du même genre. La capacité antioxydante totale des extraits EM, EA et EAE est meilleure par rapport à celle rapportée par d'autres chercheurs pour d'autres espèces du même genre (*Matricaria pubescens*) (Berra, 2015).

La variabilité de l'activité antioxydante entre les trois peut s'expliquer par la teneur en composés phénoliques, vraisemblablement due aux propriétés redox des composés phénoliques agissant comme agents réducteurs.

4.3. Test Blanchiment du β -carotène

Dans l'essai β -carotène/acide linoléique, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques et des hydroperoxydes de diènes conjugués résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2005).

Le test est déterminé avec un graphique montrant le pourcentage l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène en fonction de la concentration de l'extrait et les résultats obtenus sont présentés dans (**Figure 5 / Annexe**). Il est évident que tous les extraits testés inhibent l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène.

D'après ces résultats, il apparaît qu'il y a une augmentation du pourcentage de l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène proportionnelle à l'augmentation de la concentration soit pour le standard ou pour les extraits testés.

Le calcul de l'IC₅₀ permet de déterminer les extraits les plus efficaces à l'inhibition du blanchiment du β -carotène. Les résultats obtenus sont exprimés en $\mu\text{g/ml}$ et sont résumés dans le **tableau .6** :

Les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes différentes en fonction du solvant d'extraction.

Le tableau ci-dessus montre que le BHT possède une activité antioxydante plus importante, suivi par l'EM, l'EA puis l'EAE. Ces résultats montrent que les extraits de la plante étudiée sont plus considérables que celles rapportées des plantes du même genre (*Matricaria pubescens*) (Bouden, 2019).

Tableau 6. Les valeurs IC₅₀ des extraits EA, EM et EAE de *M. chamomilla* et du BHT dans le test du β -carotène.

	EA	EM	EAE	BHT
IC₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)*	13,329 \pm 1,352	3,635 \pm 0,475 ^a	31,837 \pm 1,958	2,366 \pm 0,199 ^a

* Les valeurs ayant la même lettre ne présentent pas de différences significatives selon l'analyse ANOVA unidirectionnelle ordinaire suivie par le test de comparaisons multiples de Tukey, $p < 0.05$, ($n=3 \pm \text{SD}$).

Les résultats obtenus montrent que les extraits EM, EA et EAE de *M. chamomilla* ont de très bons effets sur la peroxydation lipidique. Ces résultats suggèrent que l'extrait a une capacité remarquable à réagir avec les radicaux libres pour les convertir en espèces non réactives et interrompre la chaîne de réactions radicalaires. Cela reflète également la solubilité des composés antioxydants dans les deux extraits dans l'huile et l'eau, ainsi que les émulsions.

Il existe des différences qualitatives dans les propriétés des composés phénoliques qui affectent l'activité antioxydante. Selon Liyana et Shahidi (2006), les extraits qui inhibent ou retardent le blanchiment du β -carotène peuvent être décrits comme des piègeurs de radicaux libres et des antioxydants clés.

Les chercheurs ont étudié plus en détail la capacité antioxydante de l'extrait de *M. chamomilla* et ont finalement conclu que les polyphénols sont responsables de ses propriétés antioxydantes (Benammar *et al.*, 2010 ; Lamien-Meda *et al.*, 2008). Les résultats de Rached *et al.* (2010) ont montré qu'un extrait au méthanol de *M. chamomilla* avait une activité antioxydante

inferieure ($9,14 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$) par rapport au BHA, qui était utilisé comme contrôle positif ($4,15 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$).

CONCLUSION

Conclusion et prescriptives

Les molécules isolées à partir de plantes médicinales présentent un grand intérêt pour être utilisées dans les thérapies alternatives ou comme modèles synthétiques pour de nouvelles substances bioactives. Dans cet axe était l'objectif de notre étude ; c'est l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante médicinale *Matricaria chamomilla* sous forme d'extraits issus par les solvants méthanol, acétate d'éthyle et l'eau.

Parmi les méthodes traditionnelles pour le traitement de plusieurs maladies, on trouve le plus souvent les extraits végétaux issus par décoction et la macération. Nous avons adopté ces deux méthodes ; la décoction dans l'eau bouillante pendant 30 min, et la macération par l'utilisation de 02 solvants ; le méthanol et l'acétate d'éthyle pendant 48 heures. Les résultats ont montré une différence de rendement d'extraction en fonction de la méthode d'extraction et la nature du solvant appliqué.

Les polyphénols trouvent aujourd'hui un grand intérêt en raison de leurs capacité antioxydante et ainsi leurs effets chimioprotecteurs et inhibiteurs sur la peroxydation des lipides. Deux méthodes quantitatives ont été utilisées pour la détermination des teneurs des extraits réalisés en polyphénols et en flavonoïdes totaux ; la première est celle du Folin-Ciocalteu qui a montré que les trois extraits détiennent des teneurs élevées en PPT, allant de 20.17 à 62.83 mg EAG/g, la deuxième qui est celle d'AlCl₃ a montré que les trois extraits contiennent des quantités moyennement importantes en flavonoïdes, allant de 7.38 à 48.93 mg EQ/g d'extrait.

Pour vérifier la capacité de présenter une activité antioxydante de la plante d'étude, trois méthodes ont été appliquées pour l'évaluer ; piégeage du radical libre DPPH, capacité antioxydante totale par l'utilisation de l'acide ascorbique et blanchiment du β -carotène. Les résultats ont montré la variabilité de la capacité antioxydante qui est, d'une part, dépendante de type d'extrait, et d'autre part du test d'évaluation appliqué : les valeurs d'IC₅₀ varient de 55.86 μ g/ml, pour l'extrait d'acétate d'éthyle, à 339.79 μ g/ml pour l'extrait aqueux, par rapport au test de DPPH ; et de 6.04 μ g/ml, pour l'extrait méthanolique, à 32.61 μ g/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle, par rapport au test du blanchiment du β -carotène. La capacité antioxydante totale de la plante était considérable et allant de 253.20 μ g EAA / mg, pour l'extrait aqueux, à 155.56 μ g EAA / mg pour l'extrait méthanolique.

Comme l'activité antioxydante des composés phénoliques dépend du système oxydant et du mécanisme d'oxydation, trois tests différents ont été réalisés. D'après les résultats de l'activité antioxydante, on peut conclure que notre plante est dotée de propriétés antioxydantes importantes ; celles-ci sont liées à la totalité des extraits testés car, en fonction du test d'évaluation appliqué, la

valeur de la capacité antioxydante change, d'une part, et le même extrait ne présente pas la même priorité si l'on considère la totalité des tests appliqués d'autre part. L'un des extraits (extrait méthanolique) a montré une activité aussi importante que celle de l'antioxydant de référence, le BHT.

Comme perspectives pour consolider et continuer ce travail, des recherches peuvent être faites dont le but de :

- Évaluer d'autres activités biologiques (anti tumorale, anti cancéreuse, antiinflammatoire, antibactérienne, antidiabétique, anticoagulante et autres...).
- Mener des études complémentaires pour isoler, purifier, et identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante à l'aide de techniques d'identification plus efficaces,
- Étudier les mécanismes d'action des composés phénoliques impliqués dans l'activité antioxydante *in vivo*.

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Achoub H., 2013: In thèse Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase n- butanol. Thèse Magister en Chimie Organique. Université Constantine p07.
- Akassa, H., Ondele R., Peneme, B.M.L., Etou Ossibi, A.W., Morabandza, C.J., Tamboura, Abena, H.H., (2019). Activité aphrodisiaque et étude du mécanisme d'action de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Pausinystalia yohimbe* Kschum (Rubiaceae) chez le rat wistar .*Journal of Animal & Plant Sciences*, 39 (1) : 6372-6383.
- Albert, M. G., Rousselot, D. B., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'Actualité Chimique*, 11, 91-96.
- Aldini, G., Yeum, K. J., Niki, E., & Russell, R. M. (Eds.). (2011). *Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications*. John Wiley & Sons.
- Alia, B. B. 2019. Différentes méthodes d'extraction de l'espèce *Matricaria chamomilla*:(analyse chimique et étude biologique).
- Aliouat. A., Boulkelia. N. Activité antioxydante des extraits des graines de la plante *Nigella sativa* L. Thèse en master en Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2014
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Atere, T.G., Akinloye, O.A., Ugbaja, R.N., Ojo, D.A., Dealtry, G., (2018). In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, 10 : 1016.
- Ayoughi, F., Marzegar, M., Sahari, M. A., & Naghdibadi, H. (2011). Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effects. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(1), 79-88.
- Bahorun, T., B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, J. Vasseur, M. Cazin, J. C. Cazin, and M. Pinkas. 1996. "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations." *Arzneimittelforschung* 46 (11):1086-9.
- Bellakhdar J., 2006. *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, Précis de Phytothérapie Moderne*. Editions Le Fennec. Casablanca, Maroc. 385p .Pp : 32-210.
- Benammar, C., Hichami, A., Yessoufou, A., Simonin, A. M., Belarbi, M., Allali, H., & Khan, N. A. (2010). *Zizyphus lotus* L.(Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 1-9.
- Benkhigne O; Zidane L, Fadli M, Elyacoubi H, Rochdi A, Douira A. (2010). «Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc)». *Acta Botanica Barcinonensia*, Vol. 53, p. 191-16.
-

- Bidie, A. P., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'Guessan, J. D., & Djaman, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1-2), 1-12.
- Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de Génie Industriel* ; 7:35-45.
- Borges, L. L., Alves, S. F., Sampaio, B. L., Conceição, E. C., F. Bara, M. T. and Paula, J. R. (2013). Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrcia tomentosa* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(2), 230-238.
- Bouden, I. (2019). Etude de l'activité antiarthritique, antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Matricaria pubescens* (Doctoral dissertation).
- Boudjouref Mourad, BelhattabRachid, Bouteghrine Sihem.(2018). Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria, *World Journal of Environmental Biosciences*.P:62-63
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*, 4 e éd. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 279-281.
- C** Chauhan, R., Singh, S., Kumar, V., Kumar, A., Kumari, A., Rathore, S., ... & Singh, S. (2022). A comprehensive review on biology, genetic improvement, agro and process technology of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Plants*, 11(1), 29.
- Crozier, A., Jaganath, I.B. & Clifford, M.N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep*, 26(8), 1001-1043.
- D** elgado, A. M., Issaoui, M., Chammem, N (2019). Analysis of Main and Healthy Phenolic Compounds in Foods. *Journal of AOAC international*, 102(5), 1356-1364.
- Djoubani Kenza, Hamadouche Naima, BoudraaOuarda., 2017. Evaluation du pouvoir antimicrobien de plusieurs extraits polyphénolique de deux espèces végétales *Chamaemelumnobil* L. et *Matricariachamomilla* L. Mémoire master. Université M'hamed Bougara Boumerdès.
- Dragland, S., Senoo, H., Wake, K., Holte, K., & Blomhoff, R. (2003). Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *The Journal of nutrition*, 133(5), 1286-1290.
- F** ilaire, E., & Toumi, H. (2012). Rôle des dérivés réactifs de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux: amis ou ennemis?. *Revue du rhumatisme*, 79(5), 387-392.
- Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice. 211p.
- Fu, X. J., Peng, Y. B., Hu, Y. P., Shi, Y. Z., Yao, M., & Zhang, X. (2014). NADPH oxidase 1 and its derived reactive oxygen species mediated tissue injury and repair. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
-

- G**amage, D. G. N. D., Dharmadasa, R. M., Abeysinghe, D. C., Wijesekara, R. G. S., Prathapasinghe, G. A., & Someya, T. (2021). Ethnopharmacological survey on medicinal plants used for cosmetic treatments in traditional and ayurveda systems of medicine in Sri Lanka. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Goto, S., & Radak, Z. (2013). Implications of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *Journal of Sport and Health Science*, 2(2), 75-80.
- Grisebahr, (1965), *chemistry and biochemistry of plant pigments*, T. W. GOODWIN, Academic Press, New-York.
- Gutowski, M., Kowalczyk, S (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *ACTA biochimica polonica*, 60(1), 1-16.
- H**aleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Oxidative stress. *Revue medicale de liege*, 62(10), 628-638.
- Harborne JB. *Secondary Plant Products*. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425
- Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M .D. & Hagerman, A .E. (2002). Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *J.Agric. Food Chem*, 50, 1785-1790.
- Heim, K., Tagliaferro, A. & Bobilya, D. (2002). Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584
- Heller, W. & Forkmann, G. (1993). The flavonoids. *Advances in research since 1986*. In heydrova, A. 2020. Taxonomic composition and life forms of the family Asteraceae spreading in daridagh massif area. *Bullentin of sience and practice*, 6(6): 68-72.
- Heydrova, A. 2020. Taxonomic composition and life forms of the family Asteraceae spreading in daridagh massif area. *Bullentin of sience and practice*, 6(6): 68-72.
- Hopkins W. (2003). *Physiologie végétale*. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, 514 p
- I**ta, BN, and SI Eduok. 2017. "Radical Scavenging Activity of Edible Fungal Sporocarp Extracts from the Niger Delta Region of Nigeria." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9 (4):493-497.
- J**osiane, C., & Pierre, C. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*.
-

- K**adri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African journal of biotechnology*, 10(19), 3908-3914.
- Kamal, G. M., Ashraf, M. Y., Hussain, A. I., Shahzadi, A., & Chughtai, M. I. (2013). Antioxidant potential of peel essential oils of three Pakistani citrus species: *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* and *Citrus paradisi*. *Pak. J. Bot*, 45(4), 1449-1454.
- Kelen, M., & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresourcetechnology*, 99(10), 4096-4104.
- Khanbaba K., Ree T.R. Tannins. (2001). Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry* 18, 641-649.
- Kobayashi, S. D., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2018). Neutrophils and bacterial immune evasion. *Journal of Innate Immunity*, 10(5-6), 432-441.
- Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Mhamdi B, Chaieb K, Bakrouf A, Magné C, & Abdelly C (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and chemical toxicology*, 47 : 2083-2091.
- Kumari, A., & Kakkar, P. (2008). Screening of antioxidant potential of selected barks of Indian medicinal plants by multiple in vitro assays. *Biomedical and environmental sciences*, 21(1), 24-29.
- L**amien-Meda, A., Lamien, C. E., Compaoré, M. M., Meda, R. N., Kiendrebeogo, M., Zeba, B., ... & Nacoulma, O. G. (2008). Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules*, 13(3), 581-594.
- Lehout Roumeissa, Laib Maya., 2015. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire Master. Université des Frères Mentouri. Canstantine
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. (2006). Antioxydant propreties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *J. Sci. Food Agric.*;86(3):477-485.
- M**acheix, Jj., Christian, Ja. & Allemand, J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes*, 1-192.
- Macheix, Jj., Christian, Ja. & Allemand, J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes*, 1-192.
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research: An International*
-

Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 20(7), 519-530.

Niederhofer, H. (2009). Observational study: *Matricaria chamomilla* may improve some symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder. *Phytomedicine*, 16(4), 284-286.

Ozen T (2009). Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta poloniae pharmaceutica-drug research*, 66: 187-193.

Pelletier, É., & Campbell, P. G. (2004). *Écotoxicologie moléculaire: Principes fondamentaux et perspectives de développement*. PUQ.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(5), 12-23.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.

Popovici C, Saykova I, & Tylkowski B (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du génie industriel*, 4: 26-39.

Prache S, Gatellier P, Thomas A, Picard B, Bauchart D, 2011. Comparison of meat and carcass quality in organically reared and conventionally reared pasture-fed lambs. *Animal*, 5(12): 2001- 2009.

Quezel F, Santa S. (1962-1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.

Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf, A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *J. Biological. Sciences*, 10(4): 316-324

Rahmani M. (2005). Composition chimique de l'huile d'argan vierge. *Cahiers agricultures*, 14 (5) : 461-465.

Ramos- Tovar, E., & Muriel, P. (2020). Free radicals, antioxidants, nuclear factor- E2- related factor- 2 and liver damage. *Journal of Applied Toxicology*, 40(1), 151-168.

Ribeiro J S, Santos M J M C, Silva L K R, Pereira L C L, Santos I A, Da Silva Lannes S C, Da Silva M V. 2019. Natural antioxidants used in meat products: *A brief review*. *Meat Science*, 148: 181-188

Roux, D. & Catier, O. (2007). *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. Collection du " cahier du préparateur en pharmacie ", 141- 146.

- Safdar, M. N., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K., & Saddozai, A. A. (2017). Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of food and drug analysis*, 25(3), 488-500.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Shebis, Y, Iluz D, Kinel-Tahan Y, Dubinsky Z, Yehoshua Y. 2013. Natural antioxidants: function and sources. *Food and Nutrition Sciences*, 4(6): 643-649.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.
- Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 82
- Srivastava, J. K., & Gupta, S. (2007). Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(23), 9470-9478.
- Stankovic, M. S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33(2011), 63-72.
- Tarafdar, A., & Pula, G. (2018). The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3824.
- Telli, A., Mahboub, N., & Boudjeh, S. (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété Ghars.
- Tepe K, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M., 2005. Antimicrobial and antioxidative activity of essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.). *Journal of food energy*. 69, 335-342
- Unten, L., Koketsu, M., & Kim, M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β -carotene. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(6), 2009-2012.
- Wichtl M., Anton R., 2009. *Plante thérapeutiques*, 2eme édition Lavoisier, 692 p
Catier, O., & Roux, D. (2007). *Botanique pharmacognosie phytothérapie*. Cahiers du préparateur en pharmacie. Groupe Liaisons.
-

ANNEXES

Annexe I

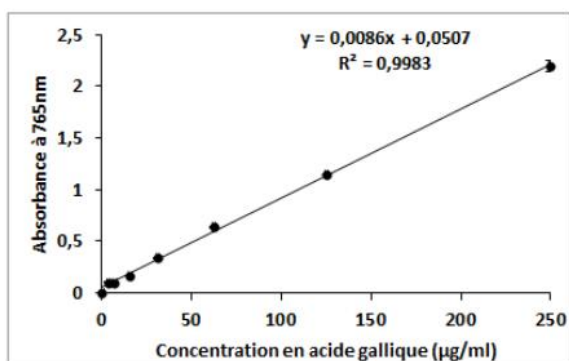


Figure 1 .Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols

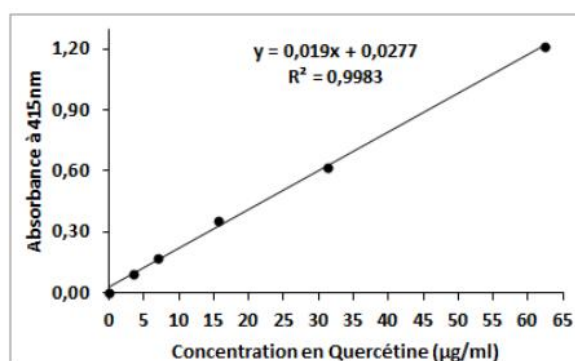


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes

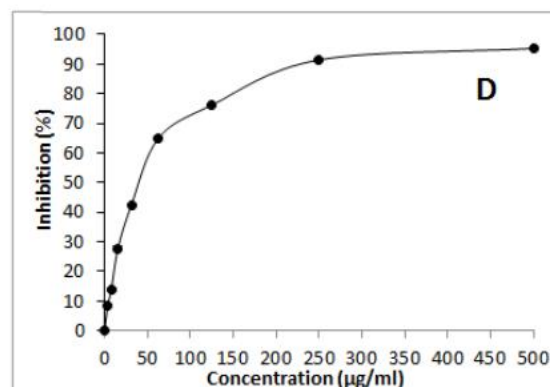
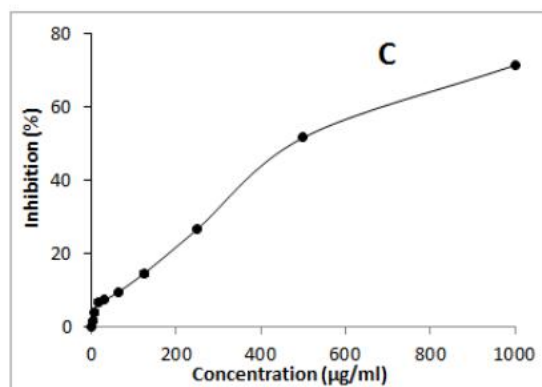
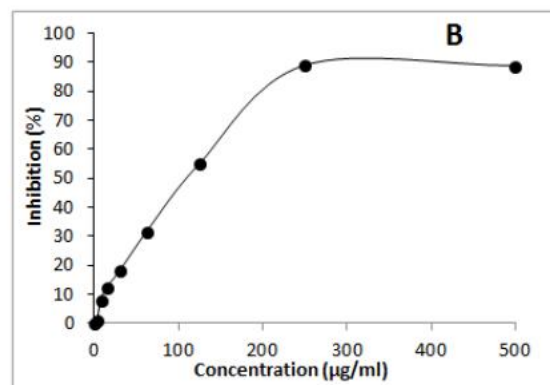
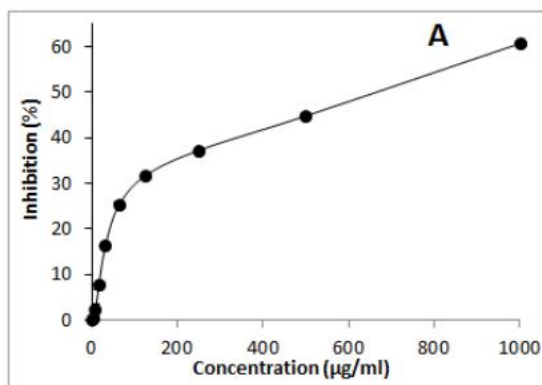


Figure 3. Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations des extraits étudiés : A- extrait aqueux, B- extrait méthanolique, C- extrait acétate d'éthyle , D- BHT.

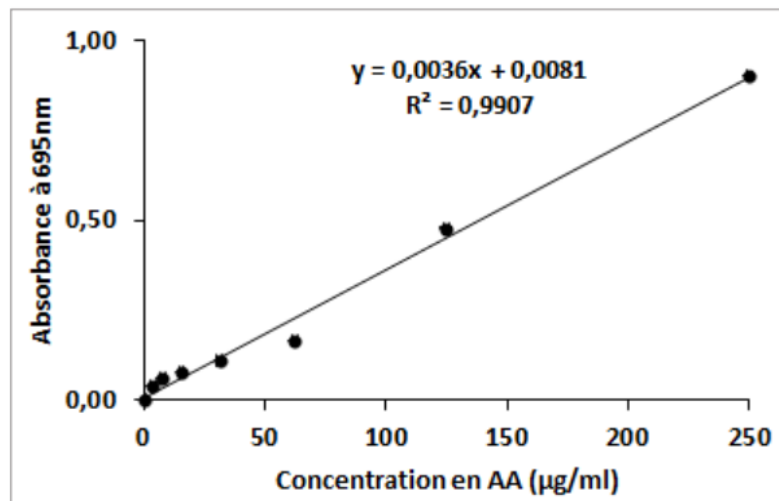


Figure 4. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

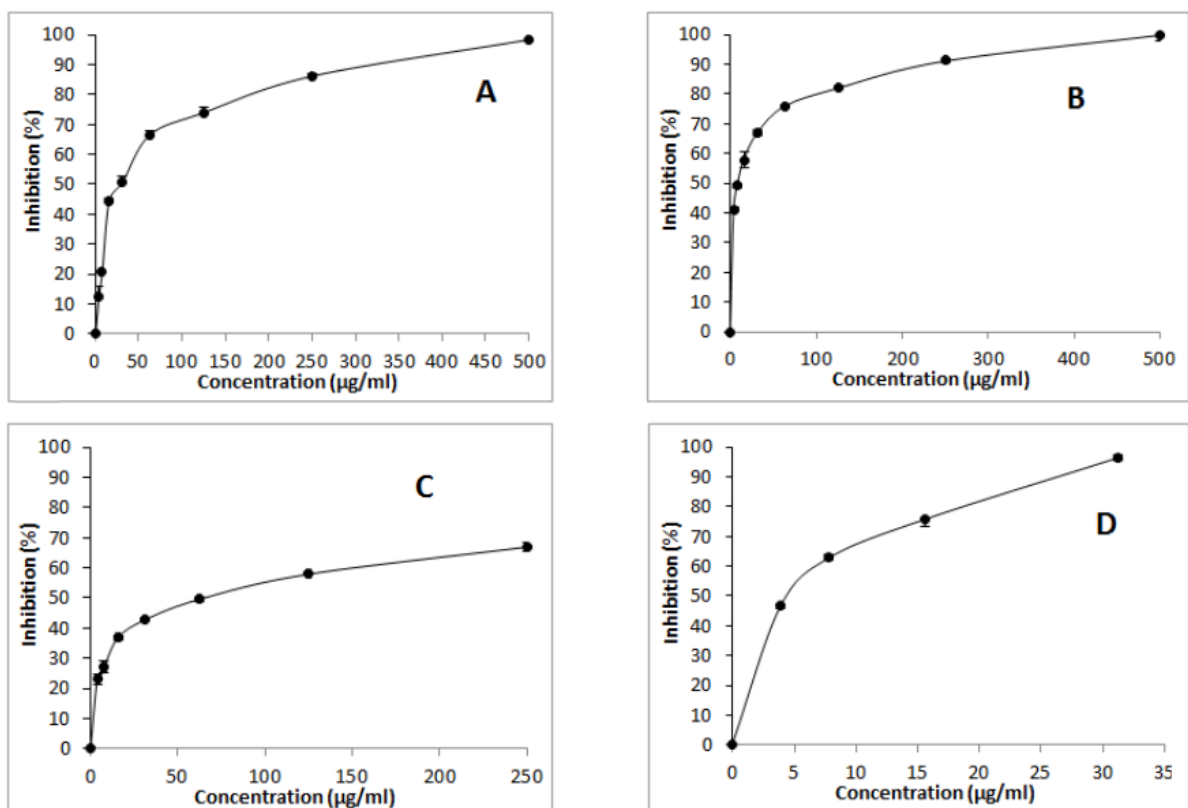


Figure 5. Courbe du pourcentage d'inhibition blanchissement du β -carotène en fonction des concentrations des extraits étudiés: A- extrait aqueux, B- extrait méthanolique, C- extrait acétate d'éthyle , D- BHT.

Matricaria Chamomilla هو نبات طبي من عائلة Asteraceae. هذا النوع المعروف باسم "البابونج" و الذي يحظى بشعبية كبيرة في الجزائر ، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض. الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لكل من المستخلص المائي (EA) والميثانولي (EM) وأسيتات الاثيل (EAE)، من *Matricaria chamomilla* ولتحديد محتواها من المركبات الفينولية، وهي عديدات الفينول والفلافونويدات. تعرضت الأجزاء الهوائية من النبات للاستخراج عن طريق الغلي والنقع. يسجل المستخلص المائي أعلى مردود (29%). تم تحليل المستخلصات لمعرفة محتواها الكلي من البوليفينول والفلافونويد باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج أن EAE ذو محتويات عالية من البوليفينول (62.833 ± 1.018 ميكروغرام من حمض الغاليك/مغ من المستخلص) والفلافونويد (48.929 ± 0.261 ميكروغرام من الكيرسيتين/مغ من المستخلص) مقارنة بمستخلصات EA و EM. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الثلاثة في الزجاج بواسطة اختبار الجذور الحرة DPPH، والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) واختبار تبييض البيتا كاروتين. أظهرت طريقة DPPH أن أفضل التركيزات المثبطة المعبر عنها في IC50 تم الحصول عليها بواسطة EM متبوعاً بـ EAE ثم EA، على التوالي (55.861 ± 0.373 ; 241.818 ± 1.254 ; 339.790 ± 2.957 ميكروغرام / مل). أظهر BHT (المستخدم كعيار) نشاطاً أعلى ($IC_{50} = 21.841 \pm 0.268$ ميكروغرام / مل). تم الحصول على إجمالي قيم مضادات الأكسدة وفقاً للترتيب التالي EM > EAE > EA، على التوالي (253.204 ± 0.160 ; 249.750 ± 0.409 ; 155.565 ± 0.736 ميكروغرام من حمض الأسكوربيك/مغ من المستخلص). أظهرت نتائج تبييض البيتا كاروتين درجات التثبيط المعبر عنها بـ IC50 بواسطة المستخلصات المختبرة بالترتيب EAE > EA > EM، على التوالي (6.045 ± 4.409 ; 15.445 ± 5.767 ; 32.612 ± 2.141 ميكروغرام / مل). وأظهر BHT نشاطاً أكبر ($IC_{50} = 1.292 \pm 1.271$ ميكروغرام / مل).

الكلمات المفتاحية: البوليفينول، الفلافونويد، DPPH، النشاط المضاد للأكسدة، β -carotène، TAC، *Matricaria chamomilla*.

Abstract

Matricaria chamomilla is a medicinal plant of the Asteraceae family. This species known as "chamomile", very popular in Algeria, is widely used in traditional medicine for the treatment of several pathologies. The objective of this work is the evaluation of the antioxidant activity of the extracts; aqueous (AE), methanolic (ME) and ethyl acetate (EAE), of *Matricaria chamomilla* and to determine their content of phenolic compounds, namely, total polyphenols and flavonoids. The aerial parts of the plant were subjected to extraction by decoction and to maceration. The aqueous extract records the highest yield (29%). The extracts were analyzed for their total polyphenol and flavonoid content using the Folin-Ciocalteu method and aluminum trichloride respectively. The results show that EAE exhibited remarkably high contents of polyphenols ($62.833 \pm 1.018 \mu\text{g EAG/mg}$) and flavonoids ($48.929 \pm 0.261 \mu\text{g EQ/mg}$) compared to EA and EM extracts. The antioxidant activity of the three extracts was evaluated *in vitro* by the DPPH free radical, total antioxidant capacity (TAC) and β -carotene bleaching tests. The DPPH method showed that the best inhibitory concentrations expressed in IC_{50} were obtained by EM followed by EAE then EA, respectively (55.861 ± 0.373 ; 241.818 ± 1.254 ; $339.790 \pm 2.957 \mu\text{g/ml}$). However, BHT (used as standard) showed higher activity ($IC_{50} = 21.841 \pm 0.268 \mu\text{g/ml}$). The total antioxidant capacity is obtained according to the following order EA > EAE > EM, respectively (253.204 ± 0.160 ; 249.750 ± 0.409 ; $155.565 \pm 0.736 \mu\text{g EVc / mg}$). The β -carotene bleaching results showed degrees of inhibition expressed in IC_{50} by the extracts tested in the order EM > EA > EAE, respectively (6.045 ± 4.409 ; 15.445 ± 5.767 ; $32.612 \pm 2.141 \mu\text{g/ml}$). However, BHT showed greater activity ($IC_{50} = 1.292 \pm 1.271 \mu\text{g/ml}$).

Key words: polyphenol, flavonoid, DPPH, antioxidant activity, β -carotene, TAC, *Matricaria chamomilla*.

Résumé

Matricaria chamomilla est une plante médicinale de la famille des Astéracées. Cette espèce connue sous le nom "chamomille", très répandue en Algérie, est largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits ; aqueux (EA), méthanolique (EM) et d'acétate d'éthyle (EAE), de *Matricaria chamomilla* et de déterminer leurs teneurs en composés phénoliques à savoir, les polyphénols totaux les flavonoïdes. Les parties aériennes de la plante sont soumises d'une part à une extraction par décoction et d'autre part à une macération. L'extrait aqueux enregistre le rendement le plus élevé (29%). Les extraits ont été analysés pour leurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats montrent que l'EAE a présenté des teneurs remarquablement élevées en polyphénols ($62.833 \pm 1.018 \mu\text{g EAG / mg}$) et en flavonoïdes ($48.929 \pm 0.261 \mu\text{g EQ / mg}$) par rapport aux extraits EA et EM. L'activité antioxydante des trois extraits a été évaluée *in vitro* par le test du radical libre DPPH, de la capacité antioxydante totale (TAC) et de blanchiment du β -carotène. La méthode de DPPH a montré que les meilleures concentrations inhibitrices exprimées en IC_{50} ont été obtenues par l'EM suivi par l'EAE puis l'EA, respectivement (55.861 ± 0.373 ; 241.818 ± 1.254 ; $339.790 \pm 2.957 \mu\text{g/ml}$). Cependant, le BHT (utilisé comme standard) a montré une activité plus élevée ($IC_{50} = 21.841 \pm 0.268 \mu\text{g/ml}$). La capacité antioxydante totale est obtenue selon l'ordre suivant EA > EAE > EM, respectivement (253.204 ± 0.160 ; 249.750 ± 0.409 ; $155.565 \pm 0.736 \mu\text{g EVc / mg}$). Les résultats blanchiment du β -carotène ont montré des degrés d'inhibition exprimées en IC_{50} par les extraits testés dans l'ordre EM > EA > EAE, respectivement (6.045 ± 4.409 ; 15.445 ± 5.767 ; $32.612 \pm 2.141 \mu\text{g/ml}$). Cependant, le BHT a montré une activité plus importante ($IC_{50} = 1.292 \pm 1.271 \mu\text{g/ml}$).

Mots clés : polyphénol, flavonoïde, DPPH, activité antioxydante, β -carotène, TAC, *Matricaria chamomilla*.