



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Amélioration des propriétés fonctionnelles d'un shampooing
par l'addition de flavonoïdes**

Présenté par : Laouissi Kenza
Chettouh Merbouha

Devant le jury :

Président : Pr. Djenidi Redha	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant : Dr. Benyoucef Nabil	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur : Dr. Bllik Yuva	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

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

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre promoteur Dr. Benyoucef Nabil, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé, nous a permis de réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier Pr. DJENIDI Redha de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent aussi à Dr. Bllik Yuva d'avoir accepté d'examiner notre travail.

On tient à remercier sincèrement Mr Sedrati Nouari pour le temps précieux et l'intention qu'il nous a consacrée.

On tient aussi à remercier tous les techniciens du laboratoire notamment Mme Wahiba, Mme Sabrina, et Mr khalil pour leur aide
Précieuse

Nous adressons un grand merci à Monsieur Zorai Bilel qui nous a aidés à apporter du shampoing

On ne saurait terminer sans remercier tout le personnel du laboratoire d'analyses médicales de centre poly-clinique de Medjana d'avoir fourni le sang sur lequel on a travaillé, Spécifiquement Mr Slimani Halim

Nous exprimons notre gratitude à tous les enseignants rencontrés lors de notre cycle universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes parents

*La source de tendresse et l'exemple du dévouement, qui n'ont pas cessé de
m'encourager et de prier pour moi.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que
vous*

*méritez pour tous l'amour et les sacrifices que vous n'avez cessé de me
donner*

depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mes très chers frères et mes chères sœurs

Je dédie ce travail aussi

A mes tantes et oncles

A mes cousins et cousines.

A ma binôme Merbouha et mes aimables amies Siham, Wissem et Randa.

A tous mes collègues de la promotion de Biochimie.

Merci infiniment.

kenza

DÉDICACES

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

À mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

À Ma sœur Wafa, son mari A. Asmalek et son fils Karim.

Mes frères Adnan, Zakaria, Haithem, Adem, pour leur soutien moralement et matériellement.

Et Toutes mes amies surtout : Dihan, Wissam et À ma chère Binôme « KENZA » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille,, et tous mes collègues de la promotion de M2 2019.

À toute ma famille, proche ou éloignée.

Merbouh

Liste des abréviations.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux.	
Introduction.....	01

partie bibliographique

Partie I

I.1. La phytocosmétologie

I.1.1.

Historique.....	03
-----------------	----

I.1.2. Utilisation des extraits végétaux comme ingrédients actifs en cosmétique..... 04

I.1.2.1. Les polyphénols.....04

I.1.2.1.1. Les acides phénoliques04

I.1.2.1.2. Les flavonoïdes.....04

I.1. 2.1.3. Les tanins05

I.1.2.2.Les terpènes.....05

I.1.2.2.1. Les huiles essentielles05

I.1.2.2.2. Les Saponosides.....05

I. 1.2.2.3.Les Caroténoïdes06

I.1.3.Exemples de plantes utilisées en cosmétique07

I.2. Etude Biochimique des flavonoïdes

I.2.1.Les flavonoïdes08

I.2.2.Structure chimique.....08

I.2.3.Classification.....08

I.2.4.Origine biosynthétique.....10

I.2.5.Propriétés botaniques10

I.2.6.Propriétés Physico-Chimiques des flavonoïdes :

I.2.6.1.Solubilité et l'extraction.....	12
I.2.6.2.Dosage.....	12
I.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes	
I.3.1.Activité anti-oxydante.....	13
I.3.2.Activité anti-inflammatoire.....	14
I.3.3.Activité antimicrobienne	14
I.3.3.1. Activité antibactérienne.....	14
I.3.3.2. Activité antifongique.....	15
I.3.3.3. Activité antivirale.....	15
I.3.3.4. Autres propriétés	16
I.3.4.effet sur la viabilité cellulaire	16
I.3.5.Effets sur la peau	16
I.3.5.1. Protection contre les dommages de l'UV	18
I.3.5.2. Effet antityrosinase	18
I.3.5.3. Activité anti collagénase et anti élastase	18
I.3.5.4. Activité anti vieillissement	19
I.3.6.Effets sur les cheveux :	
I.3.6.1. Effeanti-pellicule	19
I.3.6.2. Effet anti-chute des cheveux	20
I.3.6.3. Effet sur la croissance des cheveux	21

Partie expérimentale

Partie II : Matériel et méthodes

II.1.Matériel.....	23
II.1.1. Matériel végétal	23

II.1.2. Microorganismes utilisés.....	23
II.1.3. Produits chimiques et réactifs.....	23
II.2.Méthodes :	24
II.2.1.Préparation de la poudre végétale :	24
II. 2.2.Extraction au méthanol des composés phénoliques.....	24
II. 2.3. Dosage des flavonoïdes	24
II.2.4.Extraction des flavonoïdes par macération.....	25
II.2.5. Activités biologiques	
II.2.5.1.Activité anti-hémolytique	28
II.2.5.1.1. Echantillons de sang humain.....	28
II.2.5.1.2.Préparation des globules rouges.....	28
II.2.5.1.3.Evaluation de la toxicité des extraits de thé vert vis-à-vis des globules rouges.....	28
II.2.5.1.4.Evaluation de l'effet du thé vert sur la stabilisation de la membrane des globules rouges.....	28
II.2.5.2. Activité anti-oxydante	29
II.2.5.3. Activité anti microbienne	30
II.2.6.Préparation de shampooing.....	31
Partie III : Résultats et discussion	
III.1. Dosage des flavonoïdes.....	32
III.2.Activité anti-hémolytique	33
III.3. Activité anti-oxydante	38
III.4. Activité anti microbienne	39
III.4.1. Activité antifongique	39
III.4.2. Activité antibactérienne	41
III.5.Effet de l'extrait du thé vert sur les performances d'un shampooing.....	43

Conclusion	45
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

AA : Alopecie areata

AC : Absorbance de control

ADV : Adenovirus

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADV : Adenovirus androgénétique

AGA : Alopecie androgénétique

AKT : protéines kinases

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ARN : Acide ribonucléique

AT : Absorbance de test

COX : Cyclooxygénase

DHT : Dihydrotestostérone

DMF : Diméthylformamide.

DPC : Cellules de la papille dermique

DPPH: Diphényl picryl-hydrayl

EGCG: Epigallocatechin-3-gallate

EQ : Equivalent de quercitrine

ErK : Extracellular signal-regulated kinases

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

HaCaT : Adulte humain, Calcium, Température

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine

HMC : Cytokines dans des mastocytes humains

HV : Virus de l'herpes

IL : interleukine

iNOS : Inducible nitric oxide synthase

K₂HPO₄ : Potassium phosphate dibasique.

KH₂PO₄ : potassium phosphate monobasique.

LOX : Lipooxygénase

MS : Matière sèche.

MMP : Métalloprotéases matricielles

NaCl : Chlorure de sodium

NF- κ B : facteur nucléaire kappa B

NHDF : Fibroblastes dermaux humains normaux

NHEK : Kératinocytes épidermiques humains normaux

NO : Monoxyde d'azote

OH : Hydroxyles.

PCA : Acide Pyrrolidone Carboxylique

PDA : Gélose dextrosée à la pomme de terre

pH : Potentiel d'hydrogène.

SIDA : Symptôme d'immunodéficience acquise

TNF : facteur de nécrose tumorale

UV : Ultra-violet.

V/V : Volume par volume

.

Liste des figures :

Figure.I.2.1 : Structure de base des flavonoïdes

Figure.I.2.2 : Structures des différentes classes de flavonoïdes

Figure.I.2.3 : Chalcones et Aurones

Figure.I.2.4 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes

Figure.I.3.1 : Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques

Figure.I.3.2 : Les divers facteurs responsables du vieillissement de la peau

FigureII.1 : Le thé vert (*Camellia sinensis*)

Figure II.2 : Protocole d'extraction des composés phénoliques

Figure II.3 : Protocol de dosage des flavonoïdes

Figure II.4 : Etapes d'extraction des flavonoïdes

Figure II.5 : Réaction du test DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Figure III.1 : Courbe étalon préparée à l'aide de la quercétine

Figure III.2 : Effet de quercétine sur l'hémolyse des globules rouges en fonction des concentrations.

Figure III.3 : Effet de la concentration de l'extrait des flavonoïdes du thé vert sur l'hémolyse des globules rouges

Figure III. 4 : Effet de la concentration en quercétine et du diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges

Figure III.5 : Effet de la concentration de l'extrait du thé vert sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie et chaleur, en fonction des concentrations

Figure III.6 : Effet de l'extrait de thé vert, de la quercétine et le diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie et chaleur, en fonction des concentrations

Figure III.7 : Evolution de l'activité scavenging du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait des feuilles de thé vert

Figure III.8 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait de thé vert.

Figure III.9 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance des bactéries induites par l'extrait de thé vert.

Liste des tableaux :

Tableau.I.1 : Exemples de plantes utilisées en cosmétique.

Tableau.III.1 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait de thé vert.

Tableau.III.2 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance des bactéries induites par l'extrait de thé vert.

Tableau.III.3 : Effet de l'extrait du thé vert sur les performances d'

Introduction :

Durant plusieurs siècles, les plantes médicinales furent la principale, voir l'unique source de remède aux problèmes sanitaires. Un grand nombre de plante médicinales et aromatiques et des plantes cultivées ou spontanées possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui ont trouvé des applications dans divers domaines, particulièrement en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture (**Hennebelle et al., 2007**). En effet, les propriétés biologiques observées chez les végétaux sont attribués en générale soit à une classe de molécules bioactives bien définie, soit à l'interaction entre plusieurs molécules de différents types.

Parmi les molécules bioactives les plus citées par la littérature, les flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires des plantes, ayant une activité anti oxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne. Ils sont distribués partout dans le règne végétal à des proportions variables conditionnées par les facteurs génétiques et environnementales. (**Zillic et al., 2015**).

Les effets bénéfiques des flavonoïdes en tant qu'ingrédients fonctionnels ont considérablement attiré l'attention de l'industrie pharmaceutique et cosmétique ces dernières années surtout avec l'évolution des modes de consommation et les effets secondaires causés par les produits de synthèse. En conséquence, de nombreux produits de soin de la peau ou produits dits biocosmétique ont été développés à base d'extraits de plantes enrichis en flavonoïdes (**Zillic et al., 2015**)

Beaucoup de plantes ayant fait l'objet de recherche d'activités biologiques sont utilisés actuellement dans l'industrie des produits d'hygiène corporelle, avec une tendance vers le retour à la nature. Par conséquent, l'apport des végétaux à la cosmétologie devient de plus en plus important. A titre d'exemple, les oléagineux, plantes riches en molécules émulsionnantes, extraits de fleursetc. Ces préparations sont utilisées soit sous formes de crèmes, émulsions, gels, poudres, savons, shampooings, solutés, suspensions...ect (**Boughendjioua, 2001**).

Le présent travail de recherche s'intègre dans le cadre du développement et l'amélioration des propriétés fonctionnelles des produits cosmétiques à large consommation, essentiellement les shampooings par l'utilisation de flavonoïdes extraits du thé vert (*Camellia sinensis*).

La présente étude est subdivisée en deux grandes parties :-Une revue bibliographique décrivant l'état de l'art sur la thématique étudiée, essentiellement l'étude des flavonoïdes et leurs utilisations dans le domaine du cosmétique.

-Une partie expérimentale regroupant le matériel et les méthodes utilisées, les résultats obtenus et discussion, et enfin une conclusion générale.

Partie Bibliographique

I.1. La phytocosmétologie

I.1.1. Historique de la phytocosmétologie :

L'usage des cosmétiques est universel et remonte certainement à des temps très anciens. On pense que ce type de produit est originaire d'Extrême-Orient, mais l'étude des sociétés archaïques a révélé leur usage en d'autres points du globe.

Les peintures de guerre des indiens d'Amérique, le tatouage et la pratique de la scarification (incisions superficielles de la peau) que l'on rencontre chez de nombreux peuples, comme les Maoris en Nouvelle-Zélande et plusieurs populations africaines, l'usage de la guède (teinture végétal de couleur bleu utilisée pour se peindre le corps) sont autant d'utilisations des cosmétiques qui témoignent aussi bien d'une volonté d'impressionner l'ennemi que de servir de parure.

Les cosmétiques les plus anciens ont été retrouvée en Égypte et remontent à l'Ire dynastie (v. 3100 av. J-C).

Les sépultures de cette époque renfermaient des pots d'onguents, dont on sait, d'après des découvertes ultérieures, qu'ils étaient parfumés. Les préparations de ce type, tout comme les huiles parfumées (utilisées par les hommes autant que par les femmes), étaient destinées à protéger l'épiderme de la déshydratation et du vieillissement, accélérés par le climat chaud et sec de l'Égypt. Les égyptiens apprirent aux Juifs l'usage des cosmétiques, et l'on trouve dans l'Ancien Testament plusieurs mentions relatives au maquillage.

Au milieu du Ier siècle de notre ère, l'usage des cosmétiques était largement répandu chez les Romains, qui se servaient de Khôl pour ombrer les cils et la paupière, de craie pour éclaircir le teint, de fard à joues et de pierre ponce pour nettoyer les dents.

Au moyen Age, les croisés découvrirent que les cosmétiques étaient couramment utilisés au Proche-Orient, et c'est à leur retour qu'ils en répandirent l'usage en Europe.

A l'époque contemporaine, l'emploi des cosmétiques prend un nouvel essor avec l'étude scientifique des ingrédients entrant dans leur composition.

Aujourd'hui la phytocosmétologie est au centre d'une industrie lucrative, surtout dans le monde occidental, de nombreux produits cosmétiques aujourd'hui sont disponibles sur le marché bénéficient ainsi des derniers acquis scientifiques et technologiques de la recherche en biocosmétique, ce qui les rend de plus en plus efficaces. **(Boughendjioua, 2001).**

I.1.2.Utilisation des extraits végétaux comme ingrédients actifs en cosmétique :**I.1.2.1. Les polyphénols :**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes ayant une activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne (**Kwon et al., 2007 ;Bouakaz, 2006**). Ils sont distribués partout dans le règne végétal et constituent des ingrédients intéressants pour les produits cosmétiques et la pharmacie en raison de leurs propriétés biologiques (**Zillich et al., 2015**).

I.1.2.1.1.Les acides phénoliques :

Les acides phénols ou acides phénoliques, ont une fonction acide située sur un groupement phénolique. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories : Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque, et les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (**Haslam, 1994**).

Depuis les années 1960, les techniques de nettoyage et de la thérapie dermique utilisent des agents kératolytiques tels que l'acide trichloracétique, le phénol, le résorcinol et l'acide salicylique qui relèvent de la classe des polyphénols. La Chimio-peeling a été utilisé pour traiter les rides de la peau, les troubles de la pigmentation, le photovieillissement, les cicatrices d'acné, les cernes et lésions précancéreuses (**Ronald et al., 1999**).

I.1.2.1.2.les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont présents dans la plupart des plantes à des concentrations plus ou moins importantes. Ils sont composés d'une génine polyphénolique sous forme de flavones, de flavonones (hespéridine), de flavonols (quercétine et rutine), associées à une ou deux molécules de sucre (glucose, rhamnose). De part leur caractère hydrosoluble, les flavonoïdes ont une grande affinité pour les ions divalents des métaux lourds initiateurs d'oxydation. Ils sont de plus capables de capturer des radicaux libres. Ils ont donc un rôle antioxydant et anti radicalaire. A titre d'exemple, certains flavonoïdes inhibent la synthèse des prostaglandines. Cette action leur confère une activité anti-inflammatoire, ils seront donc particulièrement appréciés pour une action préventive contre le vieillissement de la peau (**Martini, 2001**).

Les flavonoïdes font partie de nombreuses molécules bioactives composant les produits cosmétiques vendus sous la forme d'extraits de plantes. En effet, l'activité biochimique favorable des flavonoïdes est la raison principale pour laquelle leur popularité est de plus en plus croissante.

D'après **Arct et al., (2002)** le facteur essentiel influençant l'activité des flavonoïdes sur la peau est leur capacité de la pénétration de l'épiderme. Ils sont également utilisés dans les domaines anti-âge, anticellulite, anti-couperose et éclaircissants. Cependant, les flavonoïdes exercent d'autres activités importantes tel que le renforcement des vaisseaux capillaires, un effet anti-inflammatoire, une protection contre les radiations, et autres effets secondaires tel que l'hydratation, l'adoucissant, l'épaississement ainsi qu'un effet antiseptique (**Prakash et al., 2003**).

Les anthocyanidines font partie de la classe des flavonoïdes avec des caractéristiques particulières. Ils sont composés d'une génine (composé organique constitué de la partie non glucidique d'un hétéroside) telle que le malvidol, le delphinidol, le cyanidol, le pétunidol associée à un sucre, possédant des propriétés vitaminiques P par l'amélioration de la résistance des capillaires et diminution de leur perméabilité (**Martini, 2001**).

I.1.2.1.3. Les tanins :

Ce sont des polyphénols hydrosolubles. On les divise en tanins hydrolysables : dérivés de l'acide gallique combinés à des sucres, et en tanins dérivés de catéchol. Ils ont la propriété de se fixer sur les protéines de la peau grâce, en partie, à des liaisons hydrogène. Cette action se traduit par un resserrement des pores et un raffermissement de la peau. Les tanins catéchiques ont, en outre, la propriété de diminuer la perméabilité capillaire ce qui leur confère une activité anti-inflammatoire (**Martini, 2001**).

I.1.2.2. Les terpènes :

I.1.2.2.1. Les huiles essentielles :

Les activités principales des huiles essentielles sont antiseptiques et cicatrisantes. Elles favorisent aussi la pénétration cutanée. Chaque huile essentielle possède en outre des vertus mais aussi des inconvénients qui lui sont propres.

Certaines peuvent être allergisantes et même toxiques provoquant, lorsqu'elles sont ingérées ou appliquées sur de grandes surfaces, des convulsions et crises épileptiformes. Il faut signaler que le cuir chevelu, par sa richesse en follicules pileux constitue une voie de pénétration de choix pour les huiles essentielles. Il est donc prudent de contrôler les traitements capillaires qui sont instaurés avec ces substances (**Martini, 2001**).

I.1.2.2.2. Les saponosides :

Ils sont composés d'une génine stéroïdique ou triterpénique associée à un sucre : galactose, glucose, pentose, méthylpentose. Ce sont avant tout des tensioactifs naturels mouillants et

moussants. Ils favorisent en conséquence, le contact avec la peau. Ils la débarrassent de l'excès de sébum en exerçant une détergence modérée. Toutefois, certains saponosides présentent une activité rubéfiante et stimulent les échanges par activation de la microcirculation. Ils sont hémolytiques non par voie orale ou cutanée, mais par voie parentérale (**Martini, 2001**).

I.1.2.2.3. Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux jaunes, oranges ou rouges, liposolubles. Ils sont formés d'unités isopréniques terminées par un cycle aromatique qui détermine la nature du caroténoïde. Les caroténoïdes sont les précurseurs de la vitamine A et le plus connu d'entre eux ainsi que le plus utilisé est le β -carotène. Ils possèdent des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires. C'est aussi un anti-radicalaire (**Martini, 2001**).

I.1.3.Exemples de plantes utilisées en cosmétique :

Tableau.I.1.1. Exemples de plantes utilisées en cosmétique (Paulina, 2013)

Plantes	Molécules bio actives	Propriétés	Application en cosmétique
Arnica	astragaline, lutéoline, kaempférol, quercétine, isoquercétrine, hispiduline, apigénine, isorhamnetine, patulétine, spinacétine	- anti-inflammatoire - antimicrobien - antiseptique - Protection UV - stimuler les follicules pileux - anti-rougissement - anti-gonflement	- produits anti-couperose - anti-inflammatoire et régénérant des produits de beauté - shampooings stimulants - gels de douche et de bain - produits cosmétiques pour les pieds - déodorants
Aubépine	kaempférol, quercétine, rutine, vitexin, hyperoside, orientine, vicénine	- anti-irritant - anti-inflammatoire - anti-couperose - anti-démangeaisons - Protection UV - régénère et stimule la peau et les cheveux	- produits de soin pour la peau sensible - shampooings et conditionneurs pour cheveux sec et abîmés - shampooings et revitalisants antipelliculaires - des gels de douche et de bain relaxants
pulmonaria	kaempférol, quercétine,	- régénérant - anti-irritant - anti-inflammatoire - anti-bactérien	- produits anti-acné - produits cosmétiques pour les peaux grasses et sensibles - produits régénérant

I.2. Etude biochimique des flavonoïdes

I.2.1. Définition des flavonoïdes :

Le terme flavonoïde provient du latin flavus signifiant jaune. La présence de flavonoïdes a été révélée dans le zeste du citron par les travaux du Hongrois Szent –Gyogyi en 1936 et 1937 sur le scorbut. Avant lui, la première substance flavonoïde obtenue à l'état pur : le morin, a été isolée par Chevreul en 1814. Le terme "flavonoïde" provient du nom flavedo correspondant à la couche externe des écorces d'orange. Ce terme désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Gérard, 2004**) qui sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, presque toujours hydrosolubles (**Riberau, 1968**).

I.2.2. Structure chimique :

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (**Milane, 2004**) à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné que désigne la lettre C (**Dacosta, 2003**), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Milane, 2004**).

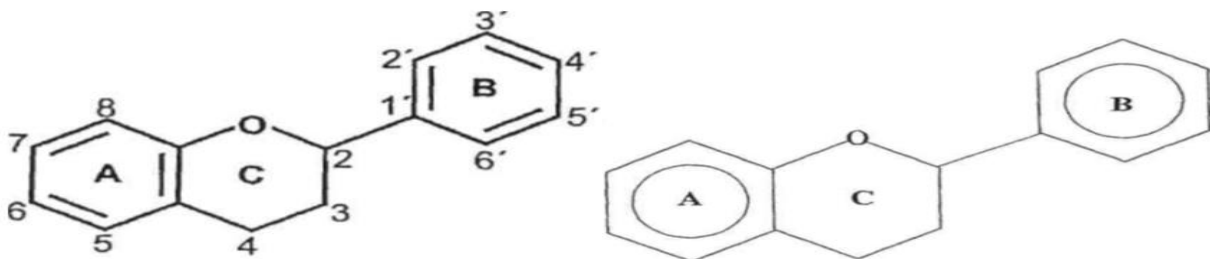


Figure.I.2.1. Structure de base des flavonoïdes

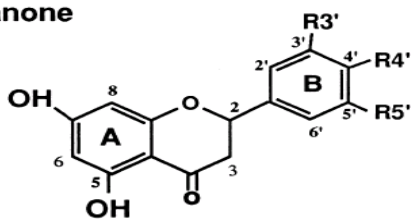
I.2.3. Classification :

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3.

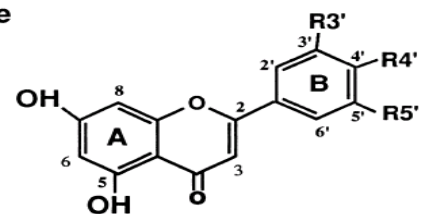
- Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.
- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, la flavane est appelé Flavanone.

- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavon
- Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de Flavonol.
- Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (**Bouakaz, 2006**).
- Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols (**Athamena, 2009**).

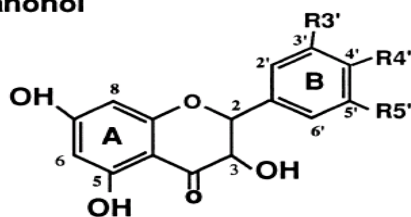
flavanone



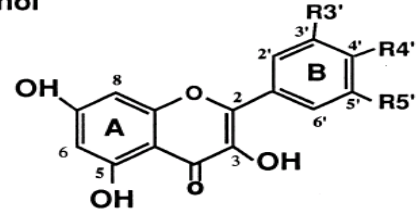
flavone



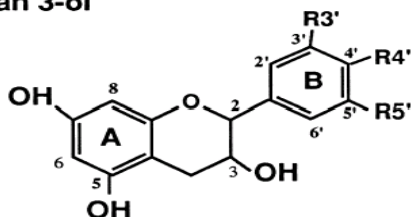
flavanonol



flavonol



flavan 3-ol



isoflavone

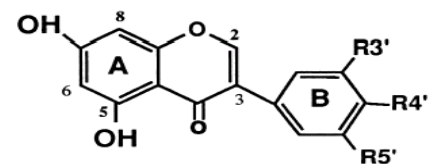


Figure.I.2.2. Structures des différentes classes de flavonoïdes
(Gamet et al., 1999).

-Chalcones :

Les chalcones sont caractérisées par la présence d'une chaîne tri-carbonée linéaire qui relie les deux cycles. Cette chaîne contient une double liaison (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

-Aurones :

Les aurones sont des pigments jaunes présents dans les fleurs, issus de la cyclisation des chalcones par la formation d'un hétérocycle de cinq carbones (Vermerris et Nicholson, 2006).

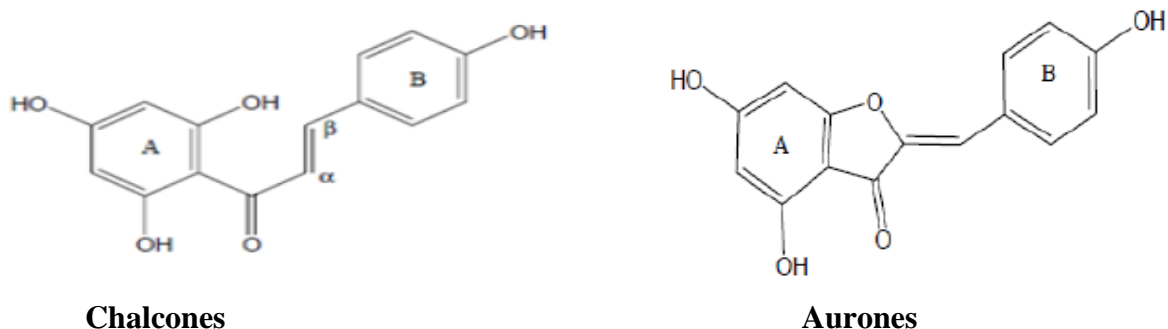


Figure.I.2.3. Chalcones et Aurones (Vermerris et Nicholeson, 2006)

I.2.4.Origine biosynthétique :

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl-CoA. Le *p*-coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (Lhuillier, 2007).

Des étapes ultérieures surtout de glycosylation et acylation amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle elles se trouvent *in vivo* (Bouakaz, 2006).

I.2.5.Propriétés botaniques :

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes, puis ils migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Ils interviennent comme constituants des chromoplastes (Lahlah, 2008). La plante fabrique des flavonoïdes pour se protéger de l'oxydation et c'est le rayonnement solaire qui stimule cette réaction. Plus l'ensoleillement augmente, plus les

teneurs en flavonoïdes augmentent, surtout dans les parties les plus exposées. Ils servent également à attirer l'attention des insectes pollinisateurs, ou au contraire à dessiner des formes pour éloigner les prédateurs, certains flavonoïdes sont même toxiques pour les insectes (Lahlah, 2008)

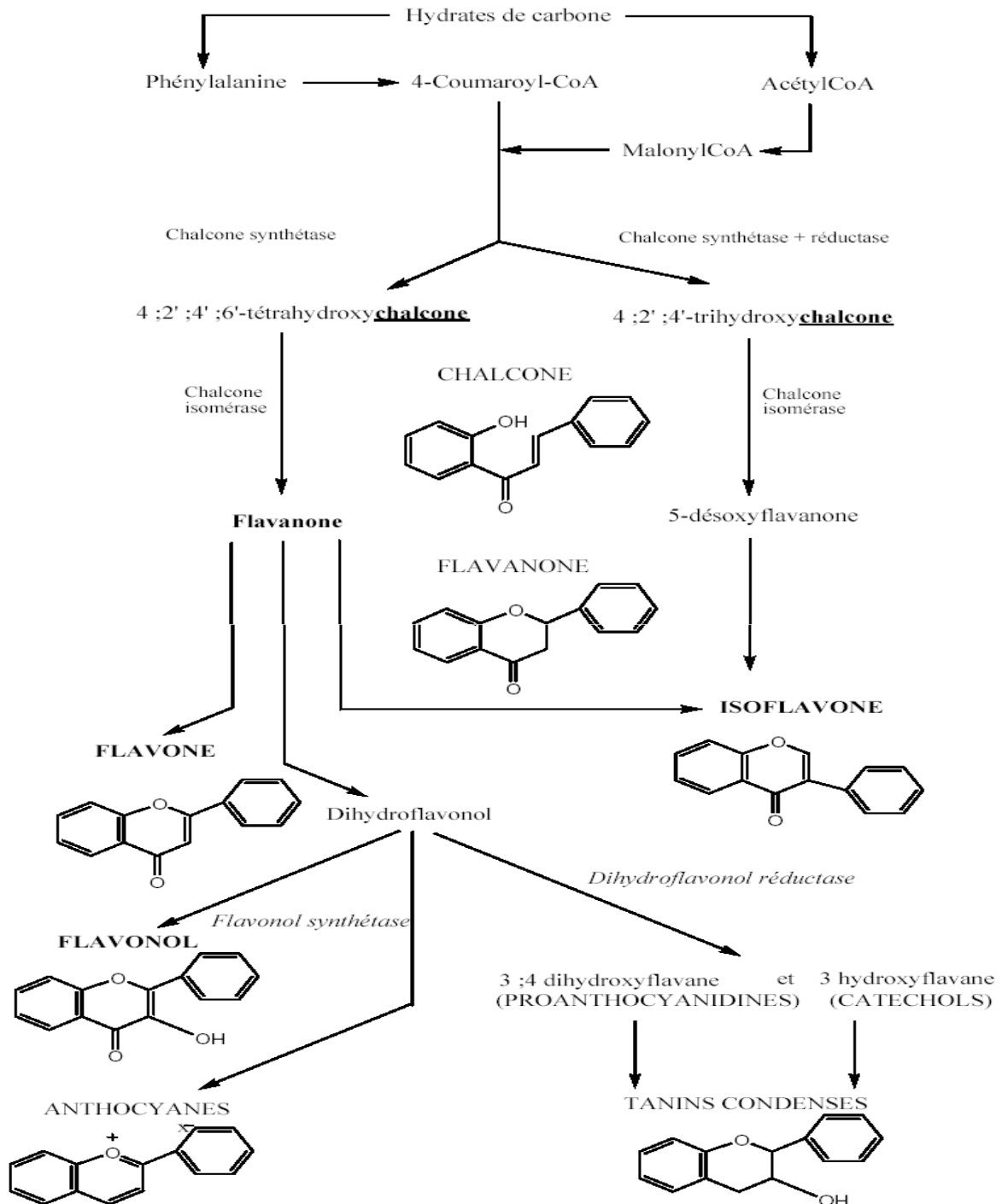


Figure.I.2.4. Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Milane, 2004).

I.2.6. Propriétés Physico-Chimiques des flavonoïdes :**I.2.6.1.Solubilité et extraction :**

Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau (**Athamena, 2009**). Si les aglycones sont les cibles, une hydrolyse chimique est habituellement effectuée avec de l'acide chlorhydrique ou l'acide formique à des températures élevées, l'hydrolyse enzymatique est également employée. (**Rijke et al., 2006**).

I.2.6.2.Dosage des flavonoïdes :

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L' HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes (**Athamena, 2009**).

I.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes

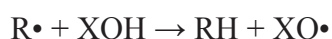
I.3.1. Activité anti-oxydante :

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Györgyi, en tant que des composés avec l'activité anti-oxydante prononcée (**Hodeket al., 2002**).

Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par :

- Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO)
- La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production
- La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

Les flavonoïdes forment l'une des plus importantes familles de molécules ayant des activités antioxydantes, une caractéristique associée à la présence dans leur structure de groupes hydroxyles liés à des noyaux aromatiques. La quercétine est un puissant antioxydant dont la grande réactivité peut être liée à la présence d'un groupe hydroxyle dans le cycle carboné. Ce groupe peut réagir selon :



En effet, la xanthine oxydase, une source biologique importante du radical superoxyde est inhibée par plusieurs flavonoïdes comme la chrysrine, la quercétine et le kampferol (**Nagao et al., 1999**). D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont aussi de bons inhibiteurs d'autres enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (**Cho et al., 2004; Manthey et al., 2000; Middleton et al., 2000**).

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques (**Morris, 1995**). Les études menées sur la chélation du fer par certains flavonoïdes, ont pu ressortir les sites potentiels pour la chélation des ions métalliques (**Heim et al., 2002**).

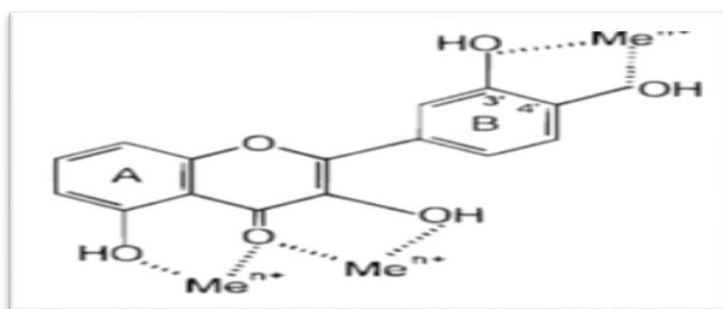


Figure.I.3.1. Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (**Pietta, 2000**).

I.3.2. Activité anti-inflammatoire :

Une étude portée sur l'astragaline, la fisetine, le kaempferol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibaient la sécrétion de l'histamine. Les cinq flavonoïdes actifs ont également inhibé la hausse du taux de calcium intracellulaire, **(Park et al., 2008)**.

L'analyse de l'expression des gènes et de la sécrétion de plusieurs cytokines dans des mastocytes humains (cellules HMC-1) a révélé que la fisetine, la quercétine et la rutine diminuaient l'expression et la production du TNF- α , de l'IL-1- β , de l'IL-6 et de l'IL-8. La myricétine, quant à elle, a diminué celles du TNF- α et de l'IL-6 mais pas celles de l'IL-1- β ou de l'IL-8. Enfin la fisetine, la myricétine et la rutine ont supprimé l'activation de NF-kappaB **(Park et al., 2008)**.

La présence de flavonoïdes dans les différentes parties de *Pistacia lentiscus* lui confère cette activité anti-inflammatoire, cela par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 **(Manthey, 2000 ; Bozorgi et al., 2013)**

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols du cacao, peuvent prévenir la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils éliminent la synthèse de l'oxyde nitrique, déclencheur chimique de l'inflammation. Il a été également démontré que d'autres flavonoïdes inhibaient la sécrétion des mastocytes impliqués dans les phénomènes inflammatoires **(Fleuriet et al., 2005)**.

I.3.3. Activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Les flavonoïdes accélèrent le processus de destruction des agents pathogènes en améliorant la capacité des macrophages à les neutraliser. **(Fleuriet et al., 2005)**.

I.3.3.1. Activité antibactérienne :

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* **(Babayi et**

al., 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska et al., 2006), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* ... etc. (Didrak, 1999 ; Modak, 2001 ; Okigbo et al., 2005).

Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Exemple : sur plusieurs bactéries testées l'apigénine n'a montré une faible activité que contre *Staphylococcus aureus*, toutes les autres ont été fort sensibles à ce flavonoïde. Au contraire, la galangine n'a donné une activité que sur *Staphylococcus aureus* ; les autres microorganismes se sont avérés résistants contre cette molécule (Basile et al., 1999 ; Cushnie et al., 2003 ; Martiniet al., 2004).

Bien que le mécanisme d'action des flavonoïdes sur les microorganismes demeure encore imprécis, certaines études ont commencé à donner un début d'explication de leur activité antibactérienne en citant des exemples bien explicites ; comme celui de la quercétine censée agir sur l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Dadi et al., 2009).

Des travaux récents ont mis en évidence la richesse de *Sebastiania chamaelea* en composés polyphénoliques, notamment en flavonoïdes, très probablement responsables de la meilleure activité antibactérienne de son extrait éthanolique contre *S. aureus*. Ces résultats peuvent justifier l'emploi traditionnel de la plante dans le traitement de certaines maladies d'origine bactérienne (Mamadou et al., 2014)

I.3.3.2. Activité antifongique :

Comme la majorité des polyphénols, les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études les plus importantes sur cette activité était celle d'Ortuno et al. (2006), qui ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones extraites de *Cirtus paradisi* et de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. En effet, la naringinine, l'héspéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine extraites de ces deux espèces de *Cirtus* servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum* (Ortuno et al., 2006).

Dans leur étude sur les flavonoïdes de *Conyzaaegyptica L.*, Batawita et al. (2002), ont aussi démontré que ces molécules avaient une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Candida zeylanoïdes* (Kuster et al., 2009).

I.3.3.3. Activité antivirale :

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus

d'influenza, le virus de l'herpès (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (A/WS/33) (**Spedding et al., 1989 ; Choi et al., 2009**).

Certains chercheurs (**Spedding et al., 1989**) ont d'abord suggéré que ces polyphénols agissaient comme inhibiteurs de la transcriptase et/ou la transcriptase reverse de l'agent viral et de l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte ; bloquant ainsi tout le processus infectieux. D'autres travaux plus récents ont ensuite démontré que les flavonoïdes inhibaient plus exactement la synthèse de l'ARNm viral (**Choi et al., 2009**). Ceci, impliquait que les flavonoïdes n'intervenaient pas dans l'absorption des agents viraux, mais plutôt à un stade plus avancé impliqué dans la réplication virale.

I.3.4. Autres propriétés :

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (**Athamena, 1999**).

En effet, les flavonoïdes sont aussi connus pour avoir un rôle préventif contre la cardiotoxicité, leur inhibition de la peroxydation lipidique et leur capacité à prévenir différentes atteintes hématologiques, une activité antidiarrhéique, une activité anti tumorale, Activité cardioprotectrice, la protection des neurones et la protection oculaire. de même les flavonoïdes ont déjà été utilisés pour le traitement des cataractes d'origine diabétique du fait qu'ils inhibent l'aldose réductase (**Akroum, 2010**).

I.3.5. Effet sur la viabilité cellulaire :

Beaucoup d'études publiées décrivent que les polyphénols n'affectent pas négativement la viabilité cellulaire. Par exemple, l'extrait de fraise riche en polyphénol, étudié par **Giampieri et al. (2014)**. Le traitement avec la catéchine due à une augmentation de la viabilité et diminution de l'apoptose et de la prolifération des cellules endothéliales et cellules musculaires lisses vasculaires in vitro (**Negrao et al., 2013**). **Chamcheu et al. (2013)** ont démontré que la delphinidine améliorait de manière significative la différenciation des NHEK par les kératinocytes, mais n'induisait pas leur apoptose.

Une étude portée sur l'effet d'un extrait de myrtille riche en anthocyanes sur des cellules de rétine humaine, a montré que la myrtille augmente la viabilité cellulaire, diminue le stress oxydant et l'apoptose mitochondriale (**Dutot et al., 2008**).

I.3.6. Effets sur la peau :

Avec les phanères, la peau est aussi la barrière, l'enveloppe la plus périphérique de l'être humain, et a un important rôle protecteur contre les agents agressifs.

Même s'il ne s'agit pas de pathologie au vrai sens du mot, les anomalies cosmétologiques surviennent par des processus biologiques qui détériorent les structures normales. Les éléments de détérioration sont en général physiologiques :

- vieillesse normale du sujet et de sa peau
- déshydratation épidermodermique
- modification du film hydrolipidique
- exagération ou modification des sécrétions et structures de la peau
- dégradation des structures collagèneuses, d'élastine ou musculaires.

Participent aussi à ces phénomènes des éléments naturels : soleil, vent, eau, sel, pollution. Ces modifications entraînent les anomalies que nous connaissons sous les termes :

- peau sénile ; peau déshydratée, peau sèche ; peau grasse, peau mixte, peau irritée, peau nerveuse, peau atone, peau postacnéique ;
- cellulite, lipodystrophie et culotte de cheval », vergetures, cernes, rides ; mais aussi : chute de cheveux, cheveux détériorés (Goetz et Busser, 2007)

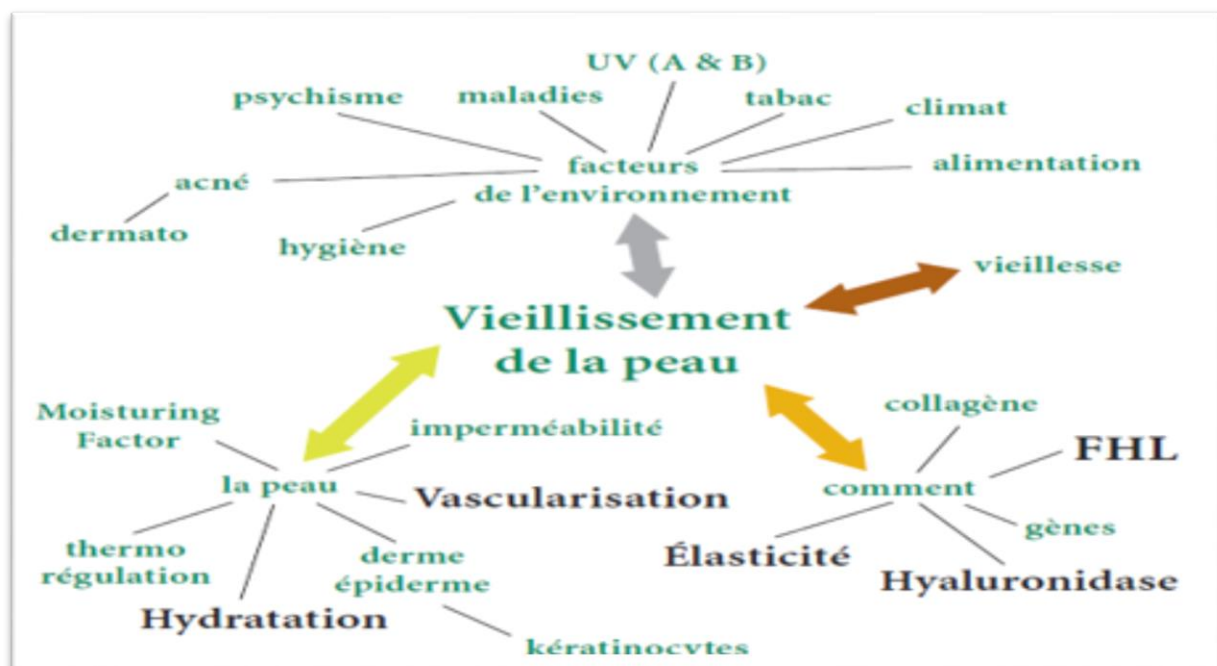


Figure I.3.2. Les divers facteurs responsables du vieillissement de la peau (Goetz, 2005)

I.3.6.1. Protection contre les dommages de l'UV :

Un grand nombre d'études décrivent les effets des extraits polyphénoliques sur les cellules humaines et les cellules irradiées par les UV. Le prétraitement des kératinocytes HaCaT avec

des polyphénols ou des extraits phénoliques conduit à une diminution de la formation de ERO intracellulaires, induite par les UVB ou le peroxyde d'hydrogène, et une prévention des dommages de l'ADN (**Cha et al., 2014**)

Le traitement des fibroblastes dermaux humains normaux (NHDF) avec un extrait de polyphénol avant irradiation par les UV a conduit à une régulation de la libération de MMP-1 et de MMP-3 induite par les UV et de l'expression génique de l'hyaluronidase 2 ; la viabilité de la NHDF a également été améliorée grâce à l'extrait (**Ruszova et al., 2013**)

I.3.6.2. Effet antityrosinase :

Parmi les avancées récentes de la recherche en dermocosmétologie, on compte les plantes qui ont un effet sur la tyrosinase. Cette enzyme, présente dans la peau humaine et dans les tissus végétaux, est responsable de la formation de taches brun rougeâtre sur la peau. Son inhibition unifie le teint. Les extraits de Rumex sont capables d'inhiber la tyrosinase.

D'autres substances ont des principes actifs antityrosinase. L'acide férulique est un antioxydant et un stimulant de la protection contre les UVB. L'arbutine est un inhibiteur compétitif de la tyrosinase aux propriétés éclaircissantes (**Goetz et Busser, 2007**).

L'extrait de murier blanc (*Morus alba*, variété japonaise) a des constituants essentiels qui sont des triterpénoïdes et des dérivés de phénylflavones. Il a un effet anti-inflammatoire et un effet inhibiteur de la tyrosinase (**Goetz et Busser, 2007**).

I.3.6.3. Activité anti collagénase et anti élastase :

Les extraits phénoliques inhibent l'activité des protéinases, qui catalysent la dégradation des protéines de la peau, telles que le collagène et l'élastine. Le collagène dans le derme est responsable de la fermeté et les fibres d'élastine donnent l'élasticité. Une formation excessive de ROS provoque l'expression de la collagénase (MMP-1) et de l'élastase, entraînant à une dégradation accélérée des protéines correspondantes (**Zillich et al., 2015**)

Thring et al. (2009) ont testé l'activité anti-collagénase, anti-élastase et antioxydante de 21 extraits de plantes et les ont mis en corrélation avec les contenu phénolique total. L'extrait de thé blanc a montré la plus haute activité inhibitrice.

I.3.6.4. Activité anti vieillissement (anti ride) :

L'efficacité clinique et cosmétique du ginkgo (*Ginkgo biloba*), d'un mélange de thé, de rooibos (*Camélia sinensis* et *Aspalathus linearis*) et de soja (*Glycine soja*) a été testé. La

formulation de ginkgo s'est révélée plus stable que les formules contenant le mélange de thé et rooibos et le soja. Les efficacités cliniques de la formule ginkgo et de la formule contenant le mélange de thé et rooibos ont été comparées après 28 jours d'application. La préparation ginkgo a augmenté l'hydratation cutanée de 27.88% et la douceur de la peau de 4.32%, tandis que la rugosité a été réduite de 0.4% ainsi que les rides de 4.63%. La formule contenant le mélange thé et rooibos a montré la meilleure efficacité sur la réduction de ride (9.9%). En comparaison la formule ginkgo a augmenté de façon significative, l'hydratation cutanée face à la formule contenant le mélange thé et rooibos. **(Chuarienthong et al., 2010)**.

Les polyphénols participent à la lutte contre le vieillissement cutané en tant que molécules anti radicalaires ou en tant que protecteurs de protéines de dégradation des protéines de structure de la peau comme l'élastine et le collagène **(Lahlah, 2008)**.

I.3.7. Effets sur les cheveux :

I.3.7.1. Effet anti pellicule :

Aujourd'hui, plus de la moitié des populations du monde souffrent de pellicules **(Sahraie-Rad et al., 2015)** Les pellicules se caractérisent par une hyperprolifération de l'épiderme du cuir chevelu accompagnée de démangeaisons et de rougeurs **(Chhavi et al., 2011)**. On pense que le mécanisme pelliculaire est le résultat de l'activité d'une enzyme appelée lipase. Le *Malassezia fungus* (cause des pellicules) utilise cette enzyme pour décomposer le sébum en acide oléique (acides gras libres pro-inflammatoires). **(Ravichandran et al., 2004)**.

En outre, cet acide gras pénètre dans la couche supérieure du cuir chevelu et provoque une inflammation et une desquamation accrue des cellules de la peau chez les personnes sensibles **(Ravichandran et al., 2004 ; Cornah et al., 1988)**.

Comme les thérapies actuelles ne peuvent pas éliminer complètement les pellicules, bien qu'ils aient de nombreux effets secondaires, les extraits de plantes médicinales ayant un grand impact comme antipelliculaire et anti-démangeaisons **(Sahraie-Rad et al., 2015)**.

Une étude a été menée par **Ravichandran et al. (2004)** sur 35 patients, diagnostiqués comme souffrant de pellicules de forme modérée à sévère, pour examiner un «shampooing antipelliculaire» qu'est une formulation polyherbal contenant des extraits de *Rosmarinus officinalis*, de *Vetiveria zizanioides*, de *Nigella sativa*, de *Santalum album*, de *Ficus bengalensis*, de *Citrus limon* et de l'huile de *Melaleuca leucodendron*. Cette étude avait pour but d'évaluer l'efficacité clinique du «shampooing antipelliculaire» dans la gestion des pellicules. Cette étude a montré une réduction significative des scores moyens des démangeaisons et des squames blanches des pellicules.

Autre étude a été menée par **Sahraie-Rad et al. (2014)**, dans cette étude, les extraits de *Punica granatum L*, *Rosmarinus officinalis L*, *Matricaria chamomilla L*, *Urtica dioica L*, *Mentha piperita L*, et *Salvia officinalis L*. avec du *Pirocton Olamine* et du Zinc-PCA ont été testés sur 30 patients avec des pellicules sur les cheveux dans sur une durée de deux mois. Les pellicules chroniques de 15 patients ont été fortement éliminées au cours de la deuxième semaine, 12 autres patients souffrant de pellicules ont été retirés après 28 jours, tandis que les patients restants ont exprimé leur satisfaction à la fin de la cinquième semaine.

Pour résumer, les extraits de plantes sont des composés qui améliorent l'effet antipelliculaire, anti-démangeaisons et des effets anti-inflammatoires (bloque les enzymes cyclooxygénases impliquées dans la synthèse des prostaglandines et inhibent la formation de leucotriènes pour prévenir les rougeurs) et inhibent probablement les effets secondaires indésirables des produits chimiques (**Sahraie-Rad et al., 2015**).

I.3.7.2. Effet anti-chute des cheveux :

L'alopecie androgénétique (AGA) et l'alopecie areata (AA) sont des formes communes de perte de cheveux. AGA est causée par l'augmentation de la sensibilité des follicules du cuir chevelu à la dihydrotestostérone (DHT), alors que AA est induit par une réaction auto-immune (**Meidan et Touitou, 2001**).

Différentes drogues synthétiques sont disponibles pour la perte de cheveux qui ne traitent pas la pathologie en permanence et présentent également plusieurs effets secondaires. Il y a des effets dermatologiques indésirables associés aux drogues synthétiques telles que la sécheresse, et démangeaisons du cuir chevelu, pellicules, irritation locale et dermatite (**Spindler, 1988**), donc la thérapie avec des drogues synthétiques sont devenues discutables en raison de son manque occasionnel d'efficacité, de sécurité et leurs effets indésirables potentiels. (**Hermanl et Andrzej, 2017**).

Il existe des herbes et leurs constituants actifs qui sont capables de bloquer l'action anti-croissance des cheveux, de DHT ou réduire la synthèse de DHT via l'inhibiteur de l'activité de 5 α -réductase. L'inhibition de l'activité de la 5 α -réductase est assurée par les flavonoïdes naturels (myricétine, quercétine, baicaléine, fisétine, biochanine, daidzéine, génistéine, kaempférol) et composés polyphénoliques (alizarine, anthrarobine, gossypol, acide nordihydroguaiarétique, ester phénylique de l'acide caféique, octates et gallates de dodécyle) (**Hiipakka et al., 2002**).

Asili et al., (2012) montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *Platycladus orientalis* riches en flavonoïdes et diterpènes ont montré un effet inhibiteur de la 5 α -réductase et

peuvent être utilisés dans le traitement des maladies comme l'hirsutisme et la calvitie androgène.

I.3.7.3. Effet sur -la croissance des cheveux :

La croissance des cheveux est contrôlée par un cycle répétitif unique composé de phases anagène, catagène et télogène (**Stenn et Paus, 2001**) Les cellules de la papille dermique (DPC), sont un groupe de fibroblastes spécialisés dans le bulbe du follicule pileux, avoir une fonction essentielle dans le contrôle de la croissance des cheveux non seulement dans le cycle normal des cheveux mais aussi dans le pathogénèse de certaines conditions, par exemple chez l'alopecie androgénétique (**Inui et al., 2003**).

Récemment, divers extraits de plantes ont été brevetés pour la croissance des cheveux ou des produits toniques pour les cheveux, et pour la prévention de l'alopecie. Les brevets prétendent que les effets sont dus à la stimulation du follicule pileux ou le métabolisme du cuir chevelu, peut-être dû à une accélération de la circulation sanguine, activation de la papille dermique, et nutrition accrue des follicules pileux par un flux sanguin accéléré, mais les mécanismes ne sont pas encore clairs (**Kwon et al., 2007**).

EGCG (epigallocatechin-3-gallate) extrait de thé vert a été rapporté avoir un effet stimulant sur la croissance des cellules normales (**Hsu et al., 2003**). L'EGCG favorise la survie des kératinocytes humains et inhibe l'apoptose induite par la lumière ultraviolette (**Chung et al., 2003**).

L'EGCG a induit la prolifération de DPC humains cultivés éventuellement par l'activation des voies Erk et Akt. Le rôle de la signalisation de voie Erk dans la mitogenèse et la croissance cellulaire ont été bien établis ; (**Robinson et Cobb, 1997 ; Xia et al., 1995**). c'est également possible que l'activation de la voie Akt par EGCG est impliquée dans la régulation de la survie des DPC (**Kwon et al., 2007**).

Récemment, il a été signalé que l'EGCG pourrait être utile pour la prévention ou le traitement de l'alopecie androgénétique en inhibant sélectivement l'activité de la 5 α -réductase ; (**Hiipakka et al., 2002**). Donc l'EGCG stimule la croissance des cheveux humains via ses effets prolifératif et anti-apoptotique sur les DPC et il peut aussi prolonger l'étape anagène (**Kwon et al., 2007**).

Il a été découvert que les proanthocyanidines extraites à partir de pépins de raisin favorisent la prolifération des cellules du follicule pileux in vitro et qu'ils possèdent une activité

remarquable de conversion du cycle des cheveux de la phase télogène à la phase anagène in vivo (**Takahashiet al., 1998**).

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est le thé vert (*Camellia sinensis*), que nous avons acheté chez un herboriste à l'Anasser wilaya de Bordj Bou Arreridj (BBA).



Feuille de Thé vert



Poudre de Thé vert

Figure .II.1: Le Thé vert (*Camellia sinensis*)

II.1.2. Microorganismes utilisés :

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai antibactérien sont des souches pathogènes :

Bactéries à Gram - : *Escherichia coli* et *Pseudomonas sp.*

Bactéries à Gram+ : *Staphylococcus aureus*.

Les champignons (pathogènes) utilisés sont : *fusarium oxysporum*, *aspergillus niger* et *alternaria sp.*

II.1.3. Produits chimiques et réactifs :

Les produits chimiques et les réactifs utilisés dans la présente étude sont d'ordre analytique, dont les principaux sont : l'éthanol, le méthanol, la quercétine, le chlorure d'aluminium (AlCl_3), l'éther de pétrole, l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle, le n-butanol, le DPPH, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , le NaCl, le DMF, le milieu PDA et la gélose nutritive.

Nous décrivons dans ce qui suit l'utilisation et le rôle de chaque produit dans la présente étude

II.2.Méthodes :

II.2.1. Préparation de la poudre végétale :

Les feuilles de thé vert ont été broyées à l'aide d'un mixeur électrique et tamisées afin d'obtenir une poudre homogène avec une granulométrie la plus faible possible. Cette poudre est ensuite conservée dans un bocal en verre fermé.

II.2.2.Extraction au méthanol des composés phénoliques :

L'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de thé vert, a été réalisée par macération au méthanol à 50% selon la procédure décrite par **Tawaha et al., (2007)**. La méthode d'extraction est illustrée dans le diagramme suivant :

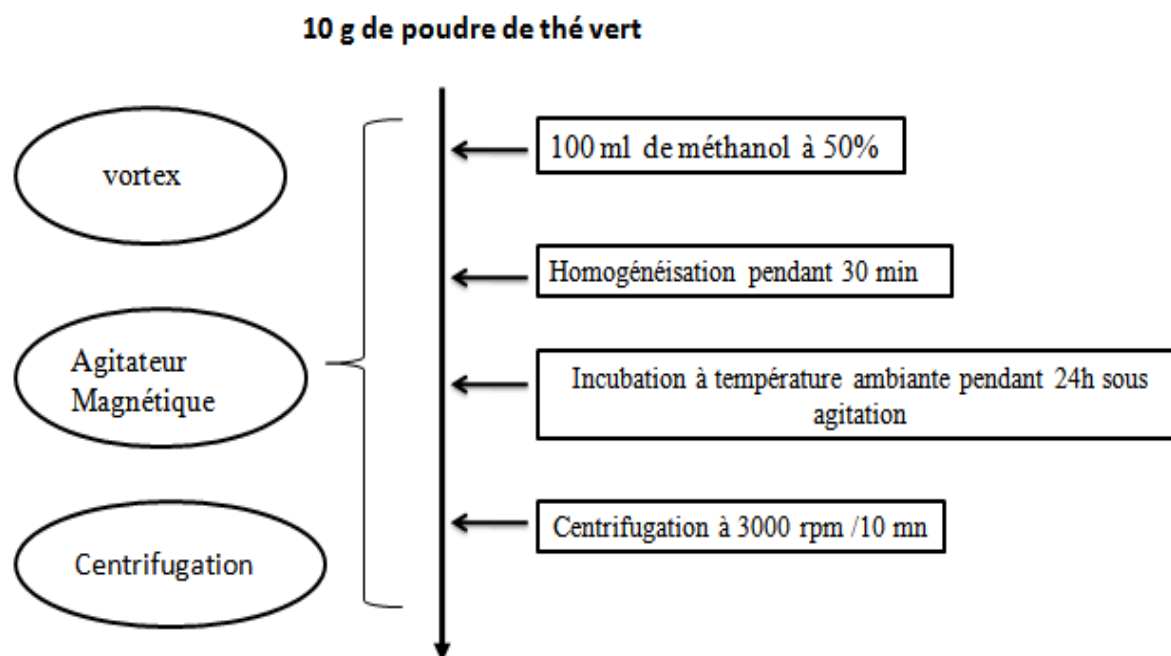


Figure II.2 : Protocole d'extraction des composés phénoliques (**Tawaha et al ., 2007**).

II.2.3. Dosage des flavonoïdes :

La détermination quantitative des flavonoïdes telle que de l'extrait méthanolique du thé vert a été réalisée par une méthode colorimétrique décrite par **Dejdanne et al. (2006)**. La méthode colorimétrique de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), qui donne à la solution une coloration jaunâtre dont l'absorption maximale est à une longueur d'onde de 448 nm, contre un témoin préparé dans les mêmes conditions et ne contenant pas l'extrait de thé vert. Le protocole de dosage est présenté dans le diagramme suivant :

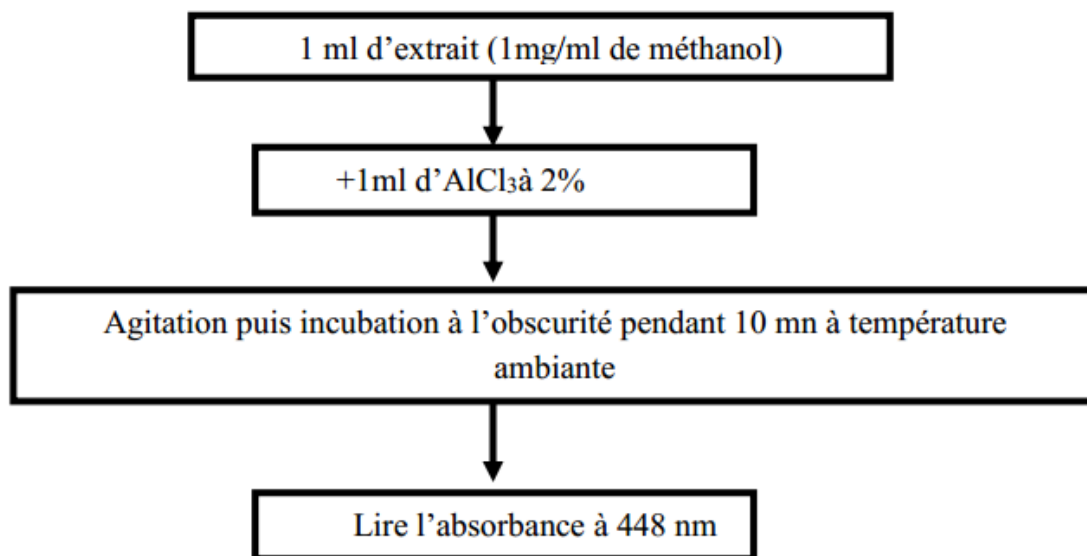


Figure.II. 03 : Protocol de dosage des flavonoïdes (Dejdanne et al ., 2006).

La concentration des flavonoïdes présents dans l'extrait est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage, établie dans les mêmes conditions avec la quercétine et est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de matière végétale).

II.2.4.Extraction des flavonoïdes par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide) :

-Macération au méthanol aqueux.

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs. Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Hamia et al. (2014)**. 10g de matière végétale ont été mis en contact direct avec le méthanol à 70% (v/v) à une température ambiante pendant 24 heures, ensuite l'extrait brute obtenu est filtré à l'aide de papier Wathman. Cette procédure a été répétée trois fois afin d'atteindre un meilleur rendement d'extraction. Les macéras hydro-alcooliques de 3 jours sont ensuite placés dans le même récipient, et la solution ainsi obtenue a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

- Traitement par l'éther de pétrole :

Avant l'extraction des différents flavonoïdes, la phase aqueuse obtenue après évaporation a été débarrassées des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (**Kebièche et al., 2011; Rihane et Benlahreche, 2013**) (l'éther de pétrole

permet de séparer les composé apolaires : les caroténoïdes, les pigments chlorophylliens et les graisses).

Le protocole de cette phase d'extraction est le suivant :

Ajouter volume (1/3) d'éther de pétrole au volume de la phase aqueuse obtenue (v/v) ; ensuite le mélange a été bien agité et laisser reposer aux moins 20minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther de pétrole (phase supérieur) et une phase aqueuse (phase inférieur) ; La phase organique obtenue a été récupéré dans un récipient en verre, et répéter la procédure trois fois ; ensuite 50 ml de la phase aqueuse obtenue sont placée dans une ampoule à décanter afin de lui faire subir un traitement par des solvants de polarité croissante (éther d'éthylque, acétate d'éthyle et n-butanol).

-Traitement par l'éther diéthylique

Cette phase a été réalisée avec l'éther diéthylique qui permet d'extraire les aglycones. Le mode opératoire de cette phase est décrit comme suit : (**Rihane et Benlahreche, 2013**)

50 ml de la phase aqueuse (v/v) a été ajouté aux 1/3 ml d'éther diéthylique ; ensuite le mélange a été bien agité et laisser reposer au moins 20 minute jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther diéthylique (phase inférieur) et une phase aqueuse (phase supérieur) ; cette procédure a été répétée trois fois et la phase organique ainsi obtenue a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

- Traitement par l'acétate d'éthyle

Cette phase a été réalisée par l'acétate d'éthyle, dont le protocole est identique au précédent.. Dans ce cas, la phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase éther diéthylique et la phase organique obtenue à la fin de cette phase a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif ($T^{\circ}= 50^{\circ}\text{C}$). Nous rappelons que cette phase permet d'extraire les monoglycosides et partiellement les diglycosides.

- Traitement par le n-butanol

De même, le traitement par le n-butanol a été effectué selon le même protocole précédent. La phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase d'acétate d'éthyle et la phase organique a été évaporé également au rotavapeur ($T^{\circ}=50^{\circ}\text{C}$). Cette phase permet d'extraire le reste de di-glycoside et le tri-glycoside.

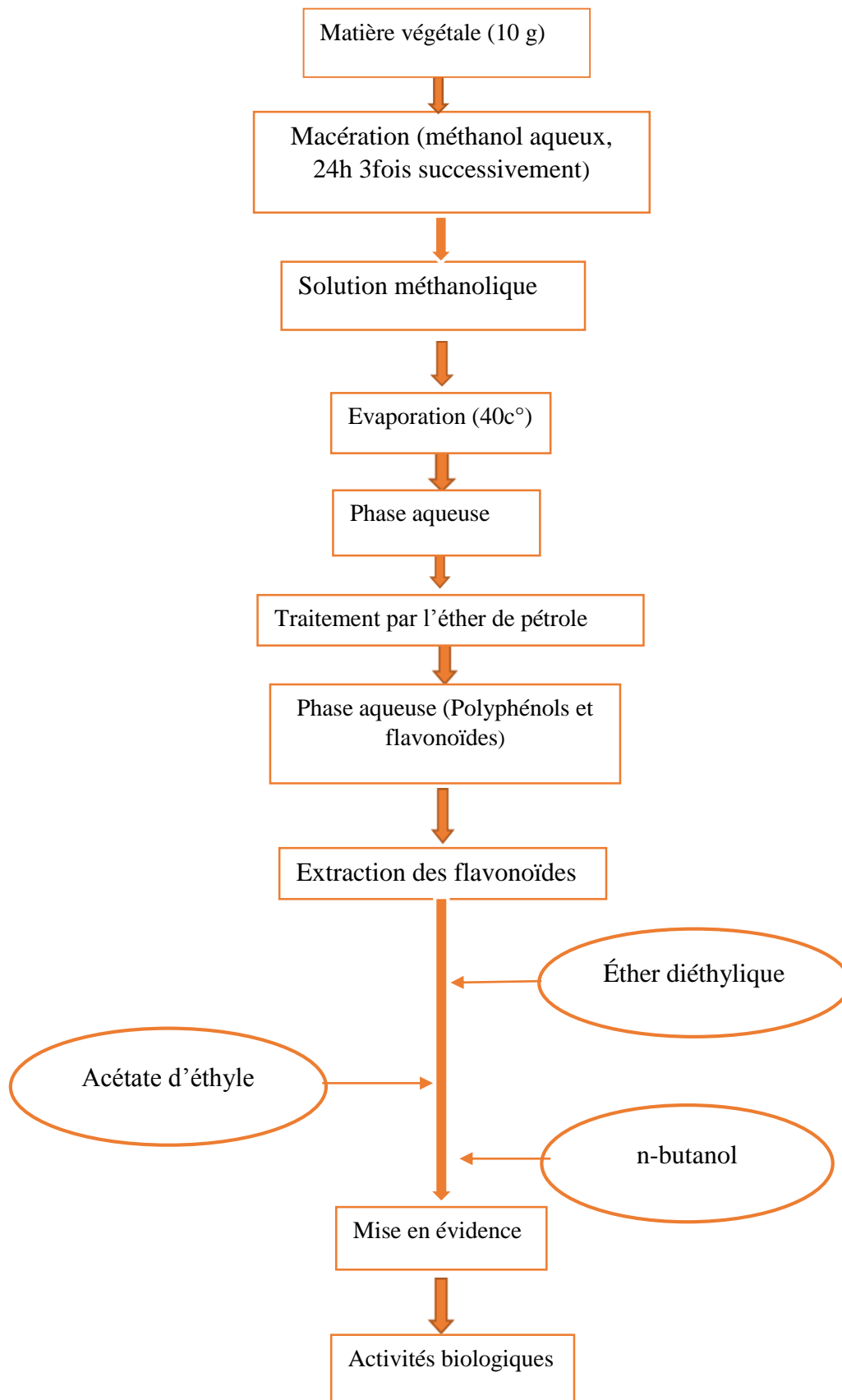


Figure .II.4: Etapes d'extraction des flavonoïdes (Rihane et Benlahreche, 2013)

II.2.5. Activités biologiques

II.2.5.1. Activité anti hémolytique

II.2.5.1.1. Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais ont été récupérés dans des tubes héparini, à partir du laboratoire d'analyses médicales du centre polyclinique de la région de Medjana, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

II.2.5.1.2. Préparation des globules rouges

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min. Le surnageant est, par la suite éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10 % (v/v) de hématocytes humains, avec de l'eau physiologique.

II.2.5.1.3. Evaluation de la toxicité de l'extrait de thé vert vis-à-vis des globules rouges

Avant d'entreprendre le test de l'activité anti-hémolytique de l'extrait du thé vert, un test de toxicité est nécessaire, afin de déterminer les concentrations à utiliser. En effet, 1.6 mL de différentes concentrations d'extrait à tester, ainsi que la quercétine, prise comme molécule de référence (**Romani et al ., 2002**), ont été mélangés avec 0.4 mL de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 min, puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été effectuée à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 0.4 mL de la suspension de globules rouges et 1.6 mL d'eau physiologique ou de l'eau distillée à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'hémolyse} = ((A_c - A_t) / A_c) * 100 \text{ (Shobana et Vidhya, 2016).}$$

At : absorbance de l'échantillon du test Ac : absorbance de control (100 % d'hémolyse)

II.2.5.1.4. Evaluation de l'effet de thé vert sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test se base sur l'effet des extraits de la plante étudiée sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de (**GaneshGadamsetty et al., 2013**).

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 mL d'extrait de thé vert, 1.5 mL du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 mL de la solution hyposaline ont été mélangés et incubés à 37 °C pendant 20 min. Par la suite, un volume de 0.5 mL de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté pour chaque tube, suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. Ensuite centrifugés à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre dont le contrôle consiste en un mélange de 2 ml de la solution hyposaline, 2 ml du tampon PBS, 0.5 mL de la suspension de globules rouges et 0.5 ml d'eau physiologique. Le diclofenac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = 1 - [(At - Ac) / At] * 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test)

II.2.5.2. Activité anti-oxydante

Test au DPPH:

Principe :

Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

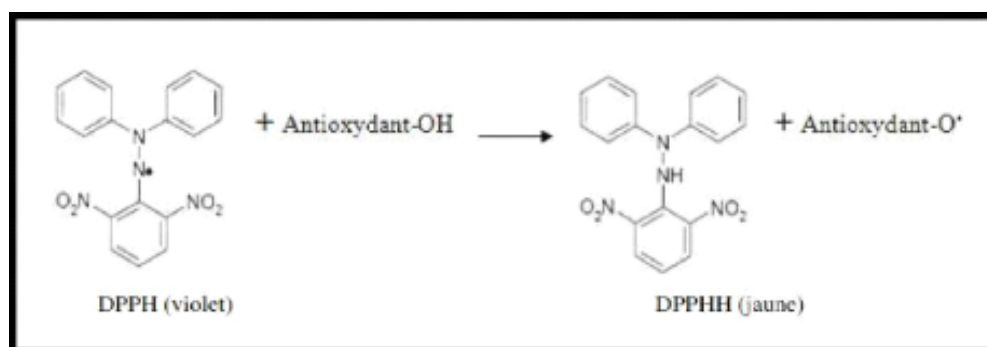


Figure II.5 : Réaction de test DPPH (2,2 Diphényl 1 picrylhydrazyl) (**Congo, 2012**).

Une solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 25 µL d'extraits est ajoutée à 975 µL de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : Absorbance de contrôle.

At : Absorbance de l'extrait testé.

La valeur EC50 (aussi appelée IC 50) définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (Congo, 2012) a été ensuite déterminée.

II.2.5.3. Activité anti microbienne

Afin d'évaluer l'activité microbienne de l'extrait du thé vert, plusieurs souches fongiques et bactériennes ont été testées, dont les principales sont :

-Les souches fongiques : *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* et *Alternaria sp*

-Les souches bactériennes :

Bactéries à Gram - : *Escherichia coli* et *Pseudomonas sp*.

Bactéries à Gram+ : *Staphylococcus aureus*.

Le milieu de culture utilisé pour l'évaluation de l'activité anti fongique d'extraits de thé vert est la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA), tandis que Le milieu de culture utilisé pour l'évaluation de l'activité anti bactérienne est la gélose nutritive.

La technique des puits utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

Selon le protocole décrit par Yollande (2009), des boîtes de Pétri contenant du PDA (pour les champignons) et la gélose nutritive (pour les bactéries) sontensemencées aseptiquement par une suspension qui provient d'une culture jeune de champignons ou de bactéries respectivement. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution contenant l'extrait de thé à des concentrations

différentes (environ 40 µL par puits). Des essais témoins sont effectués in vitro avec le DMF pure vis-à-vis de chaque type de souche microbienne.

Les boîtes sont ensuite mises en incubation dans une étuve à 28°C pendant 72h pour les champignons, et à 37°C pendant 24h pour les bactéries. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm

II.2.6. Préparation de shampooing :

Le shampooing utilisé dans la présente étude a été fourni par un fabricant local en état semi-fini, auquel nous avons rajouté l'extrait du thé vert et le sel de table afin d'obtenir le produit désiré, dont le sel joue le rôle de correcteur de viscosité.

La concentration de l'extrait dans la formulation du shampooing a été fixée à 0,3%. Le choix de ce pourcentage est basé sur les travaux de **Bentabet (2005)** qui a montré que à cette concentration, un shampooing à base de flavonoïdes permet d'atteindre une bonne activité anti chute, anti pellicules et démangeaisons ...etc.

Les essais du shampooing à base d'extrait de flavonoïdes du thé vert et un shampooing témoin ont été effectués sur 20 personnes volontaires ayant des problèmes de santé des cheveux, sur un délai de deux semaines.

Les personnes ayant testé le shampooing ont été divisé en 02 lots :

Lot 01 : les personnes choisies souffrent de problèmes de pellicules et de démangeaison

Lot 02 : les éléments de ce lot souffrent de problème de chute de cheveux.

Résultats et discussion

III. Résultats et Discussion

III.1. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) en utilisant comme standard la quercétine, Une coloration jaunâtre a été obtenue dont l'intensité est proportionnelles à la concentration de l'extrait de la plante ce qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'extrait du thé vert.

La teneur en flavonoïdes correspondantes dans l'extrait a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de différentes concentrations de la quercétine, exprimée en milligrammes d'équivalent quercétines par gramme de matière végétale (**figure.III.01**)

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait de thé vert est : 2,18mg EQ /g de matière végétale.

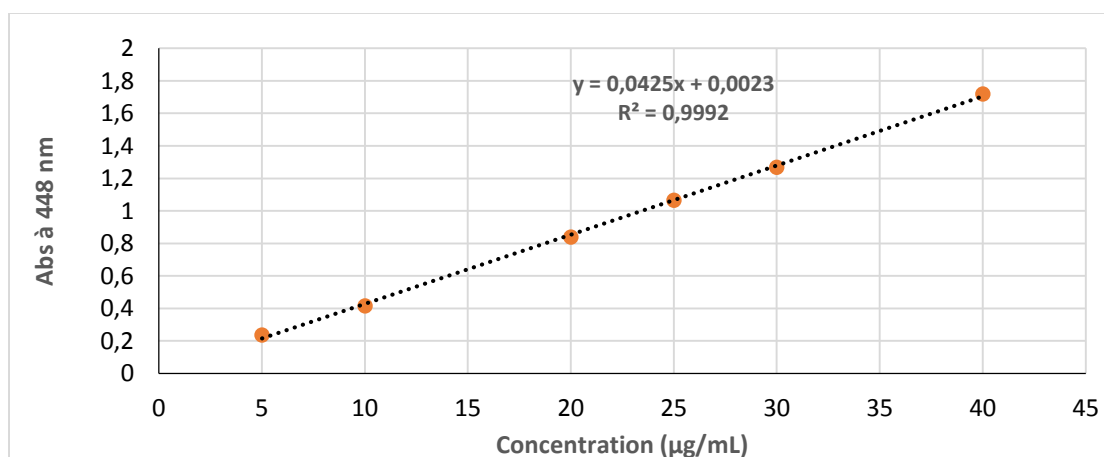


Figure.III.1 : Courbe étalon préparée avec la quercétine

Les résultats obtenus montrent que le thé vert est très riche en flavonoïdes

Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Ceyhun et al., (2017)** avec une valeur de 0.305mg EQ/ g MSet nettement inférieurs à ceux trouvés par d'autres auteurs (**Nor et al., 2013 ; Reza A et al., 2015**) avec des valeurs respectives de 20,90 mg EQ/ g MS et 5.28mg EQ/ g MS. En effet, ces chercheurs ont utilisé un procédé extractif différent de celui utilisé dans le présent travail

Les études suggèrent que l'origine géographique, la composition du sol, les différences dans la composition des différentes feuilles, le moment de la récolte, les traitements post-récolte, et la structure physique des différentes feuilles influencent probablement la composition du thé en flavonoïdes. Contribuant également à cette variabilité, la sensibilité des composés du thé à extraire aux différents solvants d'extraction (**Lin, Y et al., 2003**).

III.2. Activité anti hémolytique :

III.2.1. Evaluation de la toxicité de l'extrait du thé vert vis-à-vis des globules rouges :

Camellia sinensis, comme toutes les plantes utilisées à des fins thérapeutiques, peuvent à fortes doses présenter une menace pour la santé de l'homme. Pour déterminer ces doses, un test de cytotoxicité a été réalisé sur les globules rouges humains.

Les résultats du test de cytotoxicité présentant les concentrations en hémoglobine libérée en fonction des concentrations de quercétine et de l'extrait du thé vert sont illustrés dans les Figures 2 et 3.

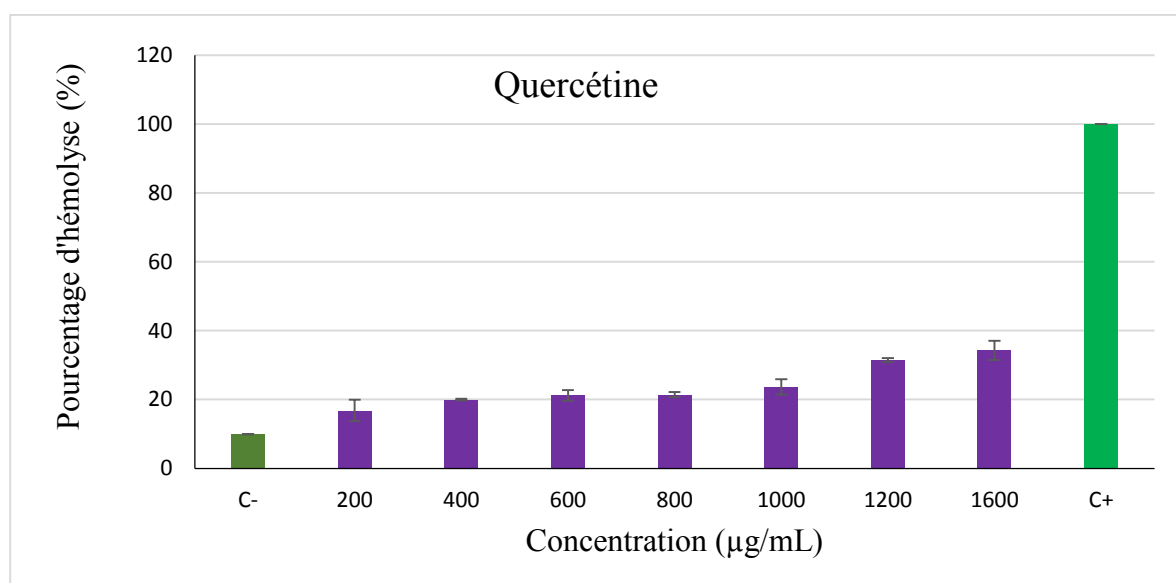


Figure III.2 : Effet de la concentration en quercétine sur l'hémolyse des globules rouges (±T, représentent l'écart type d'un essai en triplicata)

Ces résultats révèlent que le traitement des globules rouges par des concentrations croissantes en quercétine s'accompagne par l'augmentation de la concentration en hémoglobine dans le milieu extracellulaire.

A de faibles concentrations (200 µg/mL), cette molécule de référence présente un taux faible en hémoglobine. Cette dernière augmente avec l'augmentation de la concentration en quercétine ce qui signifierait une hémolyse importante. Cependant, d'après une étude réalisée récemment une nouvelle approche a été proposée pour l'évaluation du test

d'hémolyse, ce test est basé sur la mesure simultanée de la turbidité cellulaire et la concentration en hémoglobine libérée correspondante. Il a été démontré qu'une forte concentration en hémoglobine n'est pas forcément liée à une hémolyse importante mais plutôt à un effet protecteur contre la dégradation de l'hémoglobine (Bellik et Iguer-Ouada, 2016). Comme nous pouvons le constater sur la figure 2 la quercétine exerce un effet protecteur dose-dépendant.

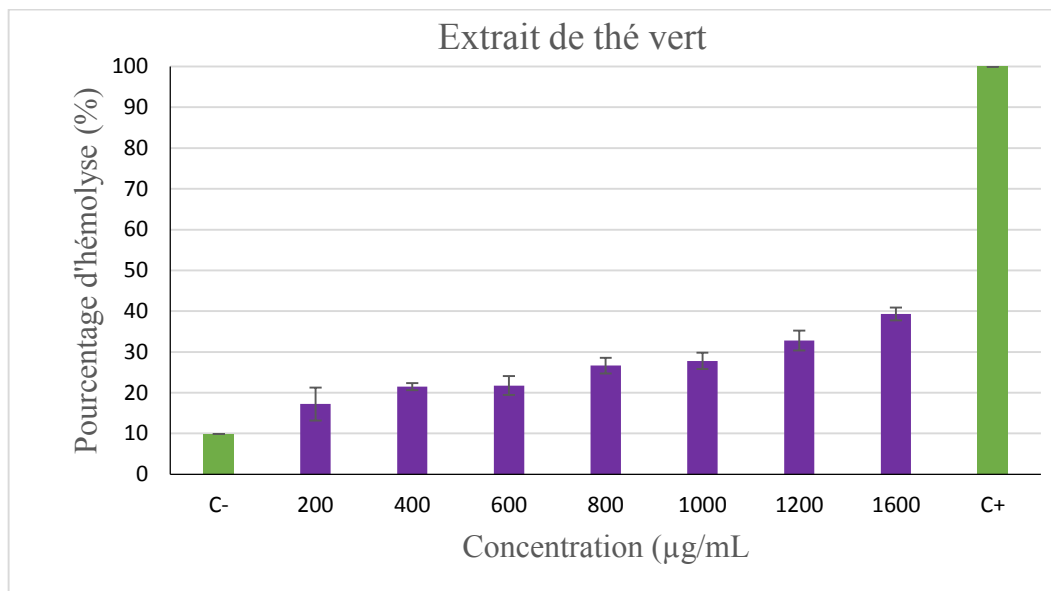


Figure III.3 : Effet de la concentration de l'extrait des flavonoïdes du thé vert sur l'hémolyse des globules rouges (±T, représentent l'écart type d'un essai en triplicata).

De même, les taux d'hémoglobine en présence de l'extrait du thé vert augmentent avec l'augmentation de la concentration étudiée.

III.2.2. Evaluation de l'effet d'extrait de thé vert sur la stabilisation de la membrane des globules rouges :

Les concentrations minimales de l'extrait du thé vert, ayant montré un faible effet hémolytique, ont été testées pour leur efficacité anti-inflammatoire via le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains.

Les résultats sont représentés dans les Figures 4 et 5 :

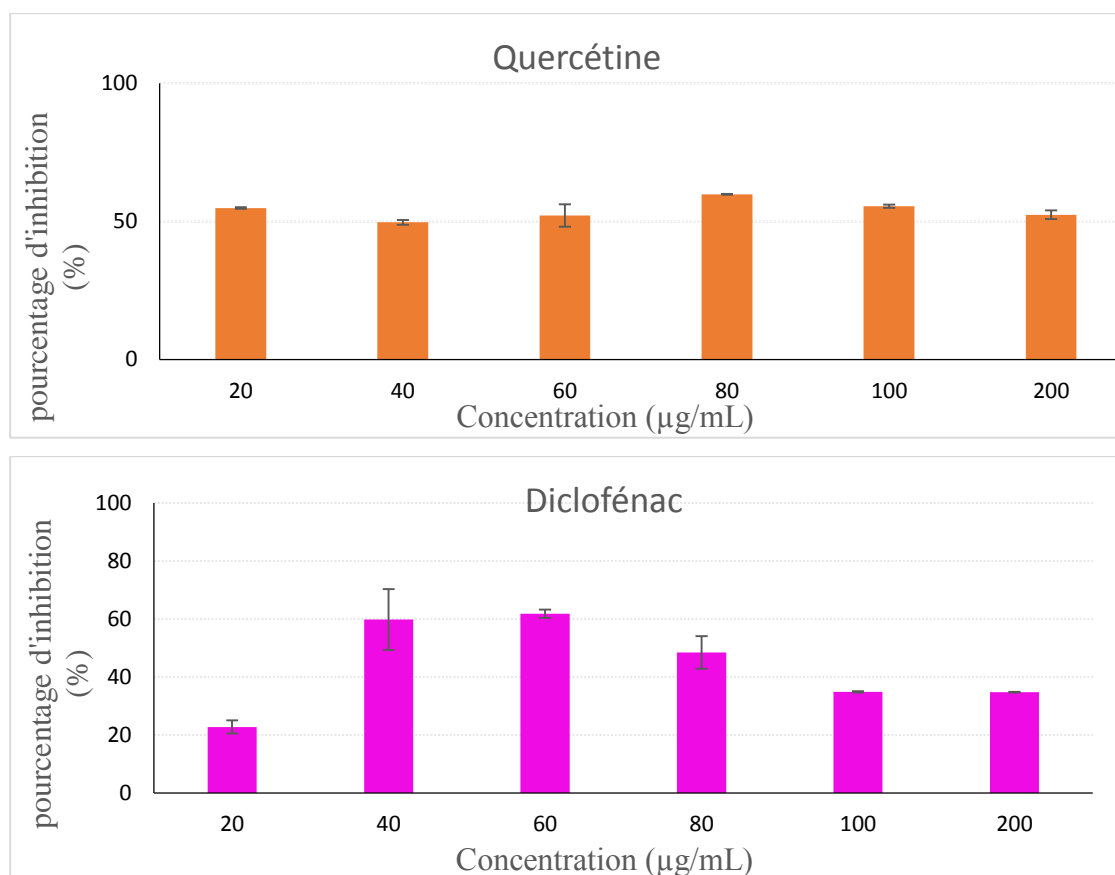


Figure III. 4 : Effet de de la concentration en quercétine et en diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges ($\pm T$, représentent l'écart type d'un essai en triplicata)

Les érythrocytes traités avec les différentes concentrations de quercétine présentent presque le même effet anti-hémolytique obtenu précédemment. Les érythrocytes traités avec 20, 40 et 60 µg/ml de diclofénac ont montré un effet anti-hémolytique croissant de $22.76 \pm 2,25\%$, $59.84 \pm 10,49\%$ et $61.8 \pm 1,42\%$ respectivement, tandis que l'augmentation de la concentration du diclofénac au-delà de 60µg/ml provoque un effet hémolytique prononcé.

D'autre part, les résultats de l'effet protecteur de l'extrait du thé vert, contre l'hémolyse des globules rouges, provoqué par hypotonie et chaleur ont révélés une diminution des pourcentages d'inhibition, en fonction des concentrations d'extrait avec un effet maximal de $54 \pm 3,24\%$ à 20 µg/ml (Figure 5). Toutefois, l'étude de l'activité hémolytique de l'extrait du thé vert à différentes concentrations a montré un effet hémolytique notamment à fortes doses. L'effet peut être expliqué par le fait que les flavonoïdes s'auto-oxydent facilement en radical hydroxyle et en radical semiquinone, qui sont des espèces toxiques et se lieraient de manière irréversible à divers constituants cellulaires, et donc ils peuvent endommager la membrane plasmique des globules rouges et détériorer sa structure (Tiraviam et al., 2015).

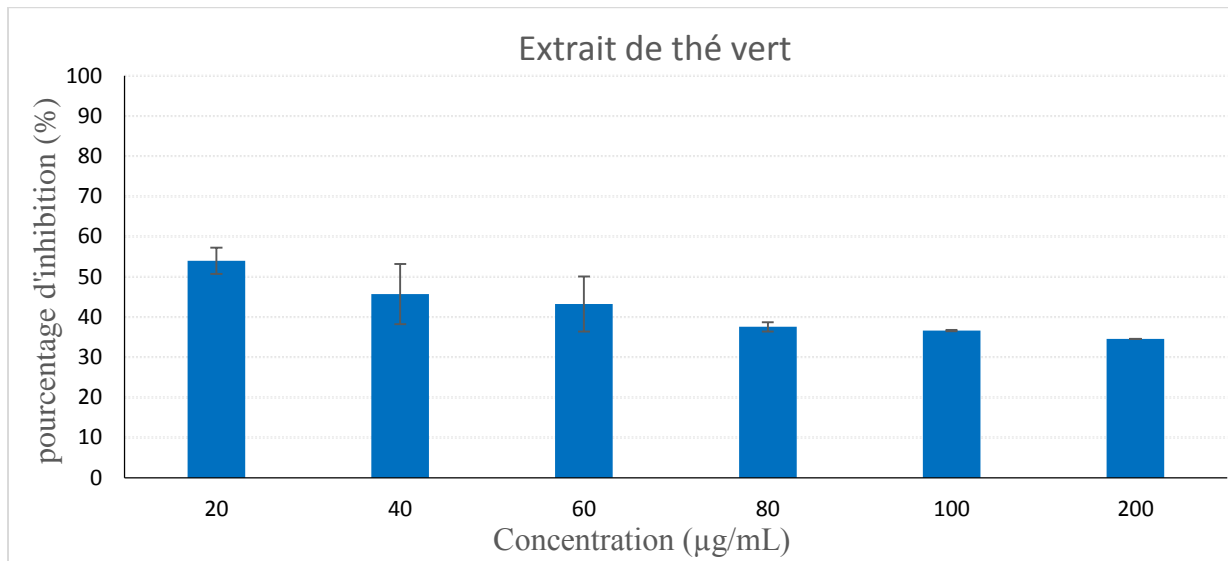


Figure III.5 : Effet de la concentration de l'extrait du thé vert sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie et chaleur, en fonction des concentrations (LT, représentent l'écart type d'un essai en triplicata).

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus avec l'extrait de thé vert et deux autres molécules de référence (diclofinac, quercétine) nous avons regroupé les résultats sur un même graphique (**figure III .6**)

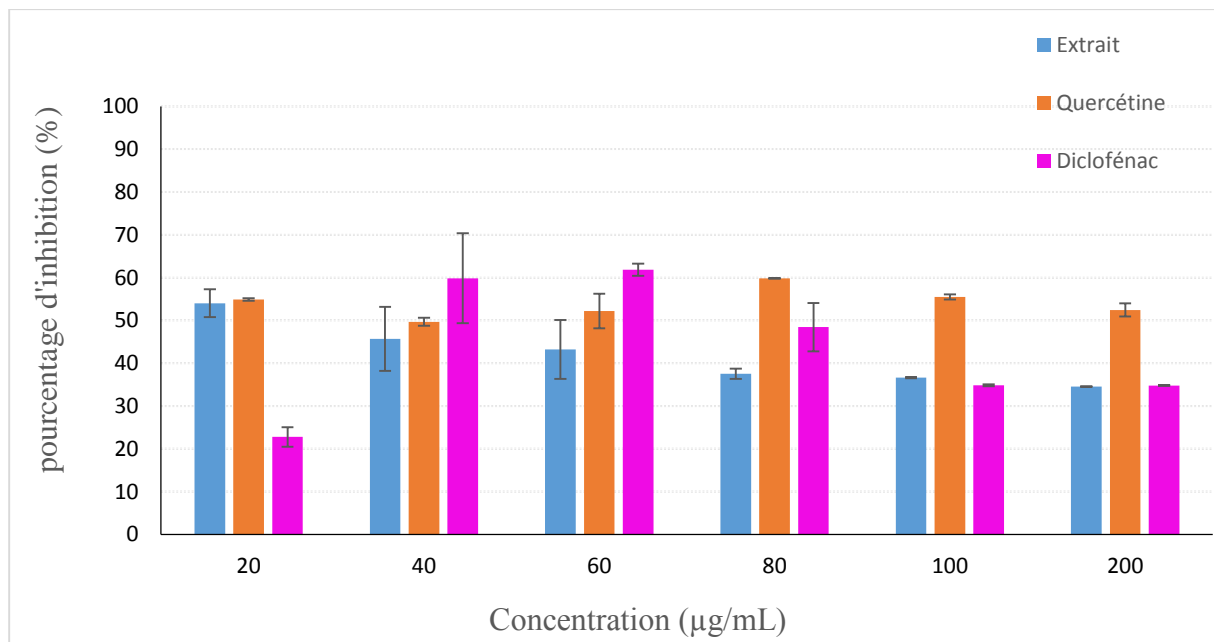


Figure III.6 : Effet de l'extrait de thé vert, de la quercitine et le diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie et chaleur en fonction des concentrations.

L'effet inhibiteur de l'extrait et de la quercétine sur les globules rouges est similaire quel que soit la concentration appliquée, tandis que l'effet protecteur de l'extrait du thé vert diminue avec l'augmentation de la concentration appliquée, avec un optimum à des concentrations avoisinant 20µg/ml. Ces résultats confirment l'effet anti-hémolytique des flavonoïdes extrait de thé vert. De même, le diclofénac exerce une activité anti-hémolytique à des faibles concentrations avec un optimum qui se situe entre 40 et 60 µg/ml.

L'exposition des érythrocytes aux substances nuisibles, comme le milieu hypotonique aboutit à la lyse de sa membrane accompagnée par l'hémolyse et l'oxydation d'hémoglobine.

Dans une solution hypotonique, l'afflux d'eau est plus grand que la fuite, ainsi l'eau pénètre dans l'hématie (selon son gradient de concentration), qui se gonfle et devient sphérique. La membrane cellulaire est relativement inélastique et rompt après seulement une augmentation de volume très légère, l'hématie subit ainsi l'hémolyse, qui provoque l'ouverture des pores membranaires dénommés pores d'hémolyse laissant la membrane cellulaire (le fantôme) vide (**Kalavani et al., 2016**).

Le maintien de la forme de disque biconcave des globules rouges est important pour leur fonction. D'après **Tiraviam et al., 2015**, les érythrocytes exposés à des températures élevées, se divisent progressivement et changent leur morphologie pour devenir sphériques. Sous ces conditions, les hématies perdent leur capacité à résister à l'hémolyse en perturbant leurs membranes plasmiques

Le diclofénac, anti-inflammatoire non stéroïdien, a été aussi testée. Ce médicament possède des propriétés analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Cette dernière est liée à son inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxane, en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2) provoquant ainsi l'altération de la fonction des plaquettes, en inhibant leur agrégation (**Ahmad et al., 2013**).

En parallèle, la quercétine a aussi fait l'objet de ce test anti-hémolytique, où l'activité s'est avéré très élevée, et supérieur même au médicament de synthèses : à savoir le diclofénac.

La richesse de l'extrait du thé vert en flavonoïdes a considérablement contribué à l'effet anti-inflammatoire observé durant la présente étude.

Plusieurs recherches ont rapporté l'effet de quelques molécules appartenant à la famille des flavonoïdes, sur l'inhibition de la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (LOX) par la quercétine et la myricétine. En effet, l'inhibition de TNF- α et de NF- κ B (luteolin), l'inhibition

de la réaction inflammatoire par le contrôle de la MAP kinase et/ou COX-2, l'inhibition de l'activation de NF- κ B et l'expression d'iNOS ainsi que la production des NO ont également été étudiées (Xagorari et al., 2001 ; Hämäläinen et al., 2007 ; Hwang et al., 2009).

Une étude réalisée par Moreira et al. (2011), a rapporté que les flavonoïdes préviennent des dommages oxydatifs causés dans les érythrocytes, et cette protection peut être due à la chélation du fer dans la cellule.

Les flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydante grâce à leurs groupements hydroxyles fortement réactifs. Ils exercent cette activité en provoquant l'arrêt de l'augmentation de la micro viscosité des membranes des érythrocytes, induite par la peroxydation lipidique (Ghedira, 2005).

III.3. Activité anti-oxydante :

L'étude de l'activité scavenging du radical DPPH selon le protocole de (Congo, 2012), nous a fourni les résultats illustrés dans la figure suivante (figure III.7) :

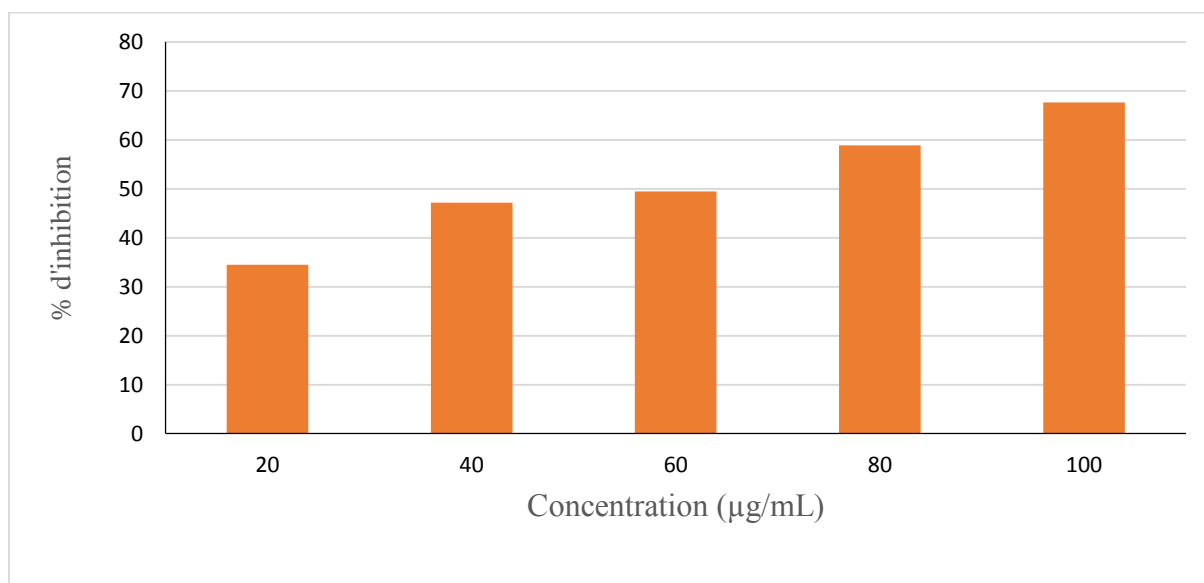


Figure.III.7 : Evolution de l'activité scavenging du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait des feuilles de thé vert.

A partir de cette figure, nous constatons que l'extrait des feuilles de thé vert a montré une forte activité scavenging du radical DPPH, allant de 34,49% à 67,60% pour des concentrations de 20 à 100 µg/ml respectivement.

La valeur d'IC₅₀ calculée de l'extrait de thé est de 54 µg/ml. Comparativement aux travaux de Tariq et al. (2013) et Khalaf et al. (2008), les valeurs de l'IC₅₀ étaient de 70,25 µg/ml et 6,7

$\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces différences peuvent être dues aux différentes teneurs en flavonoïdes dans les plantes de thé vert utilisées, qui sont à leur tour influencés par le degré de fermentation et la période de récolte, la composition du sol et les différences dans la composition des feuilles.

L'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes ou bien par leurs propriétés chélatrices des ions métalliques (Lee et al., 2007).

III.4. Activité anti microbienne :

III.4.1. Activité anti fongique :

L'activité antifongique in vitro d'extrait de thé vert a été étudiée par la méthode de diffusion sur puits.

Nous avons dissous l'extrait de la plante dans du DMF pour obtenir une concentration de 50 mg/ml, à partir de cette concentration nous avons fait des dilutions de façon à obtenir les concentrations suivantes : 21,37 mg/ml, 18,75 mg/ml et 9,37 mg/ml.

Après une incubation de 72H à 28C°, les résultats de l'activité antifongique montrent que l'extrait de thé vert a un effet inhibiteur contre les souches fongiques utilisées.



Aspergillus niger

Alternaria sp

fusarium oxysporum

Figure.III.8 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait de thé vert.

Tableau.III.1 : diamètre des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait du thé vert.

Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
Concentration (mg/ml) Champignons	9,37	18,75	21,89
<i>Aspergillus niger</i>	21	22,5	24
<i>Fusarium oxysporum</i>	18	18	20
<i>Alternaria sp</i>	15,5	20,5	22

Les résultats présentés dans les tableaux et les photos ci-dessus montrent que :

les souches fongiques étaient sensibles à l'extrait issu des feuilles de *camellia sinensis*, qui a un potentiel antifongique très important pour les 3 souches. La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration de l'extrait pour les 3 souches, *Aspergillus niger*, *fusarium oxysporum* et *alternaria sp* respectivement, avec des zones d'inhibitions oscillant entre 15,5 et 24 mm.

Cette plante pourrait être exploitée comme une source d'agents antifongiques naturels et offre un effet alternatif de lutte biologique contre les infections fongiques des plantes.

Les résultats de (Ertürk, 2006), ont démontré des zones d'inhibition de 14 à 15 mm d'extrait des flavonoïdes vis-à-vis d'*Aspergillus niger*. Ce qui indique que l'activité antifongique de notre extrait est attribuée aux flavonoïdes.

L'EGCG et le théaflavine: extrait de thé ont montré des activités fongicides variables en fonction du temps et de la concentration, contre plusieurs champignons (Okubo et al., 2001)

Les mécanismes d'actions des flavonoïdes qui sont classés comme des molécules antifongiques peuvent être due à l'inhibition de la synthèse de l'acide nucléique ou l'inhibition du métabolisme énergétique (Cushnieet al., 1999).

III.4.2. Activité anti bactérienne :

L'activité anti bactérienne c'est la capacité des extraits de neutraliser les développements des bactéries dans un milieu de culture.

L'extrait du thé vert obtenu a été dissous dans du DMF de façon à obtenir une concentration de 50 mg /ml, à partir de cette concentration nous avons effectué une série de dilutions afin d'obtenir les concentrations suivantes : 21,87 mg/ml, 18,75mg /ml et 9,37mg/ml.

Après une incubation de 24h à 37C°, les résultats ont montré que l'extrait exerce un effet inhibiteur contre les souches utilisées

Les résultats présentés dans le tableau .III.2 et la figure ci-dessous montrent que la sensibilité des souches bactériennes est variée d'une concentration à une autre et les proportions des diamètres d'inhibitions oscillent entre 12 et 17,5mm.



Figure III.9 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance des bactéries induites par l'extrait du thé vert

Tableau III.2 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance des bactéries induites par l'extrait du thé vert.

Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
Concentration (mg/ml)	9,37	18,75	21,89
Bactéries			
<i>E. Coli</i>	12	12	17
<i>Pseudomonas sp</i>	12	13.5	14.5
<i>S. aureus</i>	14,5	17,5	17,5

D'après les résultats obtenus dans cette étude, la plante étudiée présente un effet inhibiteur vis-à-vis les 3 souches bactériennes : *S. aureus*, *E. Coli* et *Pseudomonas sp* respectivement.

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration de l'extrait pour les 3 souches, ce qui a été constaté aussi par **Dordevic et al. (2007)**.

Isogai et al. (1998) ont montré que l'extrait de flavonoïdes du thé vert protège les souris contre les effets neurologiques et les symptômes systémiques causés par une infection à *E. coli*.

L'ECGC et digallate de théaflavine extrait de thé, ont également inhibé la croissance de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (**Toda et al., 1991**).

La sensibilité des bactéries aux extraits peut s'expliquer par le fait que les flavonoïdes de la plante exercent une inhibition de la croissance via plusieurs mécanismes: inhibition de la biosynthèse des protéines et des phospholipides membranaire, ainsi que l'inhibition de leurs acides nucléiques (**Hassan et al., 2006**).

L'activité des agents antimicrobiens sur les bactéries gram positif peut s'expliquer par l'accessibilité directe de ces molécules aux peptidoglycanes constituant la paroi, provoquant ainsi la dissolution complète de cette dernière. Les bactéries perdent alors leur rigidité et se lysent sous l'effet de leur pression osmotique interne qui rompt leur membrane cytoplasmique (Bousseboua, 2001).

Un exemple de l'influence des facteurs de l'environnement sur la composition du thé et les activités antimicrobiennes, Chou et al. (2003) ont observé que l'activité antibactérienne des thés contre, *E. coli*, *Pseudomonas*, et *Staphylococcus aureus* sont influencés à la fois par la saison de récolte et par l'ampleur de la fermentation post-récolte dans l'ordre suivant: thé vert > thé oolong > thé noir. Les extraits des feuilles de thé oolong préparées en été présentaient la plus forte activité, suivi des extraits préparés au printemps, en hiver ou en automne. Ces auteurs suggèrent que l'activité antibactérienne des thés est liée aux niveaux de flavonoïdes, qui sont à leur tour influencés par le degré de fermentation et le temps de récolte.

III.4.3. Effet de l'extrait du thé vert sur les performances d'un shampoing :

Tableau.III.3. Effet de l'extrait du thé vert sur les performances d'un shampoing

LOT	Nombre de personnes ayant testé le produit	Problème visé	Niveau de satisfaction (Shampoing à base d'extrait de flavonoïdes)	Shampoing témoin	% de satisfaction
LOT 01	5	<ul style="list-style-type: none"> • Pellicule • Démangeaisons 	Oui, bien	Aucun effet	33 %
	10	<ul style="list-style-type: none"> • Pellicule • Démangeaisons 	Oui, moyenne	Aucun effet	67 %
LOT 02	5	<ul style="list-style-type: none"> • les chutes de cheveux 	Aucun effet	Aucun effet	0 %

L'essai clinique a été réalisé sur 20 patients, diagnostiqués comme souffrant de pellicules de forme modérée à sévère, chute des cheveux et démangeaison afin de tester l'efficacité clinique d'un shampoing préparé à base de flavonoïdes de l'extrait du thé vert dans un délai de deux semaines.

En effet, les pellicules et les démangeaisons de 05 patients ont été éliminées au cours de la première semaine, tandis que 10 autres patients souffrant de pellicules avaient signalé un rétablissement de la santé de leurs cheveux à partir de la deuxième semaine. Les personnes

présentant des chutes de cheveux ayant testé le shampooing n'ont noté aucun effet pendant les deux semaines du test.

Il est à noter que le shampooing témoin ne présente aucune action thérapeutique, c'est une suspension de lavage constituée essentiellement à base de tension actifs, d'eau et de sel.

En générale cette étude a montré une bonne satisfaction pour 33% des personnes ayant testé le produit, tandis que 67% ont signalé une satisfaction moyenne avec une réduction moyenne des démangeaisons et une action lente du shampooing.

Les pellicules des cheveux est le résultat de l'activité d'une enzyme appelée lipase. Le *Malassezia fungus* utilise cette enzyme pour décomposer le sébum en acide oléique (acides gras libres pro-inflammatoires) En outre, cet acide gras pénètre dans la couche supérieure du cuir chevelu et provoque une inflammation et une desquamation accrue des cellules de la peau chez les personnes sensibles (**Ravichandran et al., 2004**). Les résultats de l'effet anti-pellicules et anti-démangeaison obtenus dans cette étude peuvent être dues aux effets antifongique et anti-inflammatoire des flavonoïdes de l'extraits du thé vert .

Les chutes des cheveux causés par l'augmentation de la sensibilité des follicules du cuir chevelu à la dihydrotestostérone (DHT) (**Meidan et Touitou, 2001**) ont été stoppés probablement sous l'effet des flavonoïdes, qui d'après **Hiipakka et al, (2002)** bloquent ou réduisent l'activité du DHT via l'inhibition de 5 α réductase.

La comparaison de nos résultats à d'autres études montrent que les flavonoïdes et précisément l'EGCG extraits de thé vert ont un puissant effet anti-chute des cheveux, tandis que les résultats de notre étude n'ont montré aucun effet anti-chute, ce qui peut s'expliquer par le temps insuffisant des essais comparé à autres étude qu'ont fait les essais à long terme.

Conclusion

Au terme de cet travail visant à étudier les activités anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne d'extrait de thé vert et la possibilité de leur utilisation pour améliorer les propriétés fonctionnelles des produits cosmétiques notamment le shampoing. Les résultats ont montré que cette plante possède des vertus pouvant justifier leur utilisation en médecine traditionnelle dont les principaux résultats se résument comme suit :

La plante *Camellia sinensis* (thé vert) est une plante très riche en flavonoïdes. L'étude de l'activité biologique de l'extrait du *camellia sinensis* a révélé les observations suivantes :

- Une bonne activité anti hémolytique in vitro en comparaison avec la quercétine et le diclofenac ;
- Le test de DPPH a révélé que l'extrait est actif vis –à-vis des phénomènes d'oxydations ;
- Le test de l'activité antimicrobienne de l'extrait par la technique des puits, a montré que l'extrait testé est actif sur le plan microbiologique, avec une inhibition de toutes les souches microbiennes testées (bactéries et champignons) ;
- Afin d'améliorer les propriétés fonctionnelles de shampoing par l'addition des flavonoïdes, les essais cliniques montrent une bonne satisfaction pour 33% des patients ayant des pellicules et des démangeaisons tandis que 67% ont signalé une satisfaction moyenne, les personnes présentant des chutes de cheveux ayant testé le shampoing n'ont noté aucun effet.

En fin, l'ensemble des résultats obtenus montrent que les produits d'origine biologique essentiellement l'extrait du thé vert sont d'un grand potentiel en cosmétique.

Références
bibliographiques

Akroum Souâd. (2010 /2011). Etude Analytique et Biologique des, Flavonoïdes Naturels. Université Mentouri de Constantine, 17. 20.22 p.

Ahmad, I., Qureshi, T. A., Sadique, U., Khan, S. A., Ahmed, S., Rehman, Z. U, et Mushtaq, M.(2013). Hematological effects of diclofenac sodium in goat. The J of Animal and Plant Sci, 23, 103-107.

Anna Herman et Andrzej P. Herman. (2017). Topically used herbal products for the treatment of hair loss: preclinical and clinical studies, Arch Dermatol Res, DOI 10.1007/s00403-017-1759-7

Arct A., Oborska M., Mojski A., Binkowska & B. S. widzikowska. (2002). Common cosmetic hydrophilic ingredients as penetration modifiers of flavonoids. International Journal of Cosmetic Science 24,357-366.

Asili J., Mosallaei N., Shaterzadeh A et Malaekheh-Nikouei B. (2012). Preparation and characterization of liposomes containing methanol extract of aerial parts of *Platycladus orientalis* (L.) Franco. Avicenna J Phytomed 2, 17–23.

Babayi H., Kolo I & Okogum JI. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biochemistri 16 (2), 102-5.

Basile A., Giordano S., Lopez Saez JA et Cobianchi BC. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses. Phytochem 2 (8), 1419-82.

Batawita K., Kokon K., Akpagona K., Koumaglo K et Bouchet P. (2002). Fungicide activity of a threatened species from togo flora: *Conyza aegyptiaca* (L.) Ait. Var. *lineariloba* (DC.) O.Hoffm. (Asteraceae)). Acta Bot. Gal 149 (1), 41-8.

Bentabet lasгаа nesserine. (2015). étude phytochimique et évaluation des activités biologique des deux plantes *Ferdolia aritoides* et *Echium vulgare* de l'ouest Algerien. Université de Tlemcen, 34 p

Boughendjioua Hicham. (2001). Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Inventaire et extraction des principes actifs de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum*. Université Badji-Mokhtar – Annaba 5.6p

Bouakaz, I. (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.

Boudiaf, K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.

Bousseboua H. (2001). Eléments de microbiologie générale. 32, 160-167.

Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., SalehiSurmaghi M. H., Shams- Ardekani M. R., et Rahimi, R. (2013). Five Pistacia species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*.

Ceyhunkiliç, Zehra CAN, Ayşenur YILMAZ, Sibel YILDIZ, Hülya TURNA.(2017). Antioxidant Properties of Some Herbal Teas (Green tea, Senna, Corn Silk, Rosemary) Brewed at Different Temperatures. *International Journal of Secondary Metabolite*4: 3. 142-148.

Cha, J.W., Piao, M.J., Kim, K.C., et al. (2014). The polyphenol chlorogenic acid attenuates UVB-mediated oxidative stress in human HaCaT keratinocytes. *Biomol. Ther* 22, 136–142.

Chamcheu J.C., Afaq F., Syed D.N. et al. (2013). Delphinidin, a dietary antioxidant, induces human epidermal keratinocyte differentiation but not apoptosis: studies in submerged and three-dimensional epidermal equivalent models. *Exp. Dermatol*22, 342–348.

Chhavi S., Sushma D. & Mahammad A. (2011). Potential of herbals as antidandruff agents. *IRJP* 2(3), 16–8.

Cho H., Yun C.W., Park W.K., Kong J.Y., Kim K.S., Park Y., Lee S & Kim B.K. (2004). Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-2 and iNOS, by chrysin derivatives. *Pharmacol. Res* 49, 37-43.

Choi HJ., Song JH., Park KS . (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur. J. Pharm. Sci* 37 (3-4), 329-33.

Chou, C. C., Lin, L. L., Chung, K. T. (1999). Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season, *Int. J. Food Microbiol.* 48, 125 –130.

Congo M.(2012). Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *SalvadoraPersicaL.*(Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso , 42p

Chung J.H., Han J.H., Hwang E.J., Seo J.Y., Ch, K.H., Kim K.H., Youn J.I & Eun H.C. (2003). Dual mechanisms of green tea extract (EGCG)-induced cell survival in human epidermal keratinocytes. *FASEB J* 17, 1913–1915.

Cushnie TP., Hamilthoh VES et Lamb AJ. (2003). Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res* 158(4), 281-9.

- Dacosta, E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.
- Djeridane, A., Yousf, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry. 97, p. 645.
- Dordevic, S., Petrovic, S., Dobric, S., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Zizic, S., Kukic, J. (2007).**Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of Carlinaacanthifoliaroot essential oil .J Ethnopharmacol. 109, 458 - 463.
- Dutot .M ., L. Rambaux ., J.-M. Warn et P. Rat. (2008).** Modulation du stress oxydant par la myrtille riche en polyphénols sur un modèle de cellules humaines de rétine, J Fr. Ophtalmol 31, 10, 975-980.
- Ertürk, Ö. (2006).** Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spiceplants. Biologia, Bratislava. 61, 275-278.
- Fleuriet.A., Rice.E., Macheix.J.J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Press polytechniques et universitaires, Romandes.160.
- Gamet-Payrastre L., Manenti S., Gratacap M.P.,Tulliez J., Chap H et Payrastre B. (1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. General Pharmacology 32, 279- 286.
- Ganesh, G., Saurabh, M. et Sarada, N.C. (2013).** Antioxidant and Antiinflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant Mimusopselengi L. Pharm. Sci. & Res. Vol.5(6),125 – 130.
- Ghedira, K. (2005).** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. Phytothérapie, 3(4), 162-169.
- Giampieri F., Alvarez-Suarez J.M., Mazzoni L. (2014).** Polyphenol-rich strawberry extractprotects human dermal fibroblasts against hydrogen peroxide oxidative damage and improves mitochondrial functionality. Molecules 19, 7798–7816.
- Busser Christian et Goetz Paul. (2007).** la phytocosmétologiethérapeuthique.Springer-Verlag France. Paris.3.4.106.p
- Goetz.P. (2005).** Éléments du traitement par phytothérapie du vieillissement de la peau et du conjonctif. Phytothérapie Numéro 2, 72-76
- Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M. (2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanteriumadpressium. Annales des sciences et technologie. Vol6.1.

Hassan S.W., Umar R.A., Lawal M., Biblis L.S., Muhammed B.Y., Dabai Y.U. (2006). Evaluation of antibacterial activity and phyto chemical analysis of root extracts of *Boxiaangustifolia*. *African Journal of Biotechnology*, 5. (18), 1602-07.

Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod* 11, 41-66.

Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572-584.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux sources utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif .*Phytothérapie*, 1, 3-6.

Hiipakka R.A., Zhang H.Z., Dai W., Dai Q & Liao S. (2002). Structure–activity relationships for inhibition of human 5 α -reductases by polyphenols. *Biochem. Pharmacol* 63, 1165–1176.

Hiipakka RA., Zhang HZ., Dai W., Dai Q & Liao S. (2002). Structure– activity relationships for inhibition of human 5 α -reductases by polyphenols. *BiochemPharmacol* 63, 1165–1176.

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids–potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. 139, 1- 21.

Hsu S., Bollag W.B., Lewis J., Huang Q., Singh B., Sharawy M., Yamamoto T & Schuster G. (2003). Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 306, 29–34.

Igor G. Zenkevich, Anna Yu. Eshchenko , Svetlana V. Makarova , Alexander G.Vitenberg , Yuri G. Dobryakovet Viktor A. Utsal.(2007). Identification of the Products of Oxidation of Quercetin by Air Oxygen at Ambient Temperature. *Molecules*, 12, 654, 672.

Inui S., Fukuzato Y., Nakajima T., Yoshikawa K &Itami S.(2003). Identification of androgen-inducible TGF-beta1 derived from dermal papilla cells as a key mediator in androgenetic alopecia. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc* 8, 69–71.

Isogai, E., Isogai, H., Takeshi, K., Nishikawa, T. (1998). Protective effect of Japanese green tea extract on gnotobiotic mice infected with an *Escherichia coli* O157:H7 strain, *Microbiol. Immunol.*, 42, 125–128.

JacekArct PhD &KatarzynaPytkowska, MSc. (2008). Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals; *Clinics in Dermatology* (2008) 26, 347–357.

Kalavani, R., Banu, R. S., Jeyanthi, K. A., Sankari, T. U., & Kanna, A. V. (2016). Evaluation of anti-inflammatory and antibacterial activity of *Pithecellobium dulce* (Benth) extract. *Biotechnological Research*, 2(4), 148-154.

Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R.(2011). Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. 9, 274-282.

Kim Y.-J., Uyama H & Kobayashi S. (2004). Inhibition effects of (+)-catechin-aldehyde polycondensates on proteinases causing proteolytic degradation of extracellular matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 320, 256–261.

Kim Human. (2007). hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG), *Phytomedicine* 14,551–555.

Kuster RM., Arnold N., Wessjohann L. (2009). Anti-fungal flavonoids from *Tibouchinagrandidifolia*. *Biochem. Syst. Ecol* 37 (1), 63-5.

Kwon OS., Han JH., Yoo HG., Chung JH., Cho KH, Eun HC & Kim KH.(2007). Human hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Phytomedicine*14, 551–555.

Lahlahfatimazohra .(2007/2008). extraction des flavonoides par le butanol et le chloroforme à partir de *Silybum marianum* et étude de leur activité antimicrobienne. mémoire de magister. Univ. Mentouri Constantine.

Lee, K.-K., Cho J.-J., Park E.-J & Choi, J.-D. (2001). Anti-elastase and anti-hyaluronidase of phenolic substance from *Areca catechu* as a new anti-ageing agent. *Int. J. Cosmet. Sci.* 23,341–346

Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauriasalicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.

Lin, Y. S., Tsai, Y. J., Tsay, J. S., Lin, J. K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1864–1873.

Manthey J.M. (2000). Biological properties of flavonoïds pertaining to inflammation. *Microcirc* 7, S28-534.

Manthey, J. A. (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*, 7(S1).

Marie –Cloude Martini. (2001). Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier 316.1317.320.341p.

Martini A., Katerere DR &Eloff JN. (2004).Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol* 93 (2-3), 207-12.

Martini M.C. (2006). Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. P 331.

Meidan VM &Touitou E. (2001). Treatments for androgenetic alopecia and alopecia areata: current options and future prospects. *Drugs* 61, 53–69.

Middleton E., Kandaswami C &Theoharidies T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev* 52, 673751.

Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

Nagao A., Seki M &Kobayachi H. (1999). Inhibition of xanthine oxydase by flavonoids. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 63(10), 1787-1790.

Negrao R., Costa R., Duarte D., Gomes T.T., Azevedo I &Soares R. (2013). Different effects of catechin on angiogenesis and inflammation depending on VEGF levels. *J. Nutr. Biochem*24, 435–444.

Nor Qhairulizzreen, M. N. Et Mohdfadzelly, A. B.(2013).Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia Sinensis*leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia, *International Food Research Journal* 20(1), 307-312.

Okubo, S., Toda, M., Hara, Y., Shimamura, T. (1991). Antifungal and fungicidal activities of tea extracts and catechins against *Trichophyton*, *Nippon SaikingakuZasshi*, 46, 509 – 514.

Cushnie, T.P.T.; Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26, 343–356.

OkigboRN ., Mbajinka CS et Njoku CO.(2005).Antimicrobial potentials of (*UDA*) *Xylopi*a *aethopica*and *Occinumgratissimum* L. some pathogenous of man. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.* 1 (4), 392-7.

Ortuno A., Baidez A., Gomez P., Arcas MC., Porrás I., Garcia-Lidon A & Del Rio JA.(2006).*Citrus paradisi*and *Citrus sinensis*flavonoids: Their influence in the defence mechanismagainst *Penicilliumdigitatum*. *Food Chem* 98 (2), 351-8.

Park HH. Lee S., Son H., Park SB., Kim MS., Choi EJ. Singh TS., Ha JH., Lee MG, Paulina Malinowska. (2013). Effect of flavonoids content on antioxidant activity of commercial cosmetic

plant extracts, herbapolonica, 59.3.

Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products* 63, 1035-1042.

Prakash L., Satyan KS & Mejeed S. (2003). Multifunctional ingredients: The novel face of natural. *Cosmet Toil* 2003; 118 (11), 41-45.

Ravichandran G., Bharadwaj VS&Kolhapure SA. (2004). Evaluation of the clinical efficacy and safety of “Anti-Dandruff Shampoo” in the treatment of dandruff. *The Antiseptic* 201(1), 5–8.

Ravichandran G., ShivaramBharadwaj V., Kolhapure S.A. (2004). Evaluation of the clinical efficacy and safety of “Anti-Dandruff Shampoo” in the treatment of dandruff. *The Antiseptic* 201(1), 5-8.

Reza Azadi, AdlinAfzan, Ehsan Karimi. (2015). Phytoconstituents and antioxidant properties among commercial tea (*Camellia sinensis*L.) clones of Iran. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18.433-438.

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod.paris.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., G.P. Bolwell., Bramley P.M., &J.B. Pridjam J.B.1995. Free Rad. Res. 22, 375.

Rihane K et Benlaharche R. (2013). activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d’extraits à partir deux plantes médicinales : artémisia herba alba et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. Mémoire de master universi témentouri constantine.

Rijke De, E., Out P., Niessen, W. M.A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U.A.T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatography A*.1112, 31-63.

Robinson M.J & Cobb M.H. (1997). Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr. Opin. Cell Biol* 9, 180–186.

Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., &Tattini, M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacialentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 79-86.

Ronald I. yates & Donald c. Havery. (1999). Determinatio n o f phenol, resorcinol, salicylic acid and-hydroxy acids in cosmetic products a and salon preparations. U, S, Food and Drug Administratio n, fficeo f Cosmetiacnsd . 50, 315-325.

Ruszova E., Cheel J., Pavek S. et al. (2013). *Epilobium angustifolium* extract demonstrates multiple effects on dermal fibroblasts in vitro and skin photo-protection in vivo. *Gen. Physiol. Biophys* 32: 347–359.

Sharquie KE & Al-Obaidi HK. (2002). Onion juice (*Allium cepa* L.), a new topical treatment for alopecia areata. *J Dermatol* 29,343–346.

Sahraie-RadMasoud., AzadehIzadyari., SaharnazRakizadeh&JavadSharifi-Rad. (2015). Preparation of Strong Antidandruff Shampoo Using Medicinal Plant Extracts: A Clinical Trial and Chronic Dandruff Treatment. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 10(4), 21517.

Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Technol. Int.*, 8,121-137.

Singh T&Katiyar S.K. (2013). Green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, induces toxicity in human skin cancer cells by targeting beta-catenin signaling. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 273, 418–424.

Spedding G., Ratty A., Middleton E. (1989). Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antiviral Res* 12 (2), 99-110.

Spindler JR. (1988).The safety of topical minoxidil solution in the treatment of pattern baldness: the results of a 27-center trial. *ClinDermatol* 6, 200–212.

Stenn K.S &Paus R. (2001). Controls of hair follicle cycling. *Physiol. Rev* 81, 449–494.

Takahashi T., KamiyaTYokoo Y. (1998). Proanthocyanidinsfrom,grape seeds promote proliferation of mouse hair follicle cells in vitro and convert hair cycle in vivo. *ActaDermVenereol* 78, 428–432.

TariqA.L. et A.L. Reyaz. (2013). Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 2(5), 40-46.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Ghariabeh, M., El-Elimt, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content selected Jordanian plant species. *Food Chemistry.* 104, p-1372.

Thring T., Hili, P &Naughton, D. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complement Altern. Med.* 9, 27.

ThirviamGeetha, VibhaMlhotra, Indu Pal Kaur .(2004).Antimutagenic and antioxidant activity of quercetin, *Indian journal of experimental Biology* .34.61,67.

Toda, M., Okubo, S., Hara, Y., Shimamura, T. (1992). Antimicrobial and microbicidalactivities of tea and catechinsagainst *Mycoplasma*, *KansenshogakuZasshi*, 66, 606 – 611.

Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G &Wegrzym G. (2006). Differential antibacterial activity

of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch. Microbiol 184 (5), 271-8.

Upadhyay S., Dixit VK. Ghosh AK & Singh V. (2012). Effect of petroleum ether and ethanol fractions of seeds of *Abrus precatorius* on androgenic alopecia. Rev Bras Farmacogn 22, 359–363.

Upadhyay S., Ghosh AK., Singh V. (2006). Hair growth promotant activity of petroleum ether root extract of *Glycyrrhizaglabra* L. (Fabaceae) in female rats. Trop J Pharm Res 11, 753–758.

Vadivu, R. & Lakshmi, K.S. (2008). In vitro and In vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssplaurina. Bangladesh J Pharmacol; 3, 121-124.

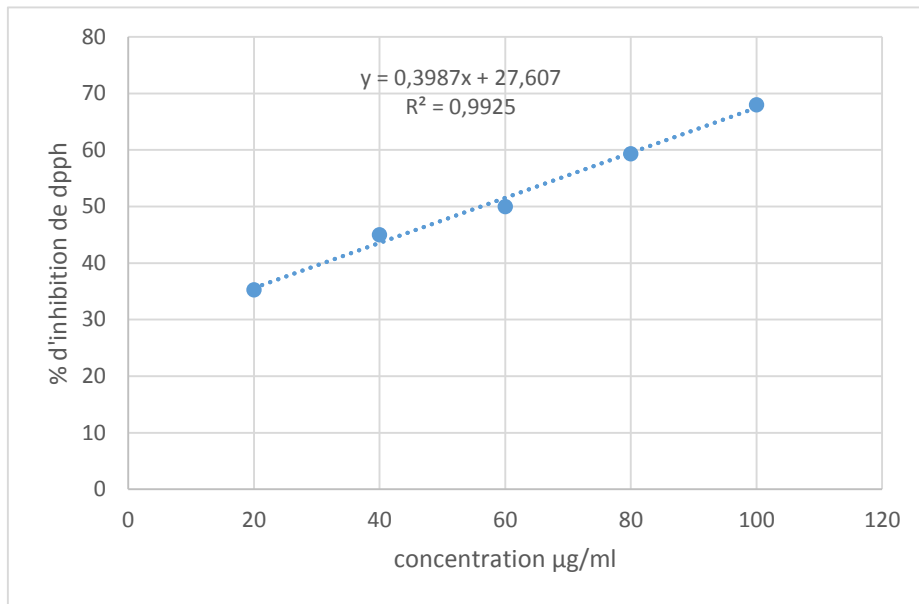
Vermerris W & Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer. (Dordrecht) 276 p.

Xagorari, A., Papapetropoulos, A., Mauromatis, A., Economou, M., Fotsis, T., & Roussos, C. (2001). Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 296 (1), 181-187.

Xia Z., Dickens M., Raingeaud J., Davis R.J & Greenberg M.E. (1995). Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. Science 270, 1326–1331.

Yollande K .N. (2009). Evaluation in vitro des pouvoirs antifongiques des extraits de feuille de papayer sur des souches de candidas albicans .ISTM Kinshasa- Gradué en technique de laboratoire. Romain. Vol (11). Pp, 33 -36.

Zillich O. V., U. Schweiggert-Weisz., P. Eisner., et M. Kersch. (2015). Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. International Journal of Cosmetic Science 37, 455–464.



Les pourcentages d'inhibition de DPPH par l'extrait de thé vert

ملخص:

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلص الفلافونويد من الشاي الأخضر وامكانية استخدامه لتحسينا لخواص الوظيفية للشامبو

في نهاية الاستخراج، كان محتوى الشاي الأخضر من الفلافونويد 2.18 مغ مكافئ/غرام من المادة الجافة، أظهرت نتائج دراسة النشاط المضاد للالتهاب في المخبر، عن طريق اختبار تثبيط انحلال غشاء خلايا كريات الدم الحمراء الناجم عن عوامل مختلفة (وسط منخفض التوتر و درجات الحرارة المرتفعة) ان الفلافونويد المستخلص من الشاي الاخضر له تأثير ضد انحلال غشاء كريات الدم الحمراء. لتقييم تأثير مضادات الاكسدة في مستخلص الشاي الأخضر يتم عن طريق اختبار DPPH واطهرت النتائج ان مستخلص الشاي الأخضر لديه نشاط قوي ضد جذر DPPH يتراوح بين 34.49% الى 67,60%.

كشفت تقييم النشاط المضاد للميكروبات في مستخلص الشاي الاخضر عن وجود نشاط قوي، حيث تتأرجح اقطار تثبيت الفطريات بين 15.5 و 24 مم، وبين 12 و 17.5 مم للبكتيريا. اظهرت نتائج اضافة الفلافونويد الى الشامبو ان هذا الاخير يملك نشاطا جيدا ضد القشرة والحكة.

الكلمات المفتاحية: الشاي الاخضر، نشاط مضاد للانحلال، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات، شامبو.

Résumé :

Le but de la présente étude est d'évaluer l'activité biologique in vitro de l'extrait des flavonoïdes du thé vert et la possibilité de leur utilisation pour l'amélioration des propriétés fonctionnelles d'un shampoing.

A l'issue de l'extraction et des dosages réalisés, la teneur du thé vert en flavonoïdes était de 2.18 mg EQ/ g MS. Les résultats de l'étude de l'activité anti-hémolytique in vitro, par test d'inhibition d'hémolyse de la membrane des globules rouges induit par différents agents (milieux hypotonique et température élevée), montrent que les flavonoïdes extraits de thé vert ont un effet anti-hémolytique. Le test de DPPH est utilisé pour évaluer l'effet antioxydant de l'extrait du thé vert, et les résultats ont montré que ce dernier possède une forte activité scavenger contre le radical DPPH, allant de 34.49% à 67,60%.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de thé vert a révélé une puissante activité, les proportions des diamètres d'inhibition pour les champignons oscillent entre 15,5 et 24 mm, et entre 12 et 17,5mm pour les bactéries.

L'addition de l'extrait de flavonoïdes du thé vert à un shampoing a montré que ce dernier a une bonne activité anti-pellicule et anti-démangeaison.

Mots clés : thé vert, Flavonoïdes, activité anti-hémolytique, activité antioxydante, activité antimicrobienne, shampoing.

Summary:

The purpose of the present study is to evaluate the in vitro biological activities of the flavonoid extract of green tea and the possibility of their use for improving the functional properties of a shampoo.

At the end of the extraction and the assays carried out, the content of green tea in flavonoids was 2.18 mg EQ / g MS. The results of the study of the anti-haemolytic activity in vitro, by test of inhibition of hemolysis of the membrane of the red blood cells induced by different agents (hypotonic and high temperature environments), show that the flavonoids extracted from green tea have an anti-hemolytic effect. The DPPH test is used to evaluate the antioxidant effect of the green tea extract, and the results showed that the latter has a strong scavenger activity against the DPPH radical, ranging from 34.49% to 67.60%.

The evaluation of the antimicrobial activity of the green tea extract revealed a potent activity, the proportion of the inhibition diameters for the mushrooms oscillate between 15.5 and 24 mm, and between 12 and 17,5mm for the bacteria.

The addition of flavonoid extract from green tea to a shampoo has shown that the latter requires good anti-dandruff and anti-itch activity.

Keywords: green tea, flavonoids, anti-haemolytic activity, Antioxidant activity, antimicrobial activity, shampoo.