

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : **Biochimie**

Thème :

Contribution à la recherche de l'activité antioxydante de quelques extraits de *camomille* (*Matricaria chamomilla*)

Présenté par : Mme BETOUI Khadidja

Soutenu devant le jury :

<u>Nom et prénom</u>	<u>Garde</u>	<u>Qualité</u>	<u>Université</u>
M ^{lle} BOUALI W.	MCA	Présidente	Université de Tlemcen
M ^{me} MEDJDOUB H.	MCA	Examinatrice	Université de Tlemcen
M ^{me} BELKACEM N.	MCA	Promotrice	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude envers Dieu, notre créateur, pour nous avoir accordé la force, la volonté et le courage nécessaires afin d'accomplir ce travail.

Je exprime mes profonds remerciements et mes vifs connaissances à :

Ma promotrice **M^{me} Belkacem N.**, Maître de conférences A au département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour avoir encadré et dirigé mon travail, sa disponibilité, ses conseils, ses orientations, et sa gentillesse au bon déroulement de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers **M^{lle} Bouali W.** Maître de Conférences A au département de Biologie Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury.

J'adresse mes sincères remerciements à **M^{me} Medjdoub H.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner le travail.

Un grand merci est adressé à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et Activité biologique de l'université de Tlemcen pour leur gentillesse et leur assistance.

Enfin, je souhaite exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Tout d'abord, je remercie Allah, le bon Dieu tout puissant, de m'avoir Donné la force nécessaire pour survivre et l'audace indispensable pour surmonter toutes les difficultés.

Je dédie ce modeste travail, fruit de plusieurs années d'études, à toutes les personnes qui ont illuminé mon chemin :

À *mon cher père*, que Dieu ait son âme, à celui qui a vidé la coupe pour me donner une goutte d'amour, à celui qui a récolté les épines de mon chemin pour me préparer la voie du savoir.

À ma bien-aimée, *ma mère chérie*, à celle que Dieu a placé le paradis sous ses pieds, à celle qui m'a inondé de l'abondance de sa tendresse, à celle qui a brûlé pour éclairer mon chemin, à celle qui a connu la faim pour me rassasier, a veillé pendant que je dormais, s'est fatiguée pour que je me repose, a pleuré pour que je souris, et m'a abreuvé de la source de sa douceur et de sa sincérité. À celle qui m'a élevé petit et m'a conseillé grand, la pupille de mes yeux et le réconfort de mon cœur. Que Dieu prolonge sa vie et la place comme une tente au-dessus de ma tête.

À *mon cher mari, Karim*, à celui qui a été mon soutien et mon secours, à celui qui a planté en moi l'amour de la connaissance et du travail, devenant ainsi l'emblème de ma réussite, la couronne qui orne ma tête et m'accompagne dans mon ascension vers les sommets. À celui dont j'ai appris la patience et la lutte, à celui qui me fait lever la tête avec fierté et honneur.

Mes chères sœurs : *Fatima, Imane kaddouri, Nesrine* pour leurs encouragements, leur appui permanent et leur soutien moral.

Sans oublier toute ma famille **Betoui, Daoud** et ma deuxième famille **Khlar**.

Betoui khadidja.

Sommaire

➤ Liste des Tableaux	
➤ Listes des Figures	
➤ Liste des abréviations	
➤ Résumé	
Introduction générale	02
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : <i>Matricaria chamomilla</i>	
1. La famille botanique des Astéracées.....	05
2. <i>Matricaria chamomilla</i>	05
2.1. Description botanique.....	05
2.2. Nomenclature de <i>Matricaria chamomilla</i>	06
2.3. Classification	06
2.4. Culture de <i>Matricaria chamomilla</i>	07
2.5. Habitat et répartition géographique.....	08
2.6. Composition chimique.....	08
2.7. L'utilisation traditionnelle de la plante.....	08
2.8. Mécanisme d'action de <i>Matricaria chamomilla</i>	09
2.9. Précautions d'emploi	11
Chapitre II : Les métabolites secondaires et leurs pouvoirs ou biologiques	
1. Les métabolites secondaires.....	13
1.1. Les composés phénoliques (polyphénols).....	13
1.2. Les alcaloïdes.....	15
1.3. Les composés terpéniques.....	15
Chapitre III : Stress oxydatif et antioxydants	
1. Stress oxydant	17
1.1. Radicaux libres.....	17
1.2. Les espèces réactives oxygénées des radicaux libres.....	17
1.2.1. Les espèces réactives oxygénées radicalaires	18
1.2.2 Les espèces réactives oxygénées non radicalaires	18
1.3. Conséquences du stress oxydatif.....	19
1.4. Effet de stress oxydatif sur la santé.....	20
2. Antioxydants.....	20
2.1. Antioxydants enzymatiques.....	21
2.2. Antioxydants non enzymatiques.....	22
2.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène.....	22
2.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène.....	23
2.3. Méthodes de d'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	24

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	28
2. Préparation des extraits aqueux	28
3. Rendement des l'extraction	29
4. Analyse phytochimique.....	29
5. Dosage des composés phénoliques.....	31
6. Evaluation de Activité antioxydant	33

Chapitre II : résultats et interprétation

1. Rendements d'extraction.....	37
2. Analyse Phytochimiques.....	38
3. Teneurs en composées phénoliques.....	38
4. Activité antioxydante des extraits de <i>M. chamomilla</i>	40
Discussion.....	50
Conclusion.....	55
Références bibliographiques.....	57

Liste des tableaux

Tableau n° 01 : Classification d'espèce de <i>Matricaria chamomilla</i> L.....	07
Tableau n°02 : Les multiples usages traditionnels de <i>Matricaria chamomilla</i> dans le monde.....	08
Tableau n°03 : Principales propriétés de <i>la matricaire</i> avec le mode d'activité et les principes actifs.....	09
Tableau n° 04 : Les principales espèces réactives de l'oxygène.....	18
Tableau n° 05 : les maladies liées au stress oxydatif	20
Tableau n° 06 : Rendements et caractéristiques des différents extraits aqueux de <i>matricaria chamomilla</i>	37
Tableau n° 07 : Résultats des tests phytochimique réalisés sur les différents extraits aqueux de <i>M. chamomilla</i>	38
Tableau n° 08 : Teneurs de différents composés phénoliques dans les extraits de <i>M. chamomilla</i>	40
Tableau n° 09 : Valeur des IC ₅₀ des extraits aqueux de <i>M. chamomilla</i> et des molécules de référence.....	42
Tableau n° 10 : Valeurs des EC ₅₀ des différents extraits et des molécules de référence.....	47

Liste des figures

Figure n°01 : Différentes parties du <i>Matricaire camomille</i>	05
Figure n°02 : Les métabolites secondaires.....	12
Figure n°03 : Les composés phénoliques	13
Figure n°04 : Equilibre entre les ERO et le système antioxydant.....	17
Figure n°05 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants	21
Figure n°06 : Réduction du DPPH• en DPPH, H par un antioxydant.....	25
Figure n°07 : la camomille étudiée (photo prise au labo)	28
Figure n°8 : Rendements des différents extraits aqueux de <i>Matricaria chamomilla</i>	37
Figure n°9 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	39
Figure n°10 : courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	39
Figure n°11 : courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	39
Figure n°12 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par macération (n= 3).....	41
Figure n°13 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par infusion (n= 3).....	41
Figure n°14 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par reflux (n= 3)	41
Figure n°15 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	42
Figure n°16 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA.....	42
Figure n°17 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHT.....	43
Figure n°18 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait <i>aqueux macération</i> (n=3).....	45
Figure n°19 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait <i>aqueux infusion</i> (n=3).....	45
Figure n°20 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait <i>aqueux reflux</i> (n=3).....	45
Figure n°21 : Pouvoir Réducteur de standard acide ascorbique, testé par la	

méthode FRAP.....	46
Figure n°22 : Pouvoir Réducteur de standard BHA, testé par la méthode FRAP.....	46
Figure n°23 : Pouvoir Réducteur de standard BHT, testé par la méthode FRAP.....	46

Liste des Abréviations

BHA : Hydroxyanisol butylé

BHT : Hydroxytoluène butylé

CAT : Catalases

CUPRAC : CUPric Reducing Antioxidant Capacity

DPPH : 2-Diphényl- 1 –picrylhydrazyl

EC₅₀ : Concentration efficace réduisant 50% de la concentration du DPPH

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

GPx : Glutathion peroxydase

GRD : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

1O₂ : L'oxygène singulet

NO° : Monoxyde d'azote

NOO° : le radical nitrite

O₂ •- : L'anion superoxyde

OH° : Radical Hydroxyle

OH° : Radical Hydroxyle

ONOO- : Peroxynitrite

ORAC : Oxygen radical absorbance capacity

ROL : Radicaux libres oxygénés

ROO : Radical peroxyde

SH : Sulfhydriles

SOD : Superoxydes dismutases

TRAP : Total radical-trapping antioxidant paramater

XOD : Xanthine oxydase

ملخص

هذا العمل يركز على البحث عن مضادات الأكسدة الطبيعية ويهدف إلى إجراء دراسة كميوية نباتية بينما يقوم بتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات مختلفة من الأجزاء الجوية لنبات البابونج. تم استخلاص المواد النباتية باستخدام ثلاث طرق: النقع، الاستخلاص في الماء الساخن، الاستخلاص في الماء المغلي.

خضعت المستخلصات المتحصلة عليها إلى التحليل النوعي للمركبات الكميوية نباتية، وفحوصات للمركبات الفينولية، وتقييم القدرة المضادة للأكسدة باستخدام طريقتين: اختبار كسح الجذر DPPH واختبار ارجاع الحديد FRAP. أظهرت دراسة الكيمياء النباتية للمستخلصات المائية وجود العفص، والكينونات الحرة، والمركبات المرجعية، والصابونينات.

أشارت نتائج تحليل مركبات البوليفينول الكلية إلى أن المستخلص المائي الساخن غني بشكل خاص في هذه المركبات (151.38 ± 0.00 ميلي غرام مكافئ حمض غالليك لكل غرام مستخلص جاف) بالنسبة لمستويات الفلافونويد والعفص، النسبة الأعلى كانت في المستخلص المائي المغلي ($58, 44 \pm 0.00$ ملغ مكافئ كاتيشين لكل غرام مستخلص جاف) ($05.44 \pm 0,965$ ملغ مكافئ كاتيشين لكل غرام مستخلص جاف).

تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستخدام تقنية كسح الجذر الحر DPPH واختبار ارجاع الحديد FRAP من بين المستخلصات الثلاثة لنبات البابونج، أظهر المستخلص المائي المغلي أعلى نشاط مع تركيز متوسطي قدره 6.70 ملغ / مل وتركيز متوسطي قدره 2.29 ملغ / مل مقارنة بالمستخلصات الأخرى. ومع ذلك، فإن هذه القدرة على تخفيض الجذر الحر تكون أقل بشكل ملحوظ من تلك الجزيئات المرجعية.

تظهر هذه النتائج أن البابونج هي مصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية، مما يمكن أن يساعد في علاج أمراض مثل اضطرابات النوم والمشاكل الهضمية، من خلال حماية الخلايا من أضرار الجذور الحرة. بالإضافة إلى ذلك، توفر بديلاً لمضادات الأكسدة الاصطناعية، مما يقلل من الآثار الجانبية

الكلمات الرئيسية: البابونج، مركبات الفينول، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Ce travail porte sur la recherche d'antioxydants naturels et vise à mener une étude phytochimique tout en évaluant l'activité antioxydante de divers extraits des parties aériennes de la plante *Matricaria chamomilla* (Astracées). L'extraction du matériel végétal a été réalisée par trois méthodes : macération, infusion, reflux dans l'eau distillée.

Les extraits obtenus sont soumis à une analyse phytochimique, un dosage des composés phénoliques, ainsi qu'à une évaluation du pouvoir antioxydant à l'aide de deux méthodes : DPPH et FRAP.

L'étude phytochimique des extraits aqueux révèle la présence de tanins, Quinone libre, composés réducteurs et saponosides.

Les résultats des dosages de polyphénols totaux, indiquent que l'extrait aqueux infusé est particulièrement riche en ces composés ($151,38 \pm 0,00$ mg EAG/gE). Pour les taux de flavonoïdes et des tanins, la teneur optimale a été attribuée à l'extrait aqueux sous reflux ($58,44 \pm 0,00$ mg EQ/g) ; ($5,44 \pm 0,096$ mg EAG/g).

Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer FRAP. Parmi les trois extraits de *M. chamomilla*, l'extrait aqueux sous reflux a montré l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 6,70 mg/ml et EC_{50} de 2,29 mg/ml par rapport aux autres extraits, Cette capacité de réduction du radical libre est nettement inférieure à celle des molécules de référence.

Ces résultats montrent que *M. chamomilla* est une source d'antioxydants naturels, ce qui peut aider à traiter des maladies comme les troubles du sommeil et les problèmes digestifs, en protégeant les cellules contre les dommages des radicaux libres. De plus, elle offre une alternative aux antioxydants synthétiques, réduisant ainsi les effets secondaires.

Mots Clés : *Matricaria chamomilla*, Composés phénoliques, Activité antioxydante.

This work focuses on the search for natural antioxidants and aims to conduct a phytochemical study while evaluating the antioxidant activity of various extracts from the aerial parts of the *Matricaria chamomilla* plant (Asteraceae). The plant material was extracted using three methods: maceration, infusion, and reflux in distilled water.

The extracts obtained underwent phytochemical analysis, phenolic compound quantification, and evaluation of antioxidant power using two methods: DPPH and FRAP assays. Phytochemical study of the aqueous extracts revealed the presence of tannins, free Quinone, reducing compounds, and saponins.

The results of total polyphenol quantification indicate that the infused aqueous extract is particularly rich in these compounds (151.38 ± 0.00 mg GAE/gE). For flavonoid and tannin levels, the optimal content was attributed to the aqueous reflux extract (58.44 ± 0.00 mg EQ/g) and (5.44 ± 0.096 mg GAE/g), respectively.

The antioxidant power was evaluated using the DPPH free radical scavenging technique and the FRAP iron reduction assay. Among the three *Matricaria chamomilla* extracts, the reflux aqueous extract showed the highest activity with an IC_{50} of 6.70 mg/ml and EC_{50} of 2.29 mg/ml compared to the other extracts. However, this free radical reduction capacity is notably lower than that of reference molecules.

These results show that *Matricaria chamomilla* is a source of natural antioxidants, which can help treat conditions such as sleep disorders and digestive problems by protecting cells from free radical damage. Additionally, it offers an alternative to synthetic antioxidants, thereby reducing side effects.

Keywords : *Matricaria chamomilla*, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity .

INTRODUCTION

GÉNÉRALE



Introduction générale

Depuis l'âge de l'Homme, les végétaux ont été utilisés pour fournir l'essentiel de sa nourriture et de ses médicaments. Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées à des fins médicinales à travers le monde, ce qui représente la plus grande diversité de la biodiversité utilisée par les humains. Malgré l'influence grandissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de satisfaire un besoin crucial (**Elqaj et al., 2007**).

Ces plantes constituent un immense réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et d'avoir une très grande variété d'activités biologiques. Cependant, l'évaluation de ces activités reste une tâche très intéressante qui peut susciter l'intérêt de nombreuses études. Les principes actifs des plantes sont aujourd'hui des composants essentiels d'une grande partie des médicaments et des produits de soins (**Flans, 2007**).

Le stress oxydant, un domaine émergent captivant pour la recherche scientifique, implique un déséquilibre entre les molécules pro-oxydantes et antioxydantes, pouvant causer des dommages cellulaires et des maladies (**Pisoschi et al., 2021**).

Pour lutter contre ces effets, le corps dispose d'un système de défense antioxydant comprenant des enzymes et des substances non enzymatiques telles que les vitamines E et C (**Mateos et al., 2001**).

Les antioxydants de synthèse, bien que couramment utilisés, peuvent présenter des effets secondaires, incitant les chercheurs à se tourner vers les extraits végétaux riches en polyphénols et flavonoïdes comme alternatives prometteuses (médecine traditionnelle) (**Iserin, 2001**).

Les plantes médicinales sont une autre source importante pour une grande variété d'antioxydants naturels, la recherche des principes actifs extraits des plantes est donc d'intérêt capital puisqu'elle a permis la découverte de nouveaux remèdes thérapeutiques.

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des terroirs du pays. La *Matricaria chamomilla* est une plante appartenant à la famille des Astéracées, occupe une place de choix chez les herboristes, est considérée comme l'une des plus importantes des plantes médicinales, en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques, antibactériennes, antiallergiques et antioxydants. Le pouvoir d'assainissement de cette herbe est dû au résultat de l'interaction de ses composants (**Buono-Core, 2011 ; Jabri et al., 2015**).

Introduction générale

L'objectif principal de ce travail est d'analyser de manière comparative les diverses techniques d'extraction appliquées à l'espèce *Matricaria chamomilla* connu en Algérie sous le nom *d'elbabounej*, en mettant particulièrement l'accent sur le taux d'extraction des composés phénoliques ainsi que sur l'efficacité antioxydante des extraits obtenus.

Dans cette optique, cette étude est divisée en deux grandes parties :

Partie I: Synthèse bibliographique organisée en trois chapitres :

- ✚ Chapitre 1 : est un aperçu bibliographique sur l'espèce choisie et les activités biologiques attribuées à cette plante.
- ✚ Chapitre 2 : concerne les métabolites secondaires.
- ✚ Chapitre 3 : concerne le stress oxydatif et les antioxydants.

Partie II : Expérimentale organisée en deux chapitres :

- ✚ Chapitre 1 : consacrée aux différentes méthodes expérimentales utilisées dans la préparation des extraits ainsi, un screening et un dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés.
- ✚ Chapitre 2 : concerne les résultats obtenus, leur discussion, en terminant par une conclusion et des perspectives.

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

MATRICARIA

CHAMOMILLA



1. La famille botanique des astéracées

La famille des *Astéracées* se distingue par sa grande diversité, regroupant plus de 13 tribus, 1500 genres et 23000 espèces. En *Algérie*, 109 genres et 408 espèces ont été recensées. Son impact économique est significatif, car de nombreuses plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (tournesol, topinambour, laitue, chicorée, *camomille*, etc.) ou à des fins ornementales (dahlias, asters, rudbeckies, gaillardes, etc ...) (**Harkati, 2011 ; Barreda et al., 2015**).

La pharmacopée bénéficie également d'une variété de plantes de la famille des *Astéracées*, reconnues pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti-inflammatoires. Des exemples bien connus incluent le sperme contre (*Artemisia cina Berge*), l'arnica (*Arnica montana L.*), la camomille (*Matricaria chamomilla L.* et *Anthemis nobilis L.*) et la patte de chat (*Antenaria dioca Gartn*). Ces plantes sont souvent utilisées en médecine traditionnelle car elles sont riches en divers composés naturels (**El alami, 2021**).

La variété des activités pharmacologiques au sein des *Astéracées* est attribuée aux principaux constituants chimiques tels que les principes amers, les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, et les terpènes (**Benguerba, 2008 ; Mezache, 2010**).

2. *Matricaria chamomilla*

2.1. Description botanique

La camomille est une plante annuelle, aromatique, odorante, herbacée et légèrement fruitée de la famille des *Asteraceae*, mesurent entre 15 et 80 cm de haute, à racine fuselée et à tige glabre et ramifiée d'odeur caractéristique. Les feuilles sont sessiles, alternes, Les segments foliaires sont fins et presque capillaires. Les fleurs sont jaunes au centre et blanches à l'extérieur, groupées en capitules solitaires. Le fruit est petit et de couleur blanc jaunâtre (fig. n°1) (**Piri et al., 2019 ; Bayati Z et al., 2014 ; Cardenas, 2017**).



Figure n° 01 : Différentes parties du Matricaire camomille (Chauhan et al., 2021)

Plante en fleurs (a) ; capitule (b) ; fleur ligulée (c) ; fleuron du disque (d) ; capitule I (e) ; dents/pétales du fleuron du disque (f) ; anthères (g) ; stigmatisation (h) ; la graine (i) ; récolte de fleurs fraîches (j).

2.2. Nomenclature de *Matricaria chamomilla*

- En France : *Camomille*
- En Anglais : *Chamilla*
- En Arabe : *Babounej- Amlal (Rhattas et al., 2016)*
- En Almande : *Camomile, Wild Chamomile*
- En Italie : *Camomilla commune, Camomilla, Camomirra*
- En USA : *Hungarian Chamomile, German Chamomile (Ross, 2001)*

2.3. Classification

La classification de l'espèce de *Matricaria chamomilla* est décrite dans le tableau 01

**Tableau n° 01 : La classification de l'espèce de *Matricaria chamomilla* L.
(Ghedira et al., 2009)**

Taxonomie	Description
<i>Domaine</i>	<i>Biota</i>
<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Clade</i>	<i>Tracheophyta</i>
<i>Sous-Classe</i>	<i>Magnoliidae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Asterales</i>
<i>Famille</i>	<i>Asteraceae</i>
<i>Sous-Famille</i>	<i>Asteroideae</i>
<i>Genre</i>	<i>Matricaria</i>
<i>Espèce</i>	<i>Matricaria chamomilla</i>

2.4. Culture de *Matricaria chamomilla*

Il est recommandé d'espacer les plantes de *Matricaria chamomilla* de 15 à 30 cm. En termes d'apport nutritionnel, bien que *la camomille* n'ait pas besoin de quantités importantes d'engrais, il est conseillé d'ajouter de modestes quantités d'azote, de phosphore et de potassium en fonction des résultats des tests de sol (Ghedira et al., 2009).

La camomille développe abondamment sur un sol bien drainé, sableux. Elle peut également pousser sur des calcaires en raison de sa grande tolérance à l'alcalinité du sol. Elle pousse dans un climat frais, préférant des températures situées entre 7 et 26°C et elle peut résister au gel jusqu'à 12°C et présente une croissance optimale en plein soleil (Ghedira et al., 2009 ; Lim, 2013).

2.5. Habitat et répartition géographique

Originnaire de l'Europe de l'ouest : (*Portugal, Espagne, France, Royaume-Uni, Irlande*) et d'Afrique du Nord (*Maroc, Algérie*). Elle trouve partout en Europe occidentale sur les sols secs et sablonneux, même calcaires, et croît essentiellement dans les jardins ou le long des murs, et dans les décombres humides (**Boutaoui, 2012**).

2.6. Composition chimique

Les principaux composants secondaires de *M. chamomilla* appartiennent à trois classes chimiques différentes : les sesquiterpènes, les coumarines et les flavonoïdes.

Plus de 120 constituants chimiques ont été identifiés dans la fleur de camomille comme métabolites secondaires, dont 28 terpénoïdes, 36 flavonoïdes, et 52 composés supplémentaires ayant une activité pharmacologique potentielle.

11 composés phénoliques bioactifs, tels que la herniarine et l'ombelliférone (coumarine), l'acide chlorogénique et l'acide caféique (phénylpropanoïdes), l'apigénine, l'apigénine 7-O-glucoside, la lutéoline et la lutéoline-7-O-glucoside (flavones), la quercétine et la rutine (flavonols) et la naringénine (flavanone) se trouvent dans l'extrait de camomille.

Les coumarines herniarine, umbelliférone et esculétine représentent environ 0,1% du total des constituants. Les principaux flavonoïdes sont l'apigénine, la lutéoline et la quercétine, qui représentent respectivement 16,8, 1,9 et 9,9% des flavonoïdes totaux (**Singh, 2011 ; Kato et al., 2008**).

2.7. Utilisation de la plante en phytothérapie et certaines de ses activités biologiques

La camomille matricaire est largement utilisée pour traiter une gamme étendue de troubles de santé humaine en raison de ses composés actifs aux effets larges (tab. n° 02).

Tableau n° 02 : Les multiples usages traditionnels de *Matricaria chamomilla* dans le monde (Ross, 2001 ; Narel, 2020)

Origine géographique	Partie utilisée	Voie	Usage
Colombia	Plante entière	Orale	anti-inflammatoire
	Fleurs		Anti spasmodique
Ecuador	Plante entière	Orale	Irritation de l'œil ; anti-inflammatoire et antispasmodique
	Fleurs et branches		Traiter les infections et l'enflure
Argentine	Fleurs	Orale	Diarrhée et infections des voies respiratoires et urinaires
Angleterre	Huile essentiel de fleur	Orale	Sedative and hypnotic
		Orale	anti-inflammatory
Europe	Fleurs	Orale	Carminative, sedative
Tunisia	Fleurs et feuilles	Orale	Maux d'estomac
Italie	Fleurs	Orale	Sédative

2.8. Mécanisme d'action de quelques principes actifs de *Matricaria chamomilla*

Les principaux effets de la camomille incluent les effets anti-inflammatoires, antispasmodiques et relaxants. Ces bienfaits sont attribués à ses principes actifs, notamment les flavonoïdes et les chamazulènes. Explorons de plus près ses propriétés et son mode d'action répertoriée dans le tableau n°3.

Tableau n° 03 : Principales propriétés de la matricaire avec le mode d'activité et les principes actifs

Domaine d'activité	Mode d'activité	Principes actifs	Références
anti spasmodique	<ul style="list-style-type: none"> • Effet carminatif • Effet gastrique et intestinal • Effet sur les spasmes utérins • Anti diarrhéique 	<ul style="list-style-type: none"> • Flavonoïdes, apigénine, • α-bisabolol, spiroéthers 	<ul style="list-style-type: none"> • Anderson <i>et al.</i>, 2000 • Forster <i>et al.</i>, 1980 • Becker, 2006 • Crotteau, 2006
anti inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la libération d'acide arachidonique • Inhibition de la production d'IL-12 dans des macrophages murins. 	<ul style="list-style-type: none"> • / • parthénolide 	<ul style="list-style-type: none"> • Nelson, 1997 • Jahangir et Sultanaa, 2007
Sédative	<ul style="list-style-type: none"> • Effet anxiolytique et antiépileptique • Effet hypnotique léger • Effet antalgique 	<ul style="list-style-type: none"> • Flavones , Apigénine 	<ul style="list-style-type: none"> • Avallone <i>et al.</i>, 2000 • Gomaa <i>et al.</i>, 2003 • Masago <i>et al.</i>, 2000
anti microbienne	<ul style="list-style-type: none"> • Fongicide (et antiseptique) • Bactéricide 	<ul style="list-style-type: none"> • α-bisabolol, tspiréthers • Coumarines • extrait aqueux 	<ul style="list-style-type: none"> • Cinco <i>et al.</i>, 1983 • Habersang <i>et al.</i>, 1979
Effet sur la muqueuse digestive	<ul style="list-style-type: none"> • Effet anti-ulcérogène 	<ul style="list-style-type: none"> • α-bisabolol 	Schilcher , 1987
Augmentation du passage transcutané de molécules	/	<ul style="list-style-type: none"> • α-bisabolol 	Schilcher, 1987
Effet hormonal estrogénique	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulation sélective du récepteur estrogénique (SERM) 	/	<ul style="list-style-type: none"> • Kassi <i>et al.</i> , 2004 • Mahady <i>et al.</i>, 2003 • Rosenberg Zand , 2001

Action protectrice du foie	<ul style="list-style-type: none">production intrahépatique de lipides ainsi que la correction du pool des sphingolipides dans un foie âgé.	flavonoïdes de <i>Matricaria chamomilla</i>	Babenko et Shakhova, 2006
-----------------------------------	---	---	----------------------------------

2.9. Précautions d'emploi

Pour les individus sensibles à *la camomille*, la consommation de thé à base de cette plante pourrait exacerber leurs réactions allergiques. De plus, *la camomille* est associée à des cas de conjonctivite allergique. Les femmes enceintes sont conseillées d'éviter l'utilisation de *la Matricaria chamomilla* pendant la grossesse. Bien qu'aucun risque de toxicité n'ait été signalé, il est recommandé aux personnes ayant des antécédents allergiques, en particulier aux fleurs, de faire preuve de prudence lors de la consommation de camomille (**Hajjaj, 2017**).

CHAPITRE II :
LES MÉTABOLITES
SECONDAIRES
ET LEURS
POUVOIRS
BIOLOGIQUES



1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances présentes dans un organisme, mais qui ne participent pas directement aux processus cellulaires fondamentaux. Ces composés englobent une variété de molécules, classées en différentes familles chimiques telles que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, et les polycétides et sont considérés comme les plus actifs sur le plan chimique chez les plantes (fig. n° 02) (Mekhelfi et Zaiter, 2016).

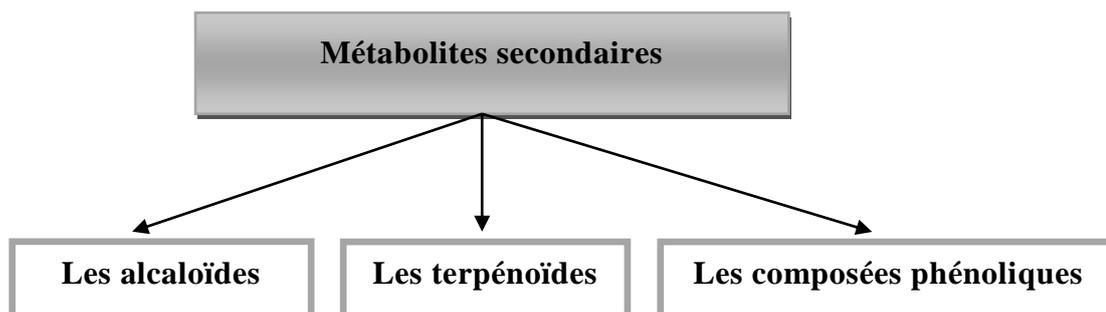


Figure n° 02 : Les métabolites secondaires (Mekhelfi et Zaiter, 2016).

1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans le domaine des substances naturelles en raison de leur variété et de leur configuration. Ils se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique directement lié à au moins un groupe hydroxyle, qui peut être libre ou associé à un groupe ester, glycoside ou éther (Maqsood *et al.*, 2013).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits. Ils aident les plantes à se défendre contre les agressions extérieures telles que les infections bactériennes et les rayons ultraviolets (Boujoute, 2011).

Les principales classes de composants phénoliques sont données dans la figure n°03.

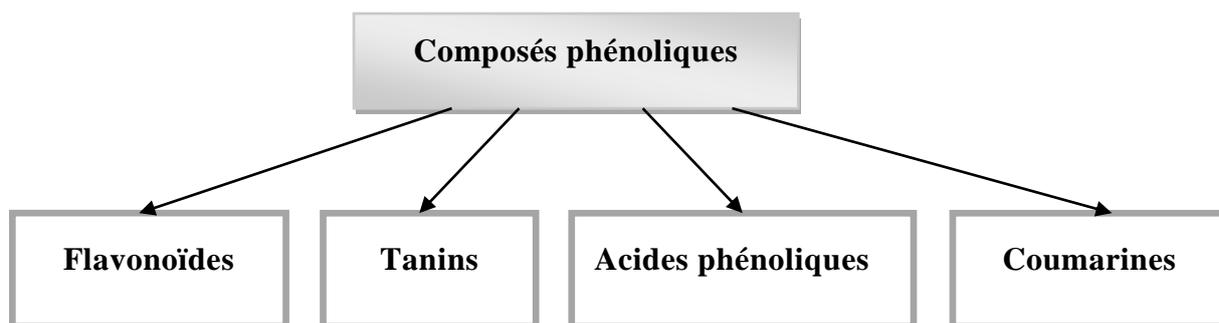


Figure n° 03 : Les composés phénoliques (Boudjouref, 2011)

1.1.1. Les acides phénoliques

Sont produits en abondance par les plantes. Ils remplissent diverses fonctions, notamment l'absorption des nutriments, la synthèse des protéines, l'activité enzymatique, la photosynthèse, la constitution des éléments structurels (**Santi, 2010, Kumara et Nidhi, 2019**).

Ces acides forment un groupe varié, incluant les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique, qui sont largement répandus (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

1.1.2. Les flavonoïdes

Sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ce sont des substances naturelles très répandues dans la famille des *Astéracées*. (**Eberhard et al., 2005**).

1.1.3. Les Coumarines

Sont des noyaux benzéniques et des cycles hexagonaux contenant un atome d'oxygène (fig. n°05). Sont des composés incolores se présentant sous forme de cristaux avec une forte odeur parfumée et un goût amer piquant. Elles sont solubles dans les alcools. Elles jouent un rôle important dans le traitement des ulcères gastriques grâce à leurs propriétés antioxydantes (**Matos et al., 2015**).

1.1.4. Les Tanins

Sont des substances phénoliques assez complexes composées d'un mélange de glucosides et d'acide gallique. Ils ont des effets cytostatiques et bactéricides car ils interagissent également avec des protéines protoplasmiques, c'est pourquoi des

préparations topiques (tanins) sont utilisées en cas de plaies, d'engelures et de brûlures (Ozturk, 2018).

1.2. Les alcaloïdes

Sont des substances organiques azotées, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), se trouvent dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine) (Hopkins, 2003).

1.3. Les composés terpéniques

Les terpènes, ou terpénoïdes, constituent un vaste ensemble d'hydrocarbures produits par un grand nombre de plantes, en particulier les conifères.

Les terpénoïdes sont les composants de base des huiles essentielles dans de nombreuses plantes et fleurs. Ces huiles sont considérées comme des parfums naturels ajoutés aux aliments et aux parfums (Eberhard et Breitmaier, 2006).

CHAPITRE III :
STRESS OXYDATIF
ET
ANTIOXYDANTS



1. Stress oxydant

Le stress oxydatif se manifeste par un déséquilibre entre les mécanismes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (ROL) (fig. n° 04). Cette dissonance peut découler de diverses causes telles qu'un manque nutritionnel en antioxydants, ou une exposition environnementale à des agents pro-oxydants (**Lakhdar et al., 2013**).

Il est associé à de nombreuses pathologies, telles que les troubles inflammatoires, divers types de cancers, le diabète (**Lakhdar et al., 2013**).

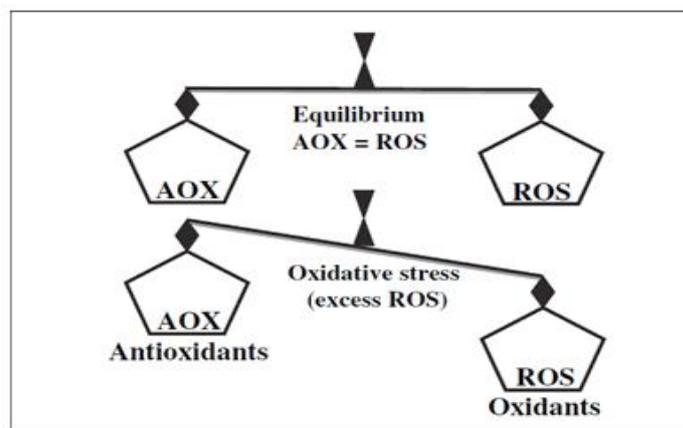


Figure n° 04 : Equilibre entre les ERO et le système antioxydant (Gill et Tuteja, 2010)

1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des fragments moléculaires qui possèdent des électrons non appariés dans leurs atomes ou leurs orbitales moléculaires, ou simplement des espèces réactives de l'oxygène qui contiennent également d'autres espèces de l'oxygène, comme le peroxyde d'hydrogène. Les radicaux libres sont produits en excès au cours de la respiration (**Lalhminglui et Jagetia, 2018**).

1.2. Les espèces réactives oxygénées des radicaux libres

L'oxygène est nécessaire de la vie aérobie, mais son métabolisme peut conduire à la production des radicaux libres, et lorsqu'ils ne sont pas contrôlés ceux-ci peuvent attaquer les molécules biologiques cellulaires (**Lori et al., 2001**).

Le tableau suivant présente les principales espèces réactives de l'oxygène radicalaires et non radicalaires.

Tableau n° 04 : Les principales espèces réactives de l'oxygène (Monique et al., 2003)

Espèces réactives	Symbole
L'anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$
Le peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Le radical hydroxyle	HO
Oxygène singulet	$1O_2$
Monoxyde d'azote	NO°
Peroxynitrite	ONOO

1.2.1. Les espèces réactives oxygénées radicalaires

1.2.1.1. L'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)

La plupart de l'oxygène que nous respirons est réduit en produisant de l'eau grâce à cytochrome oxydase dans les mitochondries. Environ 2% de l'oxygène est réduit en formant le radical superoxyde au niveau du coenzyme (Q). Pour neutraliser ce radical, des enzymes comme les superoxyde dismutases (SOD) sont mobilisées (Monique et al., 2003).

1.2.1.2. Monoxyde d'azote (NO°)

L'oxyde nitrique produit par l'endothélium vasculaire pour son action relaxante, par les phagocytes et dans le cerveau. L'oxyde nitrique exerce différentes fonctions physiologiques, mais un excès de cette molécule peut engendrer des effets néfastes (Sivanandham, 2011).

1.2.1.3. Radical Hydroxyle (OH°)

Le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion superoxyde. Il est considéré comme l'ERO la plus réactive, inactivant la pyruvate- déshydrogénase de la mitochondrie, dépolymérisant le mucus du tractus gastro-intestinal ou induisant directement des atteintes oxydatives à l'ADN (Lubec, 1996 ; Kruidenier et al., 2002).

1.2.2. Les espèces réactives oxygénées non radicalaires

1.2.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

La concentration en eau oxygénée, un dérivé réduit de l'oxygène, est régulée par des enzymes comme la catalase. Le peroxyde d'hydrogène ainsi produit n'est pas

considéré comme un radical libre, mais plutôt comme une molécule. La principale source de toxicité de l'eau oxygénée découle de sa capacité à engendrer le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$) (Monique *et al.*, 2003).

1.2.2.2. L'oxygène singulet (1O_2)

Il s'agit d'une forme énergétique de l'oxygène moléculaire, souvent considérée comme un radical libre en raison de son activité réactive notable (Hadi, 2004).

1.2.2.3 Peroxynitrite (ONOO^-)

La réaction entre le radical nitrique (NO°) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\circ-}$) peut engendrer la formation de peroxynitrite (OONO^-). Ce composé est cytotoxique, entraînant des dommages aux tissus et l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL). Le peroxynitrite joue un rôle significatif dans les lésions tissulaires observées dans les zones inflammatoires, il est capable d'oxyder directement les protéines et de modifier les bases de l'ADN. Le peroxynitrite en tant qu'oxydant biologique peut traverser les membranes cellulaires (Sisein, 2014).

1.3. Conséquences du stress oxydatif

1.3.1. Oxydation des lipides

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent attaquer les lipides, en particulier les acides gras polyinsaturés dans les phospholipides. Cela entraîne une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui peut affecter la fluidité et la perméabilité de la membrane et perturber le fonctionnement des protéines membranaires (Koechlin, 2006).

1.3.2. Oxydation des protéines

Les protéines, surtout celles contenant des groupes sulfhydriles (SH) et des ponts disulfures, sont sensibles aux attaques radicalaires. Les protéines altérées par l'oxydation perdent leurs caractéristiques biologiques et deviennent plus sensibles à l'action des protéases, notamment du protéasome (Friguet, 2003 ; Garait, 2006).

1.3.3. Oxydation de l'ADN

Malgré son rôle crucial en tant que support de l'information génétique, l'ADN est une molécule très vulnérable aux attaques des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières réagissent avec les bases purines et pyrimidines, ainsi qu'avec le désoxyribose,

Chapitre III : Stress oxydatif et Antioxydants

entraînant leur oxydation et des ruptures mono et double brin de l'ADN. Ces dommages aux acides nucléiques peuvent induire des mutations ou altérer l'expression génique (Favier, 2003 ; Koechlin, 2006).

1.4. Effet de stress oxydatif sur la santé

Les dommages causés à ces molécules entraînent la formation de diverses maladies présentées dans le tableau 5.

Tableau n° 05 : Les maladies liées au stress oxydatif (Aliouat et Boulkelia, 2014)

Organes	Dommages causés par les radicaux libres
Cœur	Infarctus cardiomyopathie
Peau	Brûlures, vieillissement (Rides)
Cerveau	Parkinson, Alzheimer
Poumon	Asthme, détresse respiratoire, emphysème
Intestin	Pancréatite
Articulation	Arthrite rhumatoïde
Vaisseau	Hypertension
Erythrocytes	Malaria, anémie de Franconie

2. Les antioxydants

Peut être considérée comme antioxydant une molécule qui, étant présente en une faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Whiteman, 2004).

L'organisme est déterminé d'un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (fig. n°07) (Mateos *et al.*, 2001).

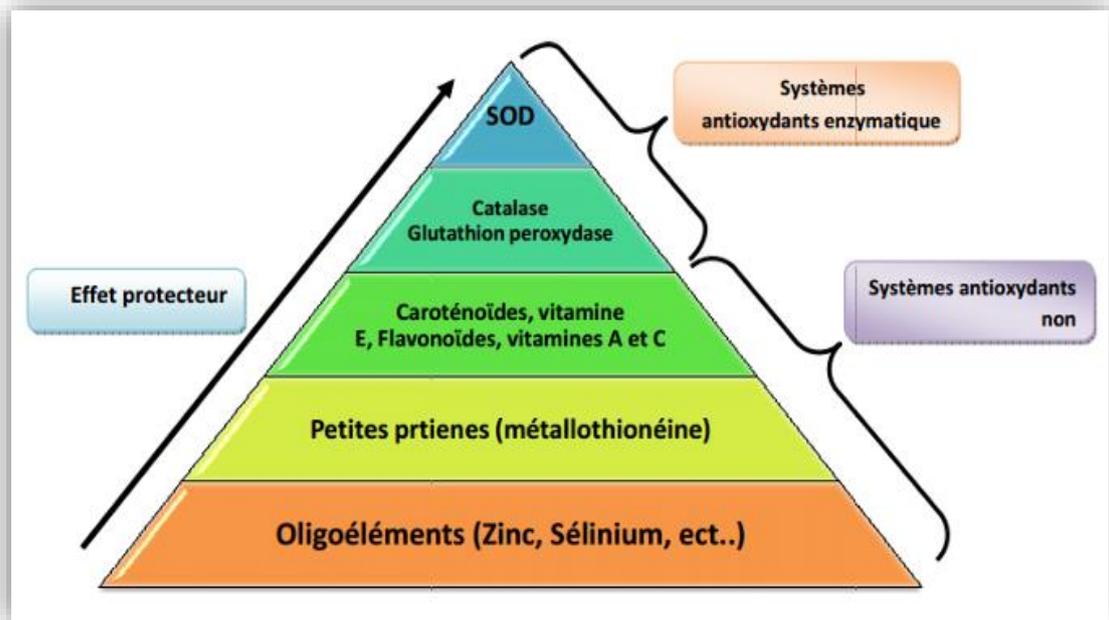


Figure n° 05 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants (Benghersallah, 2015)

2.1. Antioxydants enzymatiques

2.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des enzymes importantes dans les mécanismes de défense des cellules biologiques face à l'oxygène.

Elles aident à convertir du radical anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) en une molécule d'oxygène et un peroxyde d'hydrogène. Cette réaction constitue un système antioxydant reconnu pour protéger les cellules contre la toxicité des superoxydes.

Chez l'homme, 3 isoenzymes sont décrites : la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la Fe-SOD, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation (Gill et Tuteja, 2010).

2.1.2. Les catalases (CAT)

Les catalases sont des enzymes constituées de tétramères et contenant de l'hème. Elles aident à convertir du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2) selon la réaction suivante :



Les peroxysomes sont des sites de production majeurs de peroxyde d'hydrogène. La catalase élimine le H₂O₂ généré dans ces organites lors de processus tels que l'oxydation photo-résiratoire, la β-oxydation des acides gras (**Sharma *et al.* , 2012**).

2.1.3. Les glutathion peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages causés par les radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques. La GPx catalyse la réduction des hydro peroxydes en utilisant le glutathion réduit (GSH) (**El-Missiry, 2012**).



La GPx est présente dans le cytosol ainsi que dans la matrice mitochondriale. Elle participe à la dégradation des peroxydes organiques et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Collard, 2018**).

2.1.4. Les glutathion réductases (GRD)

Le glutathion réductase (GRD) est une flavoenzyme appartenant à la famille des pyridinucléotidesulfure oxydoréductases NADPH. Cette enzyme agit sur trois substrats (NADPH, H⁺ et GSSG) pour produire deux produits (2GSH) selon la réaction suivante :



Le GRD existe sous différentes isoformes et se trouve non seulement dans le cytosol, mais également dans la matrice mitochondriale (**Deponte, 2013**).

2.2. Antioxydants non-enzymatiques

2.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène

2.2.1.1. Glutathion (GSH/GSSG)

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle important dans la réduction du peroxyde d'hydrogène et/ou des peroxydes organiques, grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). De plus, il a la capacité de réduire les radicaux produits par l'oxydation des vitamines E et C, ce qui contribue à réduire les niveaux de peroxydation lipidique (**Power et Lennon, 1999 ; Packer *et al.*, 1997**).

2.2.1.2. Acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est un piègeur puissant de radicaux ($\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C) (**Haleng *et al.*, 2007**).

2.2.1.3. Bilirubine

La bilirubine est le produit final du métabolisme des hémoprotéines, résultant de l'action de l'hème oxygénase qui décompose l'anneau hème pour former la biliverdine. Cette dernière est ensuite convertie en bilirubine par l'enzyme biliverdine réductase. La bilirubine est reconnue comme le principal antioxydant physiologique. Elle démontre une forte capacité à neutraliser les radicaux peroxyde, et des études ont confirmé son rôle protecteur contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène sur les cellules (**Powers et Jackson, 2008**).

2.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine exogène

2.2.2.1. Vitamine C

Ou acide ascorbique, est le principal antioxydant soluble dans l'eau. Elle réagit rapidement avec des espèces telles que l'anion superoxyde, l'oxygène singulet et le peroxyde d'hydrogène. Son rôle est important car elle est capable de restaurer d'autres antioxydants oxydés tels que la vitamine E ou les caroténoïdes (**Pourrut, 2008**).

2.2.2.2. Vitamine E

Un antioxydant liposoluble, est largement reconnue comme un antioxydant important dans les biomembranes, où elle remplit à la fois des fonctions antioxydantes et non antioxydantes. Les tocophérols, formes de vitamine E, se trouvent principalement dans les membranes thylakoïdes des chloroplastes chez les plantes. La forme non radicalaire de la vitamine E est régénérée par la vitamine C, ce qui permet une efficacité optimale de la vitamine E en tant qu'antioxydant (**Mates et Pérez-Gómez, 1999**).

2.2.2.3. Zinc

Le zinc fonctionne en tant que cofacteur pour le superoxyde dismutase, contribuant ainsi au bon déroulement du système de défense antioxydant. De plus, ce minéral joue un rôle protecteur contre les dommages causés par l'oxydation en stabilisant les membranes,

en compétition avec le fer et le cuivre, en inhibant l'enzyme NADPH-oxydase, et en induisant la synthèse de métallothionéine. La métallothionéine, à son tour, participe à la neutralisation des radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) et à la capture des espèces réactives de l'oxygène générées en période de stress (Marreiro, 2017).

2.2.2.4. Polyphénols

Les polyphénols démontrent des propriétés antioxydantes et sont donc utilisés dans l'industrie agroalimentaire en tant que conservateurs pour prévenir le rancissement des matières grasses, notamment l'auto-oxydation lipidique (Hannebelle *et al.*, 2004).

2.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante consiste à l'inhibition de radicaux libres et empêche, ainsi leur action. Cette propriété se retrouve souvent dans les familles polyphénoliques. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être des trucs nombreux antioxydants pour se protéger qu'un composé réducteur antioxydant vont ainsi réduire leur pouvoir oxydant, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques (Bouyahya *et al.*, 2017).

Les antioxydants présentent une grande diversité moléculaire agissant contre les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydante d'une molécule, plusieurs tests peuvent être couplés (Guillouty, 2016).

Un large éventail de méthodes analytiques est actuellement utilisé pour mesurer la capacité antioxydante. Parmi celles-ci, il y a :

2.2.1. Piégeage du radical DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Cette méthode repose sur l'évaluation de la capacité des antioxydants à neutraliser le radical DPPH. Elle implique le transfert d'atomes d'hydrogène d'un antioxydant vers le radical DPPH $^{\bullet}$, ce qui le réduit en DPPH-H (Fig. n°08). Cette transformation est accompagnée d'un changement de couleur, passant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite). L'intensité de cette réaction est mesurée par l'absorbance à 515 nm, et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du DPPH (Topçu *et al.*, 2007).

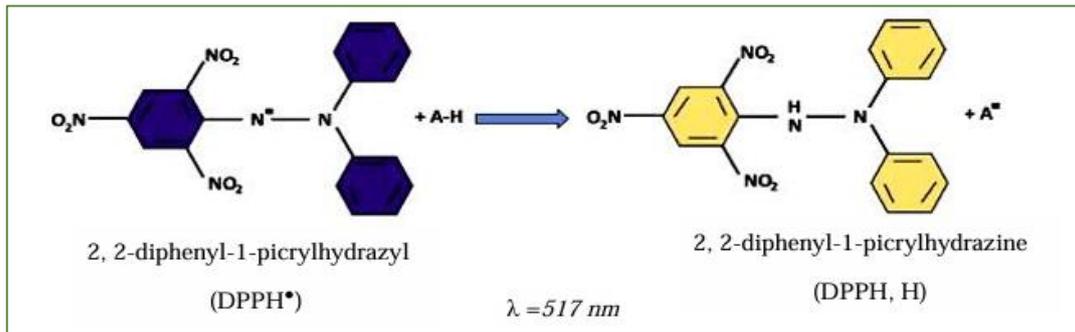


Figure n° 06 : Réduction du DPPH[•] en DPPH, H par un antioxydant

(Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

2.2.2. Test de réducteur de fer (FRAP) : Ferric Reducing Antioxidant Power

Cette méthode évalue la capacité des antioxydants à convertir le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en transférant un électron. Cette méthode repose sur la réduction du ferricyanure en ferrocyanure, ce qui entraîne la liaison du Fe^{3+} libre dans la solution et la formation du complexe bleu de Prusse (Topçu *et al.*, 2007).

2.2.3. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

La technique TEAC évalue le transfert d'électrons d'un antioxydant vers un accepteur d'électrons, utilisant le sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azabis-(3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS4). Cette méthode est standardisée en utilisant le TROLOX comme antioxydant de référence. Elle présente des similitudes avec la méthode FRAP, mais diffère en termes de pH, étant réalisée à pH neutre contrairement au FRAP qui s'effectue à pH acide (pH=3,6) (Rize-Evans, 1993).

2.2.4. TRAP (Total Radical-trapping Antioxydant Parameter)

Ce procédé évalue la capacité d'un antioxydant à inhiber l'activité des radicaux peroxydes induits par une sonde fluorescente, le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH). Il quantifie la période d'inhibition par rapport à celle observée avec le TROLOX, un antioxydant structuralement proche de la vitamine E (Brand-Williams *et al.*, 1995).

2.2.5. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Le test ORAC évalue l'efficacité d'un antioxydant à neutraliser l'oxydation du radical peroxyde, offrant ainsi une représentation assez précise des réactions observées dans les systèmes biologiques. Dans sa version de base, ce test implique la réaction d'une source de radicaux peroxydes avec une sonde fluorescente, produisant un produit de

réaction non fluorescent qui est quantifié à l'aide d'un fluorimètre. Ce test, d'une durée minimale de 30 minutes, analyse l'intégrale de l'aire entre la courbe de perte de fluorescence d'un échantillon de contrôle et celle obtenue après l'addition d'un antioxydant (**Brand-Williams *et al.*, 1995**).

2.2.6. Test de blanchissement du bêta-carotène

Ce procédé repose sur le principe de l'oxydation de l'acide linoléique, un acide gras insaturé, par des espèces réactives de l'oxygène produites à partir de l'eau oxygénée (H₂O₂). Cette réaction génère des produits qui amorcent ensuite l'oxydation du bêta-carotène, entraînant une décoloration. La réduction de cette décoloration, mesurée à une longueur d'onde de 434 nm, est utilisée pour évaluer l'activité des antioxydants (**Alam *et al.*, 2013**).

2.2.7. Test CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity)

La technique CUPRAC se fonde sur la quantification de l'absorbance du complexe Cu(I)-néocuproïne (Nc) résultant de la réaction d'oxydo-réduction entre les antioxydants protecteurs de chaîne et le réactif CUPRAC, Cu(II)-Nc. L'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 450 nm (**Özyürek *et al.*, 2011**).

DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I :

MATÉRIEL

ET

MÉTHODES



Chapitre I : Matériel et méthodes

Le laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » (LAPSAB) a été le lieu de notre étude expérimentale.

L'objectif de cette étude était d'une part de quantifier les concentrations de composés phénoliques dans différents extraits de fleurs de *M. chamomilla*, et d'autre part d'évaluer leur activité antioxydante en utilisant deux méthodes différentes : le piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) pour la réduction du fer.

1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de fleurs de plante médicinale : *Matricaria chamomilla* (Fig. n°9) qui a été achetée en vrac d'une épicerie du Taj mahal , situées dans station de remchi , la wilaya de Tlemcen



Figure n° 07 : la camomille étudiée (photo prise au laboratoire)

2. Préparation des extraits aqueux

a. Extraction par macération

- Dans un ballon verser 200 ml d'eau distillée froide sur 20g de matière végétale puis agiter le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique pour assurer une homogénéisation optimale.

- Laisser le mélange macérer pendant 24 heures, à l'abri de la lumière.

Chapitre I : Matériel et méthodes

- Après cette période, le mélange est filtré à l'aide du papier filtre et le filtrat obtenu est évaporé à sec dans une étuve à 37°C.

b. Extraction par Infusion

- Dans un ballon verser 200ml d'eau distillée bouillante sur 20g de matière végétale (*M. chamomilla*).

- Laisser le mélange infuser jusqu'à refroidissement.

- Après refroidissement, le mélange est filtré à l'aide du papier filtre et le filtrat obtenu est évaporé à sec dans une étuve à 37°C.

c. Extraction par Décoction (Sous reflux)

- Dans un ballon verser 200ml d'eau distillée froide sur 20g de matière végétale (*M. chamomilla*).

- Porter le mélange sous reflux pendant 1h.

- Laisser le mélange reposer jusqu'à refroidissement.

- Après refroidissement, le mélange est filtré à l'aide du papier filtre et le filtrat obtenu est évaporé à sec dans une étuve à 37°C.

3. Rendement des extractions

Le rendement des extractions effectuées est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait sec obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction selon la formule donnée par **Falleh *et al.*, (2008)**.

$$R(\%) = (M / Mt) \times 100$$

R(%) : Rendement exprimé en %.

M : masse de l'extrait brut (en g).

Mt : masse du matériel végétal initiale (en g).

4. Analyse phytochimique

Les extraits préparés ont été soumis à des tests de coloration et de précipitation afin de détecter la présence ou l'absence des groupes de familles chimiques tels que : les tanins, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes, les saponosides, les alcaloïdes, les composés réducteurs.

4.1. Les tanins

La présence de tanins est mise en évidence par l'addition de 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%) à 0,1 ml de chaque extrait, le mélange soumis à une incubation (à T° ambiante) pendant 15 min. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verdâtre indique la présence des tanins (**Karumi, 2004**).

4.2. Les Flavonoïdes

Pour réaliser le test, un volume d'extrait est mélangé avec 1ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur rouge, orange ou rose indique la présence des flavonoïdes (**Karumi, 2004**).

4.3. Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait, ajouter le volume de 0,1 ml hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libre (**Oloyede, 2005**).

4.4. Les anthraquinones

Les anthraquinones ont été mises en évidence en ajoutant 1 ml de NH_4OH (10%). Après agitation, l'apparition d'une couleur violette, indiquée la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

4.5. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes ont été recherchés à l'aide du test de Slakowski en ajoutant 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré à 1 ml d'extrait. L'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interface indiquent la présence de terpénoïdes (**Khan et al., 2011**).

4.6. Les saponosides (Test de mousse)

Ce test a été réalisé par agitation de 10 ml de chaque extrait, la production de la mousse qui persiste pendant 20min indique la présence des saponosides (**NGuessan et al., 2009**).

4.7. Les alcaloïdes

Les tests ont été réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Mayer et Wagner.

Tube 1 : contenant 0,5 ml d'extrait + 0,5ml de réactif de Mayer.

Tube 2 : contenant 0,5 ml d'extrait + 0,5 ml de réactif de Wagner.

L'apparition d'un précipité blanc et marron indique la présence des alcaloïdes (Majob *et al.*, 2003).

4.8. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait puis 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B). Ensuite, l'ensemble était porté au bain-marie bouillant durant 10 min. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (Edeoga *et al.*, 2005).

5. Dosage des composés phénoliques

5.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour quantifier les polyphénols totaux. Ce réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique $H_3[P(W_3O_{10})_4]$ et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Cette méthode est utilisée pour oxyder les composés phénoliques en utilisant le réactif. La combinaison de Folin-Ciocalteu entraîne la création d'un complexe bleu de molybdène-tungstène qui est absorbé à une longueur d'onde de 700 nm (Vermerris & Nicholson, 2007).

Mode opératoire

Un mélange a été formé en ajoutant 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à (2 %) à 100 μ l de chaque extrait, puis le mélange a été incubé pendant 5 minutes. Après l'ajout de 100 μ l de réactif de Folin Ciocalteu (1N) au mélange, une deuxième incubation à température ambiante a été effectuée pendant 5 minutes.

L'absorbance a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre à 700 nm par rapport à un blanc.

La gamme d'étalonnage de l'acide gallique a été préparée dans les mêmes conditions opératoires à des différentes concentrations variées (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg /ml).

5.2 Dosage des flavonoïdes

Principe

Selon le travail d'Ardestani & Yazdanparast (2007), cette méthode spectrophotométrique utilise le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) pour créer un complexe jaune avec les flavonoïdes, tandis que la soude (NaOH) forme un complexe rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

Mode opératoire

Dans des tubes, 2 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 500 μl de chaque extrait, suivis de l'addition de 150 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 %. Les tubes ont été incubés pendant 6 minutes à température ambiante. Ensuite, 150 μl de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à une concentration de 10 % ont été ajoutés. Une deuxième incubation de 6 minutes à température ambiante a été réalisée, puis 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 % ont été introduits. Le volume total a été ajusté à 5 ml en utilisant de l'eau distillée.

Le spectrophotomètre a été utilisé pour mesurer l'absorbance en utilisant un blanc à une longueur d'onde de 510 nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une gamme d'étalonnage de la catéchine a été réalisée en parallèle à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/ml).

5.3 Dosage des tanins condensés

Principe

La quantité de tanins condensés a été estimée par la méthode de la vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et en réagissant avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurable par spectrophotomètre à 550 nm (Sun *et al.*, 1998)

Mode opératoire

50 μL de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1500 μl d'une solution méthanolique de la vanilline (4%). Après agitation, un volume de 750 μl d' HCl concentré

a été additionné. Le mélange était ensuite laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine a été réalisé à différentes concentrations (1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 mg/ml).

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc.

5.4 Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été calculées selon la formule suivante :

$$T = a*f/b$$

T : Teneur

a : Concentration à partir de la courbe d'étalonnage respective

f : Facteur de dilution

b : Concentration initiale de l'extrait

6. Evaluation de l'activité antioxydante

Dans ce mémoire, pour étudier la capacité d'antioxydante des extraits de la plante étudiée deux tests ont été utilisé (DPPH et FRAP).

6.1. Piégeage du radical libre DPPH

Principe

La présence de ce radical donne à la solution une couleur violacée qui absorbe aux environ de 515 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution en virant au jaune et par conséquent une diminution de l'absorbance (**Atoui et al., 2005**).

Mode opératoire

1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,025 mg/ml) ont été mélangés avec 50 µl de différentes concentrations d'extraits. En parallèle, des tubes blancs ont été préparés en mélangeant 50 µl de chaque concentration d'extrait avec 1950 µl de méthanol. Le témoin négatif a été constitué en ajoutant 50 µl de méthanol à 1950 µl de DPPH.

Les tubes ont été incubés à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 515 nm par rapport aux tubes blancs à l'aide d'un spectrophotomètre.

Dans les mêmes conditions expérimentales, l'acide ascorbique, le BHA et le BHT ont également été utilisés comme contrôles positifs. Les doses de BHA et de BHT ont été maintenues à (0,025 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 mg/ml), (0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,7), tandis que celles de l'acide ascorbique ont été maintenues à (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 ; 0,2 mg/ml).

Le pourcentage de piégeage du radical DPPH a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$I\% = \frac{[AC - AE]}{AC} \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition

AC : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon) (Ihoual, 2018).

L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 % des radicaux DPPH). Cette concentration a été calculée à partir des graphes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons (Gulcin, 2020).

6.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Principe

Cette méthode est basée sur la détermination de la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺). Cette réduction se traduit par l'apparition d'une couleur verte qui absorbe à 700nm dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Topçu *et al.*, 2007).

Mode opératoire

Dans des tubes à essai contenant 2,5 ml d'extrait à différentes concentrations, 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M : pH 6,6) puis 2.5 ml de ferricyanure de potassium à 10% ont été ajoutés. Le mélange obtenu a été incubé pendant 20 min à 50°C. Un volume de 2,5 ml d'acide trichloroacétique TCA à 10% A été additionné. Après la centrifugation

Chapitre I : Matériel et méthodes

pendant 10 min à 3000 rpm, un aliquote de 2,5 ml du surnageant a été mélangé avec 2,5 d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de FeCl_3 à 0,1%.

La lecture des absorbances du milieu réactionnel a été faite à 700 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique, le BHA et le BHT sont utilisés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6, 0,8 et 1 mg/ml).

L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des EC_{50} (concentration dont l'absorbance égale 0,5). Cette concentration a été calculée à partir des graphes des absorbances en fonction des concentrations des échantillons en utilisant le logiciel (sigmalot 12.0) (Ferreira *et al.*, 2007 ; Tamuly *et al.*, 2014).

CHAPITRE II :

RÉSULTATS

ET

INTERPRÉTATION



Chapitre II : Résultats et interprétation

Dans ce travail trois techniques d'extraction conseillées en médecine traditionnelle ont été utilisées : l'infusion, la décoction et la macération. Le but de cette analyse est de faire une étude comparative entre :

- ✓ Les rendements des trois extraits obtenus.
- ✓ La composition phytochimique et la variation des teneurs en composés phénoliques au nombre des trois extraits.
- ✓ L'activité antioxydante des trois extraits.

1. Rendements d'extraction

Le rendement correspondant à l'extrait sec (obtenu après évaporation) a été calculé en fonction de la masse de la matière végétale pour chaque méthode d'extraction. Les résultats sont répertoriés dans le tableau n°6.

Tableau n° 06 : Rendements et caractéristiques des différents extraits aqueux de *M. chamomilla*

Extraits	Rendement %	Aspect	Couleur	Solubilité
Extrait aqueux macération EA _M	18,34%	Pâte	Marron très claire	Eau distillée
Extrait aqueux infusion EA _I	25,35%	Pâte	Marron claire	Eau distillée
Extrait aqueux reflux EA _R	26,20%	Pâte	Marron	Eau distillée

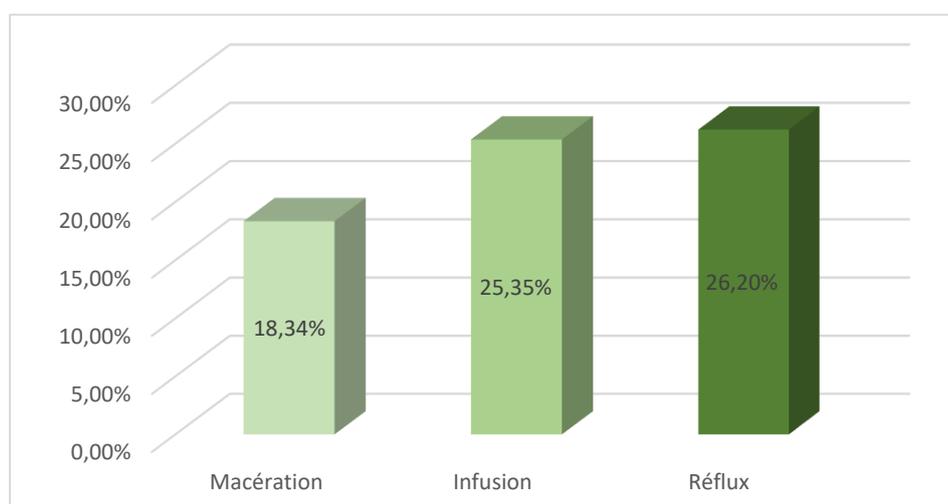


Figure n° 8 : Rendements des extraits aqueux de *Matricaria chamomilla*

Chapitre II : Résultats et interprétation

À partir de ces résultats, il apparaît que le rendement le plus élevé de *Matricaria chamomilla* est donné par l'extrait aqueux obtenu par reflux (26,20 %), suivi de l'extrait aqueux obtenu par infusion (25,35 %), tandis que le rendement le plus bas est donné par l'extrait aqueux obtenu par macération (18,34%).

2. Analyse Phytochimique

Les tests photochimiques réalisés sur les trois extraits aqueux de *M. chamomilla* donnent les résultats regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n° 07 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits aqueux de *M. chamomilla*.

Classes recherchées	EA _M	EA _I	EA _R
Tanins	++	++	+++
Flavonoïdes	-	-	-
Quinons libres	+++	+++	+++
Anthraquinones	-	-	-
Terpénoïdes	-	-	-
Saponosides	++	++	+++
Alcaloïdes	-	-	-
Composés réducteurs	++	-	+++

+++ : Réaction fortement positive.

++ : Réaction moyennement positive.

+ : Réaction faiblement positive.

- : Réaction négative.

L'analyse phytochimique des extraits de *Matricaria chamomilla* a révélé une abondance de métabolites secondaires. Principalement les tanins, les quinons libres, les saponosides. Les composés réducteurs sont révélés négatifs que dans l'EA_I. De même les flavonoïdes, les anthraquinones, les terpénoïdes les alcaloïdes, sont révélés négatifs dans les trois extraits.

3. Tenures en composées phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés des différents extraits sont déterminées à partir des équations des régressions linéaires des courbes d'étalonnages représentées sur les figures n°11, 12 et 13.

Chapitre II : Résultats et interprétation

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g d'extrait (mg EAG/gE) pour les polyphénols totaux et en mg équivalent catéchine par g d'extrait (mg EQC /g E) pour les flavonoïdes et les tanins condensés. Les teneurs obtenues sont données dans le tableau n°8.

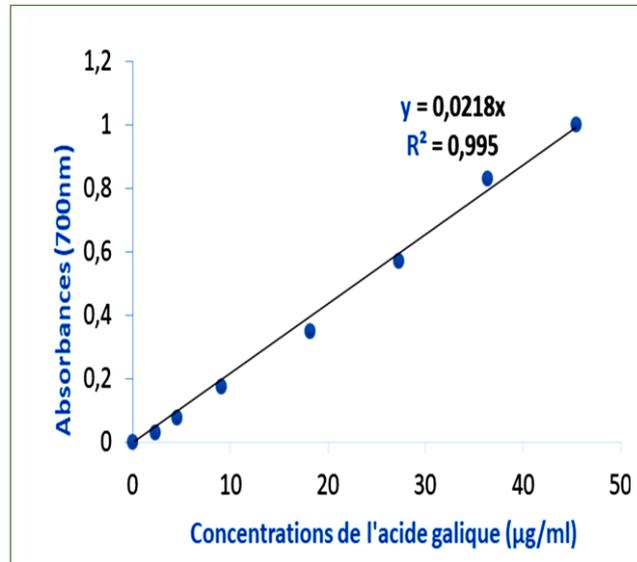


Figure n° 9 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

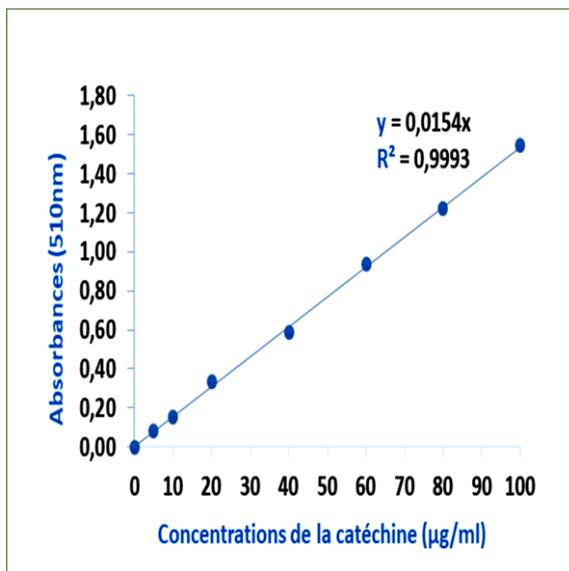


Figure n° 10 : courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

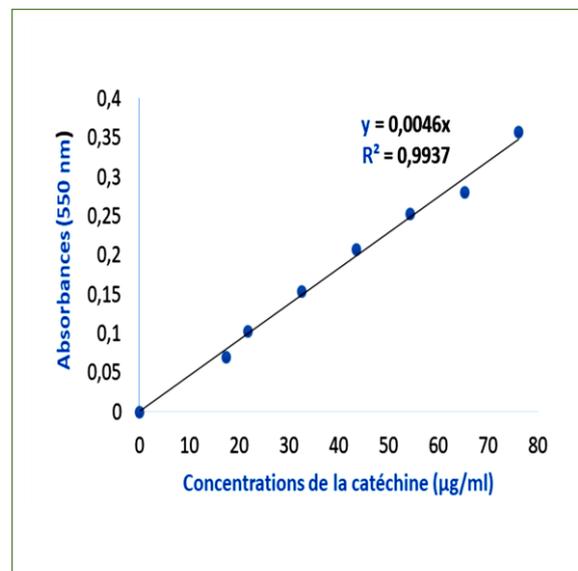


Figure n° 11 : courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Tableau n°8 : Teneurs de différents composés phénoliques dans les extraits de *M. chamomilla*.

	Macération	Infusion	Reflux
Polyphénols totaux (mgEAG/gE)	80,73 ± 0,00	151,38 ± 0,00	20,18 ± 0,00
Flavonoïdes (mgEQC/gE)	38,96 ± 0,00	36,80 ± 2,17	58,44 ± 0,00
Tanins condensés (mgEQC/gE)	5,22 ± 0,17	4,89 ± 0,39	5,44 ± 0,096

Les résultats présentés dans le Tableau n° 8, montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les différents extraits. L'extrait aqueux obtenu par infusion enregistre un maximum de polyphénols ($151,38 \pm 0,00$ mg EAG/gE), suivi de l'extrait aqueux obtenu par macération qui renferme une teneur moyenne ($80,73 \pm 0,00$ mg EAG/g E). Tandis que la plus basse concentration des polyphénols a été mesurée dans l'extrait aqueux obtenu par reflux ($20,18 \pm 0,00$ mg EAG/gE).

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits varient entre 36 et 58 mg EQC/g E. La concentration la plus élevée des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait aqueux obtenu par reflux, avec un taux de $58,44 \pm 0,00$ mg EQC/gE, alors que les extraits aqueux obtenus par infusion et macération renferment des teneurs très proches entre 37 et 39 mg EQC/g E, respectivement.

Les teneurs en Tanins condensés des différents extraits sont plus proches entre (5 et 5,5 mg EQC/gE). La concentration la plus faible des tanins a été mesurée dans l'extrait aqueux obtenu par infusion, avec un taux de $4,89 \pm 0,39$ mg EQC/gE, par rapport aux extraits aqueux obtenus par macération et reflux, avec des teneurs de l'ordre de $5,22 \pm 0,17$ et $5,44 \pm 0,096$ mg EQC/gE, respectivement.

5. Activité antioxydante des extraits de *M. chamomilla*

Dans cette recherche, deux techniques ont été employées afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux de *M. chamomilla* : la technique DPPH^{*} et la technique FRAP.

Les extraits aqueux ont été comparés à des molécules de référence telles que l'acide ascorbique, le BHA et le BHT dans les deux méthodes.

5.1. Piégeage du radical DPPH•

A. Piégeage du radical DPPH par les extraits aqueux de *M. chamomilla*

Les figures n°14, 15, 16 représentent les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits aqueux étudiés.

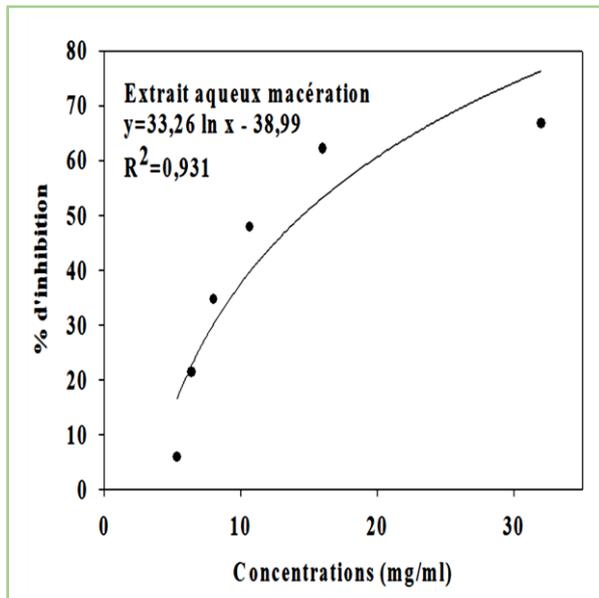


Figure N° 12 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par macération (n= 3)

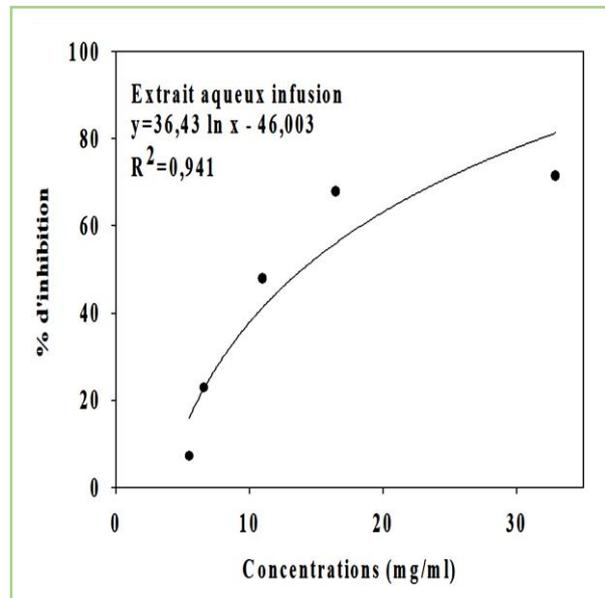


Figure N°13 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par infusion (n= 3)

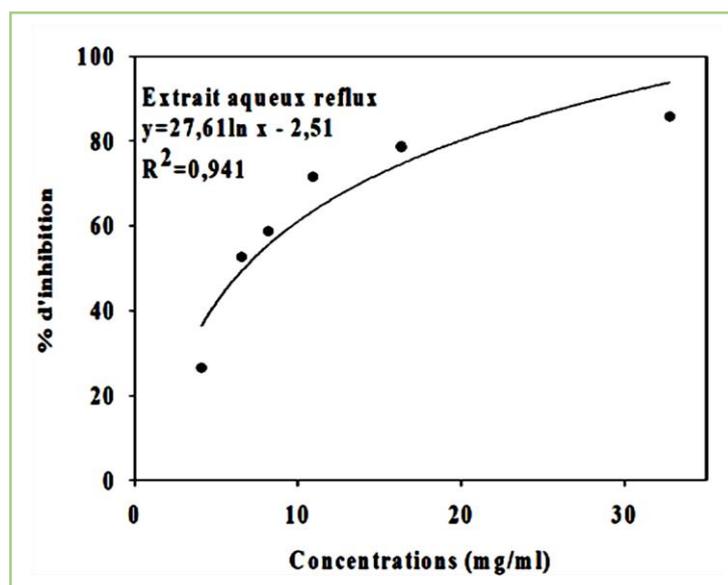


Figure N° 14 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux par reflux (n= 3)

Chapitre II : Résultats et interprétation

Selon ces figures on observe que :

A la concentration la plus faible (6mg/ml), l'extrait aqueux obtenu par macération présente un pourcentage d'inhibition de 21% et l'extrait aqueux obtenu par infusion atteint 23%, tandis que l'extrait aqueux obtenu par reflux montre le plus fort pourcentage (53%).

D'autre part, à une concentration moyenne (16mg/ml), les deux extraits aqueux obtenus par macération et infusion montrent un pourcentage d'inhibition de 62% et 68% respectivement, alors que l'extrait aqueux obtenu par reflux présente un pouvoir inhibiteur de 78%.

Enfin, à une concentration élevée de 32mg/ml, les extraits aqueux obtenus par macération, infusion, et reflux présentent des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 67%, 71%, 86%, respectivement.

En comparaison entre les trois extraits, l'extrait aqueux préparé sous reflux présente les pourcentages d'inhibition les plus importants.

B. Piégeage du radical libre DPPH• par les molécules de référence

Les figures n° 17, 18, 19 représentent les régressions logarithmiques et linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des molécules de référence étudiés.

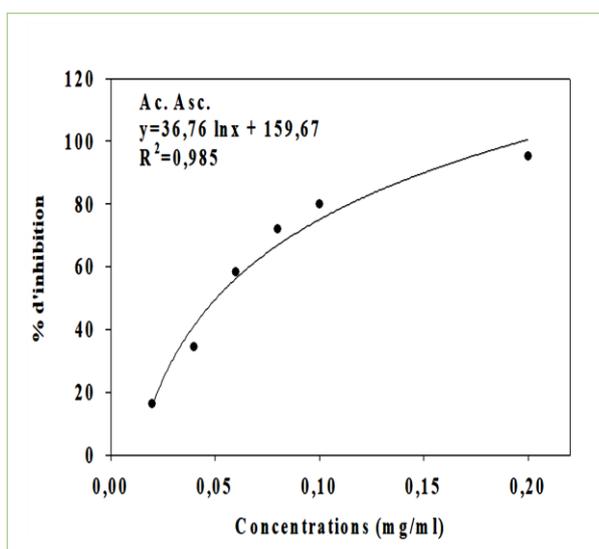


Figure n° 15 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique

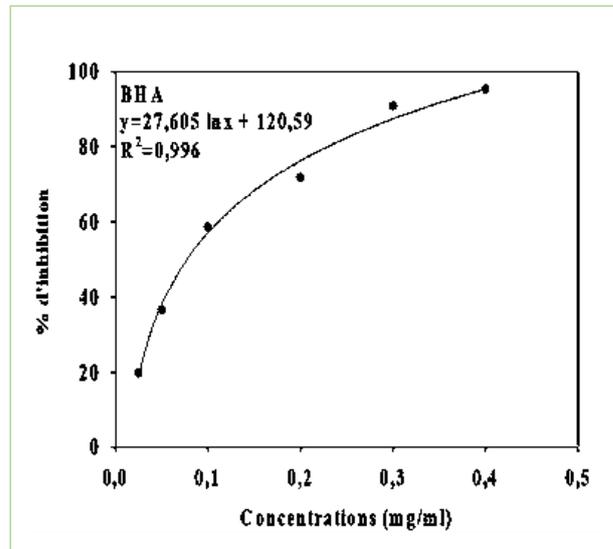


Figure n° 16 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA

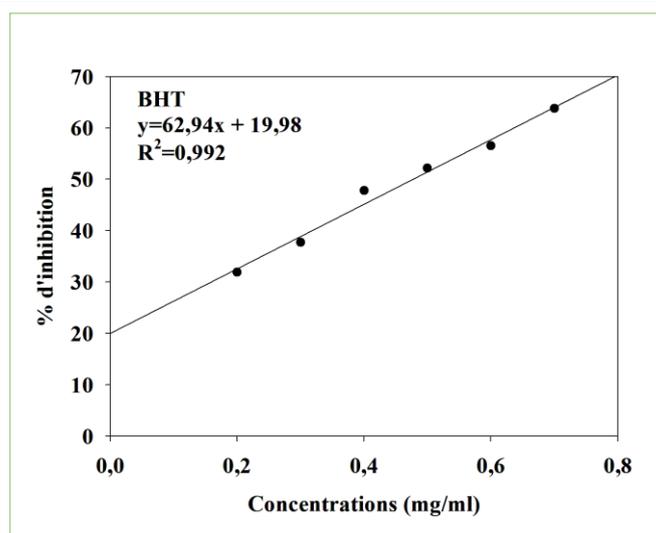


Figure n° 17 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHT

Selon ces figures on observe que :

A une concentration de 0,1 mg/ml, on observe que le BHA et le BHT présentent un pourcentage d'inhibition relativement faible de 59%, 28% respectivement, par rapport à l'acide ascorbique qui présente un pourcentage d'inhibition plus élevé, soit de 80%.

A une concentration de 0,2 mg/ml, le BHA atteint un pourcentage d'inhibition remarquable de 72 %, et le BHT présente un pourcentage d'inhibition très faible soit 32% alors que l'acide ascorbique atteint son maximum (95%).

En comparaison, parmi les molécules de référence examinées, le BHT a le niveau d'inhibition le plus faible. Alors que l'acide ascorbique a une activité antioxydante supérieure, ce qui se manifeste par les pourcentages d'inhibition les plus élevés, suivi du BHA.

c. Calcul des IC₅₀

L'activité antioxydante des molécules de référence et des extraits aqueux a été exprimée en valeurs IC₅₀ (une valeur faible d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à inhiber les radicaux libres, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait).

Les IC₅₀ calculées à partir des régressions précédentes sont données dans le tableau suivant :

Tableau n° 09 : valeur des IC_{50} des extraits aqueux de *M. chamomilla* et des molécules de référence.

Extraits	IC_{50} mg/ml
Extrait aqueux macération EA_M	14,52
Extrait aqueux infusion EA_I	13,95
Extrait aqueux reflux EA_R	6,70
Acide ascorbique	0,050
BHA	0,077
BHT	0,477

Lors de la comparaison des valeurs d' IC_{50} des extraits aqueux de *M. chamomilla* testés avec la méthode de DPPH, on note un pouvoir antioxydant largement supérieure de l'extrait aqueux obtenu par reflux (6,70 mg/ml), suivi, respectivement par les extraits aqueux obtenus par infusion et macération avec des valeurs d' IC_{50} de 13,95 mg/ml et 14,52 mg/ml.

A propos des molécules de référence, l'acide ascorbique possède l'effet antioxydant le plus élevé avec une faible IC_{50} (0,050 mg /ml) suivi de BHA (0,077 mg/ml), puis le BHT qui présente l' IC_{50} la plus élevée (0,477 mg /ml) donc l'effet anti radicalaire le plus faible.

En comparant les extraits avec les molécules de référence, les résultats montrent que les valeurs l' IC_{50} des standards sont largement inférieures à celles des extraits étudiés, donc l'acide ascorbique, BHA, BHT présentent une grande activité anti radicalaire. De même on peut considérer que l' EA_R à une activité antioxydante remarquable ($IC_{50}= 6,70$ mg/ml).

5.2 Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP)

a. La réduction du fer par les extraits aqueux

Les figures n°20, 21 et 22 présentent respectivement, l'évolution des absorbances du milieu réactionnel en présence des concentrations croissantes des extraits aqueux.

Les courbes suivantes des régressions linéaires sont bien corrélées, avec des coefficients de corrélation (R^2) proches de 1.

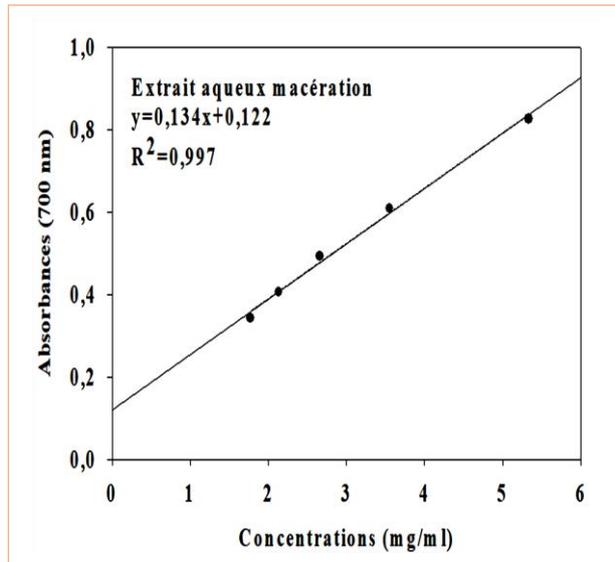


Figure n° 18 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux par macération (n=3).

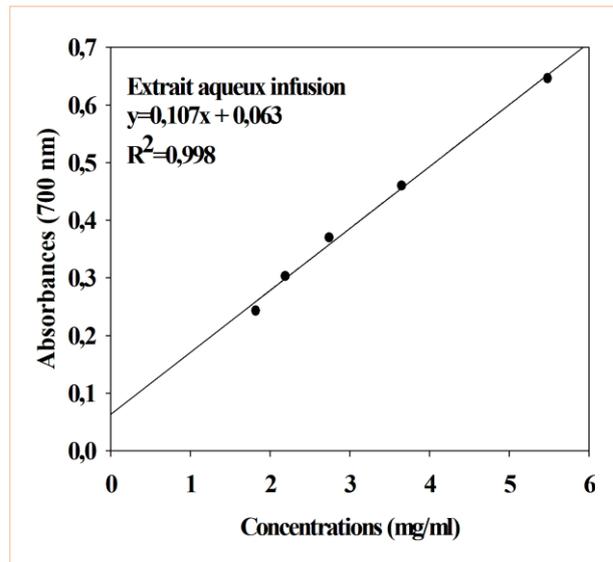


Figure n° 19 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux par infusion (n=3).

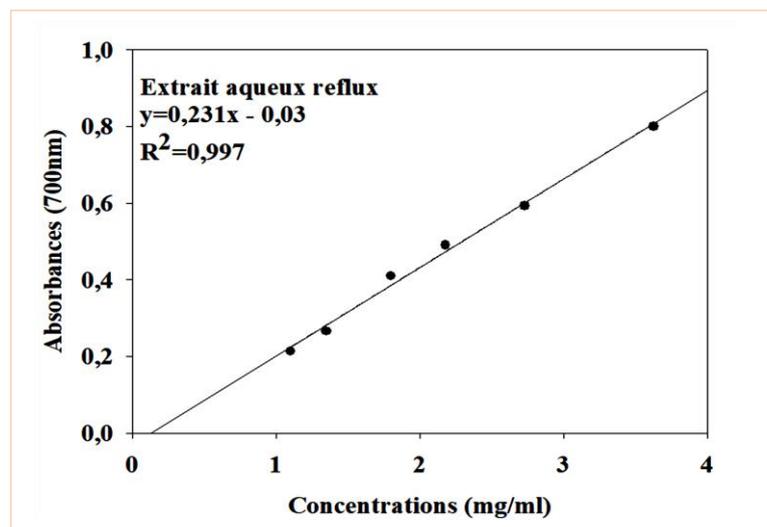


Figure n° 20 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux par reflux (n=3).

Selon ces figures on observe que :

À la concentration la plus faible de 1,8 mg/ml, les absorbances mesurées pour les extraits aqueux obtenus par macération, infusion, reflux sont, respectivement 0,34 ; 0,24 et 0,41.

Lorsque la concentration atteint 2,7 mg/ml, l'extrait aqueux obtenu par infusion présente la plus faible absorbance (0,37), tandis que les extraits aqueux obtenus par

Chapitre II : Résultats et interprétation

macération et reflux montrent des valeurs d'absorbances relativement élevées, soit 0,49 et 0,59, respectivement.

Enfin, à une concentration élevée de 3,6 mg/ml, les absorbances augmentent proportionnellement, atteignant 0,61 pour l'extrait aqueux obtenu par macération, 0,46 pour l'extrait aqueux obtenu par infusion et 0,8 pour l'extrait aqueux obtenu par reflux.

b. Réduction du fer par les molécules de référence

Les résultats obtenus avec les trois molécules de référence (acide ascorbique, BHA et BHT) pour la diminution du fer sont illustrés sur les figures n°23, 24 et 25. Les résultats sont représentés sous forme de courbes avec des régressions linéaires fortement corrélées proche de 1.

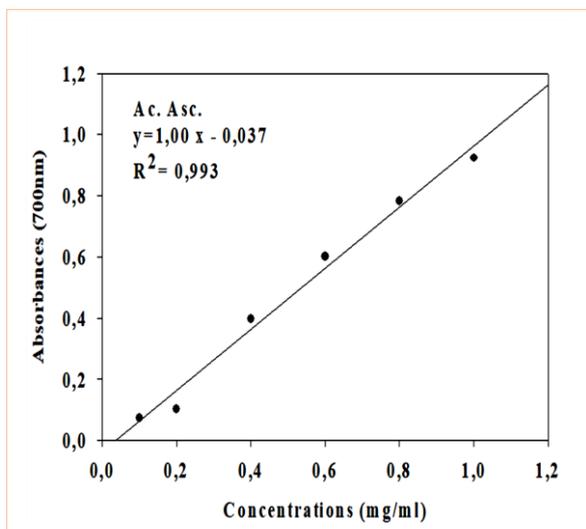


Figure n° 21 : Pouvoir Réducteur de standard acide ascorbique, testé par la méthode FRAP

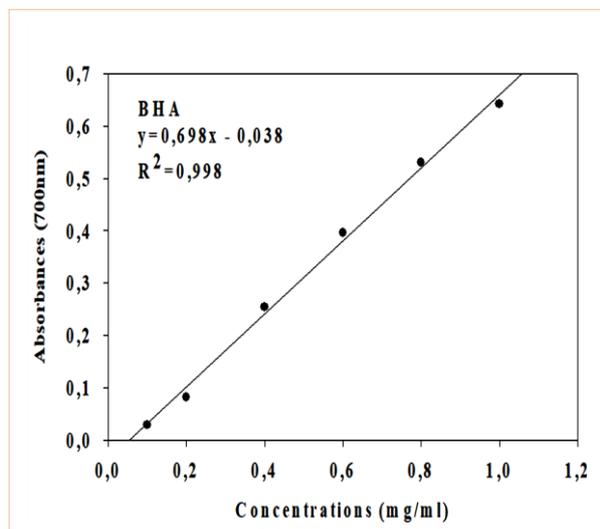


Figure n° 22 : Pouvoir Réducteur de standard BHA, testé par la méthode FRAP

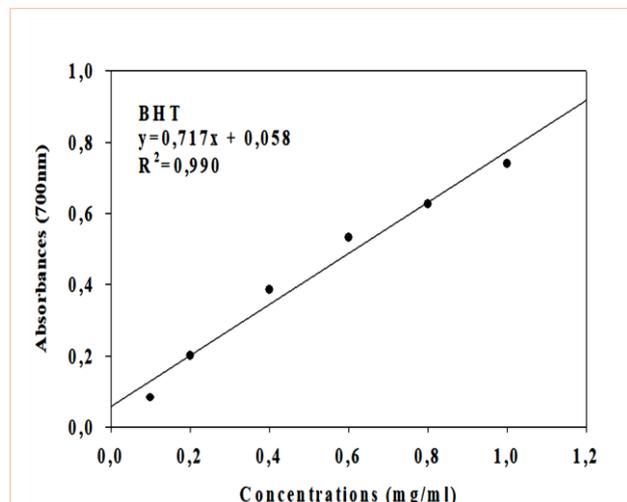


Figure n° 23 : Pouvoir Réducteur de standard BHT, testé par la méthode FRAP

Chapitre II : Résultats et interprétation

Selon ces figures on observe que :

À la concentration la plus faible de 0,1 mg/ml, les absorbances mesurées pour le BHA, le BHT et l'acide ascorbique sont respectivement de 0,02 ; 0,08 et 0,07.

Lorsque la concentration atteint 0,6 mg/ml, l'acide ascorbique présente la plus faible absorbance (0,4), tandis que les valeurs des absorbances de BHA et de BHT augmentent relativement à 0,5 et 0,6, respectivement.

Enfin, à une concentration élevée de 1 mg/ml, les absorbances augmentent proportionnellement, atteignant 0,65 pour le BHA, 0,74 pour le BHT et 0,92 pour l'acide ascorbique.

c. Calcul des EC₅₀

Les équations des régressions linéaires représentées sur les graphes précédents sont utilisées pour calculer les valeurs d'EC₅₀. Ces valeurs figurent dans le tableau suivant :

Tableau n° 10 : Valeurs des EC₅₀ des différents extraits et des molécules de référence.

Extraits	EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait aqueux macération EA _M	2,82
Extrait aqueux infusion EA _I	4,07
Extrait aqueux reflux EA _R	2,29
Acide ascorbique	0,536
BHA	0,771
BHT	0,616

Un pouvoir réducteur plus élevé est associé à une valeur d'EC₅₀ plus faible. On constate que l'EA_R présente le pouvoir réducteur le plus élevé pour réduire le fer suivi de l'extrait aqueux obtenu par macération (2,82 mg/ml), alors que l'EA_I présente un pouvoir réducteur inférieur par rapport aux autres extraits (4,07 mg/ml).

D'autre part, il est à noter que l'acide ascorbique qui est employé dans cette méthode comme contrôle positif, a montré un pouvoir réducteur plus élevé 0,536 mg /ml suivi de BHT et de BHA.

Chapitre II : Résultats et interprétation

D'après les résultats de l'activité antioxydante on peut classer les extraits en comme suit :

DPPH : $EA_R > EA_I > EA_M$.

FRAP: $EA_R > EA_M > EA_I$.

DISCUSSION



Les plantes médicinales ont toujours suscité l'intérêt des scientifiques dans la recherche de substances naturelles efficaces utilisées en médecine et en pharmacie.

On observe une préférence pour leur utilisation par rapport aux produits chimiques synthétisés. Il est indispensable de suivre cette tendance en explorant les aspects les plus importants des plantes médicinales, en étudiant leur efficacité biologique et chimique, comme c'est le cas avec *Matricaria chamomilla*. Cette plante possède de nombreuses propriétés thérapeutiques et est considérée comme l'une des plantes les plus importantes dans divers systèmes médicaux.

L'objectif de notre étude était de réaliser une analyse phytochimique et un dosage quantitatif des différents extraits de la partie aérienne de *M. chamomilla* ainsi évaluer leurs activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage du radical DPPH• et la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

Le rendement le plus élevé a été obtenu par l'extrait aqueux préparé sous reflux (26,2%), suivi par extrait aqueux obtenus par infusion et macération (25,35%, 18,34%). Ce résultat est supérieur à cela de **Kehili et al. (2021)**, qui ont également obtenu un rendement d'un extrait aqueux obtenu par décoction de 3,5% (pour 50g de poudre).

D'après les recherches menées par **Ben alia (2020)**, le rendement le plus élevé de *M. chamomilla* est celui de l'extrait décocté (41,1%) suivi par l'extrait infusé (20,2%) alors que le rendement le plus faible est obtenu par l'extrait éthanolique (18%).

Cependant, **Metrouh et ses collaborateurs (2015)**, ont constaté que l'utilisation de différents solvants tels que l'éthanol (50 %), l'acétone (50 %), et l'acétone pure avec *Matricaria pubescens* a conduit à des rendements de 34,68 %, 34,44 % et 5,02 %, respectivement.

Selon Silva et al. (2007), la taille des particules joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques. Les meilleurs rendements sont généralement obtenus en utilisant des particules plus fines, probablement en raison de l'augmentation de la surface d'échange entre le solvant d'extraction et la matière sèche. La réduction de la taille des échantillons par mouture accroît leur surface d'échange, favorisant ainsi un meilleur contact avec le solvant d'extraction (**Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003**).

Discussions

Les tests phytochimiques qualitatifs révèlent la présence, des tanins, des quinones libres, des terpénoïdes et des saponosides dans les trois extraits aqueux cependant, les composés réducteurs sont absents dans l'extrait aqueux obtenu par infusion.

Nos résultats sont relativement différents avec ceux obtenus par **Djoubani et al. (2017)**, ces derniers ont trouvés chez les mêmes espèces un forts taux en flavonoïdes, et la présence des alcaloïdes, par contre ils sont en accord avec nos données concernant la présence des tanins.

Par ailleurs, l'étude de **Kehili et al. (2021)**, a montré la présence des tanins, des flavonoïdes, des composés réducteurs et des alcaloïdes.

Il est bien établi que le profil phytochimique d'une plante est directement lié aux conditions de l'environnement telles que le climat, la localisation géographique, la température, la photopériode, le stade végétatif, etc. Ces facteurs influent sur les voies de synthèse des composés actifs de la plante (**Tsai et al., 2008**).

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux sur les extraits révèlent que l'extrait aqueux obtenu par infusion est plus riche par rapport aux autres extraits (151,38 mg GAG/gE). Concernant le taux des flavonoïdes et des tanins On observe une supériorité de l'extrait aqueux obtenu reflue en termes de teneurs par rapport à l'extrait aqueux infusé et macéré ($58,44 \pm 0,00$, $38,96 \pm 0,00$, $36,80 \pm 2,17$ mg EQC/gE), ($5,44 \pm 0,096$, $4,90 \pm 0,39$, $5,22 \pm 0,17$ mg EQC/gE, respectivement).

Les recherches menées par **Hadj mohamed et al. (2021)**, sur la partie arienne de la plante *M. recutita*, l'extrait aqueux obtenu par macération de la camomille présente des teneurs en flavonoïde de l'ordre de $57,6 \pm 11,3$ mg EC/g ES. Pour les tanins les résultats révèlent des teneurs de l'ordre de $12,8 \pm 5,2$ mg EC/g ES.

Harbourne et ses collaborateurs (2009), ont rapporté que *Matricaria chamomilla* contient entre 1,46 et 2,45 g EAG/100 g en polyphénol taux.

La quantité des composés phénoliques des extraits de ces plantes étudiées dépend essentiellement de leur origine (**Ebrahimzadeh et al., 2008**), la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante et la maturité de la plante (**Park et Cha, 2003**).

Discussions

Selon notre étude, les résultats le profil de piégeage du radical DPPH• varie d'un extrait à un autre. Les extraits aqueux présentent une activité antioxydante importante ($IC_{50} = 6,69$ mg/ml et $13,94$ mg/ml, $14,52$ mg/ml, respectivement). D'autres part, les résultats concernant la méthode FRAP, mettent en évidence une capacité significative des extraits aqueux à réduire le fer, notamment l'extrait aqueux obtenu par reflux ($EC_{50} = 2,29$ mg/ml) suivi de l'extrait aqueux obtenu par macération en suite par infusion ($2,82$ mg/ml, $4,07$ mg/ml).

Ces résultats expliquent que les extraits aqueux de la camomille renferment des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron.

Dans le système de test DPPH, les valeurs d' IC_{50} de l'huile essentielle et de l'extrait de méthanol étaient respectivement de $4,18$ et $1,83$ μ g/ml. Dans le système β -carotène-acide linoléique, l'oxydation a été efficacement inhibée par *M. Chamomilla*, les valeurs de l'activité anticadicalaire de l'huile essentielle et de l'extrait de méthanol étaient respectivement de $12,69$ et $11,37$ %. En comparaison avec le BHT, l'huile et l'extrait de méthanol présentaient une valeur presque identique (**Abdoul-Latif et al., 2011**).

Les résultats de **Hajjaj, (2017)**, montrent que l'extrait aqueux présente un effet antioxydant très important vis-à-vis du radical DPPH. En effet, l' IC_{50} est de $29,75 \pm 0,58$ μ g/ml pour l'extrait aqueux de *la Chamaemelum nobile L.* et $6,1 \pm 0,6$ μ g/mL pour le BHT. Tandis que, l'huile essentielle de cette plante étudiée possède une IC_{50} très élevée.

D'après **Ben alia (2020)** les concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) sont estimées à $13,02 \pm 5,17$ (α -tochophérol), $2,46 \pm 0,06 \pm 0,18$ (extrait aqueux infusé), $4,07 \pm 0,18$ (extrait aqueux décocté) et $4,12 \pm 0,16$ μ g/ml (extrait aqueux macéré).

D'après **Kitoune et Outamazirt (2018)**, il a été remarqué que l'extrait méthanolique a révélé le pouvoir réducteur le plus important de l'ordre de $0,91$, suivi par les extraits éthanolique et acétonique avec des valeurs de $0,83$ et $0,85$, respectivement, tandis que l'extrait aqueux a révélé le plus faible pouvoir réducteur qui est de l'ordre de $0,51$.

Les études effectuées par **Jayaprakasha et al. (2008)**, ont montrés que le pouvoir réducteur dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons et de la position et du nombre de groupements hydroxylés. Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} .

Discussions

La réduction du chlorure ferrique est souvent utilisée comme indicateur d'activité des donneurs d'électrons qui est un mécanisme important pour l'action antioxydante des polyphénols (**Yang *et al.*, 2009**).

Conclusion



Conclusion

Dans cette étude, nous avons réalisé une évaluation de la composition phytochimique en polyphénols, flavonoïdes et tanins de *M. chamomilla*, ainsi que de leur potentiel antioxydant *in vitro*.

En conclusion de ce travail, l'extrait aqueux obtenu par infusion montre la plus forte teneur en polyphénols ($151,38 \pm 0,00$ mg EAG/g), tandis l'extrait aqueux obtenu par reflux a présenté des niveaux élevés de flavonoïdes ($58,44 \pm 0,00$ mg EQC/gE) et de tanins ($5,44 \pm 0,096$ mg EQC/gE).

Concernant l'activité antioxydante, les différents extraits des fleurs de *M. chamomilla* ont montré une activité importante, indépendamment des tests utilisés (DPPH• et FRAP). Les extraits aqueux obtenus par infusion et macération se sont révélés une activité antioxydante partiellement actifs, alors que l'extrait aqueux obtenu par reflux, qui a montré la meilleure capacité de piégeage du radical DPPH• ($IC_{50} = 6,70$ mg/ml) ainsi qu'une forte capacité de réduction du fer ($EC_{50} = 2,29$ mg/ml).

Ce travail ne représente qu'une partie de la mise en valeur des plantes médicinales à activité antioxydante, mais il est nécessaire de mener des études supplémentaires afin de compléter ce travail en particulier :

- ❖ La modification de la méthode et du solvant utilisé pour l'extraction.
- ❖ Évaluer l'impact des autres substances bioactives liées à ces plantes, telles que les alcaloïdes.
- ❖ Analyse et identification des composés actifs à partir de cette plante en utilisant des méthodes chromatographiques et spectrales comme l'HPLC.
- ❖ Tester autres méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante telle que Test de blanchissement du bêta-carotène, TRAP (Total Radical-trapping Antioxydant Parameter)
- ❖ Tester l'activité antioxydante *in vivo*.
- ❖ Examiner d'autres propriétés biologiques telles que l'anti-inflammatoire, anti-microbienne, anti-cicatrisante et antiallergique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



A

Abdoul-Latif, F. M., Mohamed, N., Edou, P., Ali, A. A., Djama, S. O., Obame, L. C., ... & Dicko, M. H. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9), 1512-15

Alia, B. B. Différentes méthodes d'extraction de l'espèce *Matricaria chamomilla* : (analyse chimique et étude biologique).

Aliouat, A., & BOULKELIA, N. (2014). 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, 15-19.

Anderson, C., Lis-Balchin, M., & Kirk-Smith, M. (2000). Evaluation of massage with essential oils on childhood atopic eczema. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(6), 452-456.

Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104(1), 21–29.

Atoui, A. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27–36.

Avallone, R., Zanolli, P., Puia, G., Kleinschnitz, M., Schreier, P., & Baraldi, M. (2000). Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochemical pharmacology*, 59(11), 1387-1394.

B

Babenko, N. A., & Shakhova, E. G. (2006). Effects of *Chamomilla recutita* flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Experimental gerontology*, 41(1), 32-39.

Balagizi, I., Cihyoka, A., & Mapatano, S. (2005). Lexique et recueil des quelques pratiques en ethno-pharmacopée agro-vétérinaire au Kivu. Plate forme Diobass au Kivu, 118pp (in French).

Références bibliographiques

- Barreda., Luis P., Maria CT., Eduardo B.O., Ian R., Félix F., Viviana D. (2015).** Early evolution of the angiosperm clade Asteraceae in the Cretaceous of Antarctica. 112(35), 10989–10994.
- Bayati Z J, Moradi K N, Moradi K Z. (2014).** Chamomile (*Matricaria recutita*) As a Valuable Medicinal Plant. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2(3):823 829.
- Becker, B., Kuhn, U., & Hardewig-Budny, B. (2006).** Double-blind, randomized evaluation of clinical efficacy and tolerability of an apple pectin-chamomile extract in children with unspecific diarrhea. *Arzneimittelforschung*, 56(06), 387-393.
- Benghersallah N. 2015.** Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et sur leurs systèmes défensifs. Constantine. Université des Frères Mentouri Constantine. p26-34.
- Benguerba, A. (2008).**"Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L", mémoire magister, Université mentouri-constantine, 5-14.
- Bensakhria A.(2015)** . Le stress Oxydatif. Toxicologie générale. Analytic toxicology.
- Benzeggouta, N. (2015).** Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux De plantes médicinales seules et combinées. Thèse doctorat. Université Mentouri. Constantine.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020).** The versatility of antioxidant assays in food science and safety-chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(8), 709.
- Boutaoui N. (2012).** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae), Etude de la phase acétate d'éthyl. Diplôme de Magister en Chimie Organique. Université Constantine 1. P 116.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Breitmaier, E. (2006).** Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. John Wiley & Sons.

C

Cardenas J. (2017) Directeur médical de Doctissimo. Médecine Douce. Phytothérapie. Plantes Médicinales. https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/matricaire_camomille-allemande.htm.

Chauhan, R., Singh, S., Kumar, V., Kumar, A., Kumari, A., Rathore, S., ... & Singh, S. (2021). A comprehensive review on biology, genetic improvement, agro and process technology of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Plants*, 11(1), 29.

Cinco, M., Banfi, E., Tubaro, A. U. R. E. L. I. A., & Loggia, R. D. (1983). A microbiological survey on the activity of a hydroalcoholic extract of camomile. *International journal of crude drug research*, 21(4), 145-151.

Collard J.(2018) . Les systèmes de défences Antioxydants. Stress oxydant. *Revue Medicale ULG*; 61 : 5-6 : 464-470.

Crotteau CA, Wright ST, Eglash A (2006). Clinical inquiries. What is the best treatment for infants with colic? *J Fam Pract* 55:634-6

D

Deponte, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(5), 3217–3266. doi:10.1016/j.bbagen.2012.09.018.

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.

E

Eberhard, T., Robert, A. et Annelise, L. (2005). Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.

Ebrahimzadeh, M. A., Pourmmorad, F. and Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*, 32 : 43-49.

Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 685-688.

Références bibliographiques

El-Missiry, M.A.(2012). Antioxidant Enzyme. Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. DOI: 10.5772/2895.

Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C. (2003). Extraction from foods. Methods in polyphenol analysis, 1-16.

F

Falleh H., Kousri R., Chaieb K., Karray- Boutaoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities .C.R.Biologies. 331:372-379.

Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L., & Barreira, J. C. (2007). Free radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. Food chemistry, 100(4), 1511-1516

Forster, H. B., Niklas, H., & Lutz, S. (1980). Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta medica*, 40(4), 309-19.

Friguet, B. (2003). Le vieillissement moléculaire et cellulaire et ses futurs enjeux. *Actualite Chimique*, (11/12), 103-107.

G

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J. Med. Plants Res*, 5(31), 6697-6703.

Ghizlane, H. (2017). Screening phytochimique, étude Toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* l. et de l'*Ormenis mixta* l.(Asteraceae) (Doctoral dissertation, PhD Theis, Université de Mohammed V, Rabat, Maroc).

Gomaa, A., Hashem, T., Mohamed, M., & Ashry, E. (2003). *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *Journal of pharmacological sciences*, 92(1), 50-55.**Gulcin, İ. (2020).**

Références bibliographiques

Antioxydants and antioxidant methods : An updated overview. Archives of Toxicology, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>

H

Habersang, S., Leuschner, F., Isaac, O., & Thiemer, K. (1979). Pharmacological studies with compounds of chamomile. IV. Studies on toxicity of (-)-alpha-bisabolol (author's transl). *Planta Medica*, 37(2), 115-123.

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique. Etude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de *l'ormenis mixta* l. These de doctorat présenté pour Formation : Sciences du Médicament. Université Mohammed V. Rabat. Maroc.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.

Harbourne, N., Jacquier, J.-C. and O'Riordan, D. (2009). Optimisation of the extraction and processing conditions of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) for incorporation into a beverage. *Food Chem*, 115: 15–19.

Harkati B. (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *Scorzonera undulata*. Thèse doctorat : Chimie organique : Constantine : Université de Mentouri Constantine, 4-5

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2, 3-6.

Ihoual ép Fethi, S., & Abidli, N. Effet d'extrait méthanolique de la plante médicinale *Phlomis samia* (الخياطة) sur l'apoptose des cellules cancéreuses HepG2 et MDA MB 468 et sur la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

J

Jahangir T. & Sultanaa. (2007). Perillyl alcohol protects against Fe-NTA-induced nephrotoxicity and early tumor promotional events in rat experimental model. Evidence-based complementary and alternative medicine. 4: 439-45.

Jayaprakasha, G.K., Girenavar, B., Patil, S. B. (2008). Radical scavenging activities of Rio Red grape fruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. Bioresource Technology, 99: 4484–4494.

K

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. Journal of Medical Sciences, 4(3), 179-182.

Kassi, E., Papoutsi, Z., Fokialakis, N., Messari, I., Mitakou, S., & Moutsatsou, P. (2004). Greek plant extracts exhibit selective estrogen receptor modulator (SERM)-like properties. Journal of agricultural and food chemistry, 52(23), 6956-6961.

Kato, A., Minoshima, Y., Yamamoto, J., Adachi, I., Watson, A. A., & Nash, R. J. (2008). Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(17), 8206–8211. doi:10.1021/jf8014365

Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., & Murad. (2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. Journal of Medicinal Plants Research, 5(25), 6017–6023.

Kitoune, I., Outamazirt, A. (2018). Optimisation de l'extraction des extraits phénoliques bruts et l'activité antioxydante de *Chamaemelum nobile*. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de master en Biochimie Fondamentale. Université A. MIRA. Bejaïa. Algérie.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme, 20(4), 165-177.

Kruidenier, L. and Verspaget, H.W. (2002). Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease- radicals or ridiculous? Aliment Pharmacol Ther, 16: 1997-2015

Références bibliographiques

Kumara N, Goel N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*. e00370. doi:10.1016/j.btre.2019.e00370.

L

Lakhdar, R., Denden, S., Kassab, A., Leban, N., Daimi, H., Kahloun, H., ... & Ben Chibani, J. (2012, March). Le Stress Oxydatif et la BPCO : Polymorphisme des Glutathion-S-Transférases et Apport de la Phytothérapie Clinique. In *International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012* 997 (pp. 251-256).

Lalhminghlui, K., & Jagetia, G. C. (2018). Evaluation of the free-radical scavenging and antioxidant activities of Chilauni, *Schima wallichii* Korth in vitro. *Future Science OA*, 4(2), FSO272. doi:10.4155/fsoa-2017-0086.

Lapornik B., Prosek M. and Wondar A.G., 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-product using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. 71:214-222.

M

Mahady, G. B., Parrot, J., Lee, C., Yun, G. S., & Dan, A. (2003). Botanical dietary supplement use in peri-and postmenopausal women. *Menopause*, 10(1), 65-72.

Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranien Journal of Pharmaceutical Research*. 77-82.

Maqsood S, Benjakul S, Shahidi F. (2013). Emerging Role of Phenolic Compounds as Natural Food Additives in Fish and Fish Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* ; 53(2), 162–179.

Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De Oliveira, A. R. S. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24.

Masago, R., Matsuda, T., Kikuchi, Y., Miyazaki, Y., Iwanaga, K., Harada, H., & Katsuura, T. (2000). Effects of inhalation of essential oils on EEG activity and sensory evaluation. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science*, 19(1), 35-42.

Références bibliographiques

Mateos R, Espartero , Trujillo ., Rios J, Leon-Camacho M., Alcudia F, Cert A, Agric J. 2001. Food Chemistry, 49, p. 2285.

Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical biochemistry, 32(8), 595-603.

Matos, M. J., Santana, L., Uriarte, E., Abreu, O. A., Molina, E., & Yordi, E. G. (2015). Coumarins—an important class of phytochemicals. Phytochemicals-isolation, characterisation and role in human health, 25, 533-538.

Mekhelfi, T., & Zaiter, L. (2016). Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes-Activités Biologiques.

Metrouh-Amir, H., Duarte, C. M.M. and Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. Industrial Crops and Products, 67: 249–256.

Mezache, N, (2010). "Determination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques especes de la famille asteraceae: *Senecio giganteus* Desf. et *Chrysanthemum myconis* l", Thèse doctorat, Université mentouri-Constantine, 4, 5, 17,23-26

Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)(1971-2008)).

Monique. G A., Dominique. B R., Zohreh. A., Daniel. J. Espèces réactives de l’oxygène : Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ?. L’activité chimique. 2003 ; 91-95.

Mourad, B., Mihoub, Z. M., & Sétif, U. F. A. (2011). Etude de l’activité antioxydante et antimicrobienne d’extraits d’*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l’obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbes-Setif.

N

N’Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D. and Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). Sciences & Nature, 6(1).

Références bibliographiques

Narel Y, Paniagua Z, Bussmann R W. (2020). *Matricaria chamomilla L. Matricaria discoidea DC.ASTERACEAE. Ethnobotany of the Andes, Ethnobotany of Mountain Regions.* https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2_183-1.

Nelson N. (1997). Scents or nonsense: aromatherapy's benefits still subject to debate. *Journal of the national cancer institute.* 89: 1334-6.

O

Oloyede, O. I. (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition,* 4(6), 379-381.

Ozturk, M., & Hakeem, K. R. (Eds.). (2018). *Plant and human health, volume 1: ethnobotany and physiology.* Springer International Publishing.

Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry,* 30(4), 652-664. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.016>.

P

Packer, L., Tritschler, H. J., & Wessel, K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant α -lipoic acid. *Free radical biology and medicine,* 22(1-2), 359-378.

Park, H. J. and Cha, H.C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society,* 7: 327-330.

Piri E, Mahmoodi S M., Khaleghi E, Mottaghipisheh J, Zomborszki Z P, Hohmann J, Csupor D. (2019). Chemo-Diversity and Antiradical Potential of Twelve *Matricaria chamomilla L.* Populations from Iran: Proof of Ecological Effects. *Molecules,* 24(7) : 1315.

Pourrut, B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse spécialité: Ecotoxicologie. France.

Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews,* 88(4), 1243–1276. doi:10.1152/physrev.00031.2007.

Références bibliographiques

Powers, S. K., & Lennon, S. L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(4), 1025-1033.

Friday G., Silverblatt C.E., Slottee J.S., Smith J.C. and Todd D.B.,(1999). Liquid solid operations and equipment, in Perry's chemical engineers 'handbook- 7th Ed, Perry R.H., Green w., Maloney J.O.The McGraw-Hill Companies, Inc., Etats Unies' Amerique.

R

Rhatts Ma, Douira A et Zidane L. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*. 97:9187 – 9211.

Rize-Evans F .(1993). *Phytochemistry*.Vol.8,p 10.

Rosenberg Zand RS, Jenkins DJ, Diamandis EP (2001). Effects of natural products and nutraceuticals on steroid hormone-regulated gene expression. *Clin Chim Acta* 312:213-9

Ross I A. (2001). *Matricaria chamomilla*. *Medicinal Plants of the World*. 285

S

Santi M M, Dipjyoti Ch, Satyahari D. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior*. 5:4, 359-368.

Schilcher, H. (1987). *Die Kamille: handbuch für ärzte, apotheker und andere Naturwissenschaftler* (pp. 59-61). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

Silva, E., Rogez, H., Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Ingaedulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55: 381-387.

Sisein E A. (2014). Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*. ; 2(2), 110-118.

Sivanandham V. (2011). Sivanandham, V. (2011). Free radicals in health and diseases-a mini review. *Pharmacologyonline*, 1(1), 1062-1077.

Sturtz, L. A., Diekert, K., Jensen, L. T., Lill, R., & Culotta, V. C. (2001). A fraction of yeast Cu, Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the

Références bibliographiques

intermembrane space of mitochondria: a physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *Journal of Biological Chemistry*, 276(41), 38084-38089.

T

Tamuly, C., Hazarika, M., & Boruah, P. (2014). Antioxidant potential and phytochemical screening of different parts of *Centella asiatica* (Linn.) Urban collected from Dibrugarh district, Assam, Northeast India. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(3), 01-05.

Topcu, G., & Gören, A. C. (2007). Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. *Records of Natural Products*, 1(1), 1.

Tsai P.J., Wua S.C. and ET Cheng Y.K., 2008. Role of polyphenols in antioxidant capacity of Napier grass from different growing seasons. *Food Chemistry*. 106: 27–32.

V

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. Springer Science & Business Media.

W

Wichtl M. et Anton R., 2003. *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Ed, EMInter/Tec & Doc, Paris. Pp: 369-7