



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 بوعريش



Université Mohammed 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 : des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Intitulé :

Étude comparative des activités antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire des composés phénoliques de l'*Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla*.

## Présenté par :

Belahcene Nesrine et Messouak el yamine

Soutenu le 04/07/2022, Devant le Jury:

Président :	M <sup>me</sup> . BOULKROUNE Hasna	MCB	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A.
Encadrant :	M <sup>me</sup> . BOUMERFEG Sabah	Pr	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A
Examineur :	M <sup>me</sup> NASRI Meriem	MCB	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A

Année Universitaire 2021/2022

# Dédicaces

*Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail accompagné d'un  
profond amour :*

*A Maman chérie*

*A toi qui m'as tout donné, sans rien demander*

*A toi qui as tout laissé pour moi*

*Merci maman pour ton amour, ta patience, ta compréhension et pour  
supporter mon butin tout le temps.*

*N'oublie jamais que je t'aime tellement*

*A mon cher papa*

*Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit, ta  
présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les  
différents obstacles, je t'aime très fort.*

*Une spéciale dédicace à toute la famille Belahcene et Tabbi*

*Nesrine*



# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A ma maman qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A celui qui a fait de moi un homme, mon père.*

*A la mémoire de ma chère grand-mère.*

*A tous les membres de ma famille pour l'amour qu'ils me préservent*

*A tous mes amis ....et tous ceux qui m'aiment .....*

*A mes chères collègues de la Pharmacie et en particulier à Madame Moussaoui*

*A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, ma femme pour l'encouragement et l'aide qu'elle m'a toujours accordé, à la lumière de mes jours mes chers enfants Fissil et Mohamed*

*A celle qui m'a beaucoup aidé pour la réalisation de ce travail, Ben.*

# E Lyamine

# Remerciement

Avant toute chose, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à madame le Professeur Sabah BOUMERFEG qui a bien voulu diriger ce travail de recherche, nous lui présentons nos vifs remerciements pour sa disponibilité et ses conseils pertinents qui ont aidé de façon très significative à l'amélioration de ce mémoire.

Nous tenons à remercier très chaleureusement les membres du jury Dr Hasna BOULKROUNE et Dr Meriem NASRI et d'avoir consacré leur temps à la lecture de ce manuscrit, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail.

On désire aussi remercier en particulier Mme Chadi Sara pour son soutien, sa présence et ses encouragements durant toute la période de l'élaboration de notre travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire pédagogique université Bordj Bou Arreridj, Il n'aurait pu être mené à bien sans l'aide, la patience et le soutien de nombreuses personnes particulièrement Mr, Khalil REBAI et Mme Wahiba GAHFIF auxquelles nous adressons tous nos remerciements.

Un grand merci également à toute l'équipe pédagogique de l'université de Bordj Bou Arreridj et les intervenants professionnels responsables de notre formation.

Ce mémoire n'aurait jamais pu avoir le jour sans le soutien actif des membres de notre famille, surtout nos parents qui nous ont toujours encouragés moralement à qui on tient à les remercier,

## Sommaire

-	Liste des tableaux	
-	Liste des figures	
-	Liste des abréviations	
-	Résumés	
I	Introduction	1
I.1	Les métabolites secondaires	3
I.1.1	Les polyphénols	3
I.1.2	Classification des polyphénols	3
I.2.	Stress oxydatif	4
I.2.1	Les radicaux libres	4
I.2.2	Les sources des radicaux libres	4
I.2.3	Rôle physiologique des radicaux libres	5
I.2.4	Rôle pathologique des radicaux libres	5
I.3	Les antioxydants	6
I.3.1	Les antioxydants enzymatiques :	6
I.3.2	Les antioxydants non enzymatiques	6
I.4	L'inflammation	7
I.4.1	Les anti-inflammatoires	7
I.5	Présentation botanique des plantes étudiées	8
I.5.1	Généralités sur la famille des Astéraceae	8
I.5.2	<i>Matricaria chamomilla</i>	8
I.5.2.1	Etymologie	8
I.5.2.2	Systématique	8
I.5.2.3	Description botanique du <i>Matricaria chamomilla</i>	9
I.5.2.4	Distribution géographique	10
I.5.2.5	Composition chimique	10
I.5.2.6	Utilisation pharmacologique	10
I.5.3	L' <i>Anthemis pedunculata</i>	11
I.5.3.1	Etymologie	11
I.5.3.2	Systématique	11
I.5.3.3	Description botanique	12
I.5.3.4	Distribution géographique	13
I.5.3.5	Composition chimique	13
I.5.3.6	Utilisation pharmacologique	13

<b>II. Matériel et méthodes</b>	<b>14</b>
<b>II.1 Matériel :</b>	<b>14</b>
<b>II.1.1 Matériel végétal</b>	<b>14</b>
<b>II.1.2 Souches bactériennes</b>	<b>14</b>
<b>II.1.3 Matériel non biologique</b>	<b>15</b>
<b>II.1.4 Réactifs et produits chimiques</b>	<b>15</b>
<b>II.2 Méthodes</b>	<b>15</b>
<b>II.2.1 Préparation de la plante</b>	<b>15</b>
<b>II.2.2 Extraction</b>	<b>16</b>
<b>II.2.3 Analyses phytochimiques</b>	<b>17</b>
<b>II.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux</b>	<b>17</b>
<b>II.2.3.2 Dosage des flavonoïdes</b>	<b>18</b>
<b>II.2.4 Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i></b>	<b>18</b>
<b>II.2.4.1 Effet scavenger du radical DPPH</b>	<b>18</b>
<b>II.2.4.2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)</b>	<b>19</b>
<b>II.2.4.3 Chélation du Fer ferreux</b>	<b>20</b>
<b>II.2.5 Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> (dénaturation de BSA)</b>	<b>20</b>
<b>II.2.6 Activité antibactérienne</b>	<b>22</b>
<b>II.2.6.1 Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)</b>	<b>23</b>
<b>II.3 Analyse statistique</b>	<b>23</b>
<b>III. Résultats et discussion</b>	<b>24</b>
<b>III.1 Extraction des composés phénoliques</b>	<b>24</b>
<b>III.2 Caractérisation phytochimique</b>	<b>25</b>
<b>III.2.1 Dosage des polyphénols</b>	<b>25</b>
<b>III.2.2 Dosage des flavonoïdes</b>	<b>27</b>
<b>III.3 Evaluation de l'activité antioxydante</b>	<b>28</b>
<b>III.3.1 Test DPPH</b>	<b>28</b>
<b>III.3.2 Pouvoir réducteur</b>	<b>31</b>
<b>III.3.3 Activité chélatrice</b>	<b>33</b>
<b>III.4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire</b>	<b>34</b>
<b>III.5 Activité antibactérienne</b>	<b>37</b>
<b>III.5.1 Activité antibactérienne par puits</b>	<b>38</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>43</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	<b>45</b>

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I</b> : les principales sources des radicaux libres.....	5
<b>Tableau II</b> : Position taxonomique de <i>Matricaria chamomilla</i> .....	9
<b>Tableau III</b> : Position taxonomique d' <i>Anthemis pedunculata</i> .....	12
<b>Tableau IV</b> : Rendement d'extraction des deux plantes .....	24
<b>Tableau V</b> : la teneur en polyphénols des deux extraits.....	26
<b>Tableau VI</b> : Teneur en Flavonoïdes des deux extraits.....	27
<b>Tableau VII</b> : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.....	35
<b>Tableau VIII</b> : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des deux extraits, de DMSO et d'antibiotique.....	38

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Matricaria chamomilla.	9
<b>Figure 2</b> : Les propriétés biologiques de Matricaria chamomilla.	11
<b>Figure 3</b> : Anthemis pedunculata.	12
<b>Figure 4</b> : Séchage des deux plantes à l'ombre.	15
<b>Figure 5</b> : Broyats des deux plantes.	16
<b>Figure 6</b> : les étapes de l'extraction des composés phénoliques.	17
<b>Figure 7</b> : Réduction du DPPH.	19
<b>Figure 8</b> : Schéma illustratif de l'activité anti-inflammatoire.	21
<b>Figure 9</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	25
<b>Figure 10</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine	27
<b>Figure 11</b> Activité antiradicalaire d'Anthemis pedunculata	29
<b>Figure 12</b> Activité antiradicalaire de Matricaria chamomilla	29
<b>Figure 13</b> Activité antiradicalaire des deux extraits et le standard BHT	29
<b>Figure 14</b> Pouvoir réducteur de l'extrait A.pedunculata	31
<b>Figure 15</b> Pouvoir réducteur de l'extrait M.chamomilla	31
<b>Figure 16</b> EC <sub>50</sub> des deux extraits et du BHT	32
<b>Figure 18</b> Activité chélatrice de l'extrait M.chamomilla	33
<b>Figure 17</b> Activité chélatrice de l'extrait A.pedunculata	33
<b>Figure 19</b> Activité chélatrice des deux extraits et du standard EDTA	34
<b>Figure 20</b> L'effet des deux extraits et de standard sur l'inhibition de la dénaturation des protéines	36
<b>Figure 21</b> Résultats de l'activité antibactérienne de l'E.MC sur la souche K. pneumoniae.	41
<b>Figure 22</b> Résultats de l'activité antibactérienne de l'E.MC sur la souche E.coli.	42
<b>Figure 23</b> Résultats de l'activité antibactérienne de l'antibiotique Gentamycine sur la souche E.coli.	42

## Liste des abréviations

**ATCC:** American Type Culture Collection

**BHT:** Butylatedhydroxytoluene

**BSA :** Sérum D'Albumine Bovine

**DI:** Diamètréd'Inhibition

**DPPH:** 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazy

**DMSO:** Diméthylsilfoxyde

**EAG:** Equivalent d'acide gallique

**EDTA:** Éthylènediaminetétraacétique

**ERA :** Les espèces réactives de l'azote

**ERO :** Les espèces réactives de l'oxygène

**EQ :** Equivalent de quercétine

**FeCl<sub>3</sub> :** Trichlorure de fer

**FRAP :** Ferric reducing-antioxidant power

**IC<sub>50</sub> :** Concentration inhibitrice de 50 %

**EC<sub>50</sub>:** Concentration effectrice de 50 %

**MH :** Muller Hinton.

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**SOD :** SuperOxydes Dismutases

**TCA :** TriChloracétic Acide

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة نبتتين طبيئتين *Anthemis pedunculata* و *Matricaria chamomilla* ، بتقييم النشاط المضاد للأوكسدة والنشاط المضاد للالتهاب والنشاط المضاد للبكتيريا في المختبر. هذه النباتات مشهورة بأنها غنية بالمستقلبات الثانوية , وقد تم استخلاص المستخلص الهيدروميثانولي بمرودود 24 في المائة بالنسبة ل *Anthemis pedunculata* و 18.66 في المائة بالنسبة ل *Matricaria chamomilla* وقد تم تقدير المحتوى الإجمالي لعديدات الفينول و الفلافونويدات باستخدام Ciocalteu Folin- و ثلاثي كلوريد الألومنيوم. على التوالي، حيث أظهرت النتائج أن المستخلص الخام لنبته *Anthemis pedunculata* هو الأغنى بالعديدات الفينول و الفلافونويدات. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام ثلاث طرق مختلفة : إختبار إزاحة جذور DPPH و إختبار FRAP وإختبار استخلاص الحديد. حيث أظهر المستخلص الخام (E.MC) نشاطا مضادا قويا في إزالة جذور DPPH ب  $IC_{50}$  تساوي  $40.69 \pm 0.005$  ميكروغرام / مل و  $IC_{50}$  مساوية ل  $48.77 \pm 0.013$  ميكروغرام/مل بالنسبة ل (E.AP). أما أحسن فعالية في إرجاع الحديد فقد تم تسجيلها من طرف E.AP ب  $EC_{50}$  مساوية ل  $21.50 \pm 0.84$  ميكروغرام/مل مقارنة بتلك الخاصة ب E.MC الذي أعطى  $EC_{50}$  مساو ل  $25.77 \pm 0.63$  ميكروغرام/مل. أفضل نشاطية مضادة للأوكسدة من خلال استخلاص الحديد تم تسجيلها بالنسبة لمستخلص (E.AP) ب  $IC_{50}$  تساوي  $26.50 \pm 0.009$  ميكروغرام/مل مقارنة ب (E.MC) التي سجلت  $IC_{50}$  مساو ل  $89.25 \pm 0.001$  ميكروغرام/مل . أما فيما يخص النشاط المضاد للالتهاب، فسجلت فعالية كبيرة إزاء تثبيط تحلل البروتينات لكلا المستخلصين بتركيزات مختلفة. من جهة أخرى تم دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين ضد خمس سلالات بكتيرية:

(*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579) حيث أظهرت النتائج أن نبتة *Matricaria chamomilla* كانت أكثر فعالية ضد (*Klebsiella pneumoniae* و (*Escherichia.coli*) بتركيزات مختلفة.

الكلمات المفتاحية : *Anthemis pedunculata*, *Matricaria chamomilla* : نشاط مضاد للأوكسدة , نشاط مضاد للالتهاب , نشاط مضاد للبكتيريا، المركبات الفينولية

## Résumé

La présente étude porte sur la valorisation des deux plantes médicinales de la famille des Astéracées à savoir : *Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla*, en les caractérisant par une évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, anti-inflammatoire et antibactérienne. Ces deux plantes sont très appréciées pour leurs teneurs en métabolites secondaires. Les extraits hydrométhanoliques obtenus par macération ont présenté un rendement d'extraction de 24% pour *Anthemis pedunculata* et 18.66 % pour *Matricaria chamomilla*. La teneur totale en polyphénol et en flavonoïdes a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium, les résultats ont montré que l'extrait brut de *Anthemis pedunculata* est le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes. L'activité antioxydante a été évaluée par 3 techniques différentes ; DPPH, pouvoir réducteur (FRAP) et Chélation de fer. Le test de DPPH a démontré que l'extrait brut de *Matricaria chamomilla* exerce une activité antiradicalaire puissante avec une  $IC_{50}$  de  $40.69 \pm 0.005 \mu\text{g/ml}$  et celui de *Anthemis pedunculata*,  $IC_{50} = 48.77 \pm 0.013 \mu\text{g/ml}$ . L'efficacité de la réduction de fer a été enregistrée dans l'E.AP avec une  $EC_{50} = 21.50 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$  et  $25.77 \pm 0.63 \mu\text{g/ml}$  pour l'E.MC. Le meilleur potentiel antioxydant qui est déterminé par le test chélation de fer, a été enregistré avec l'extrait hydro-méthanolique de *Anthemis pedunculata* avec une  $IC_{50} = 26.50 \pm 0.009 \mu\text{g/ml}$  comparé à *Matricaria chamomilla* qui présente un effet chélateur modéré  $89.25 \pm 0.001 \mu\text{g/ml}$ . Pour l'activité anti-inflammatoire, une importante inhibition de la dénaturation des protéines à différentes concentrations a été marquée pour les deux extraits.

L'activité antibactérienne des deux extraits a été déterminée par la technique de diffusion sur gélose par puits contre cinq souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579). L'extrait hydro-méthanolique de *Matricaria chamomilla* a enregistré une forte activité vis-à-vis deux souches bactériennes Gram négatives : *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* à différentes concentrations, mais aucune activité n'a été enregistrée contre les Gram positives.

**Mots clés :** *Anthemis pedunculata*, *Matricaria chamomilla*, Polyphénols, Activités antioxydantes, activité anti-inflammatoire, activité antibactérienne.

## Abstract

The present study aims at the valorisation of two medicinal plants of the Asteraceae family, namely: *Anthemis pedunculata* and *Matricaria chamomilla*, by characterising them through an *in vitro* evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities.

Both plants are highly valued for their secondary metabolite content. The hydromethanolic extracts obtained by maceration showed an extraction yield of 24% and 18.66% for *Anthemis pedunculata* and *Matricaria chamomilla* respectively. The total polyphenol and flavonoid content were determined using the Folin-Ciocalteu and aluminium trichloride colorimetric method, the results showed that the crude extract of *Anthemis pedunculata* is the richest in polyphenols and flavonoids. The antioxidant activity was evaluated by three different technique: DPPH, reducing power assay (FRAP) and Iron chelation. The DPPH test showed that the *Matricaria chamomilla* crude extract exerts potent antiradical activity with  $IC_{50}$  of  $40.69 \pm 0.005 \mu\text{g/ml}$  and that of *Anthemis pedunculata*,  $IC_{50} = 48.77 \pm 0.013 \mu\text{g/ml}$ . The efficiency of iron reduction was recorded in E. AP with an  $EC_{50} = 21.50 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$  and  $25.77 \pm 0.63 \mu\text{g/ml}$  for E.MC. The best antioxidant potential determined by the iron chelation test was recorded with the hydro-methanolic extract of *Anthemis pedunculata* with an  $IC_{50} = 26.50 \pm 0.009 \mu\text{g/ml}$  compared to *Matricaria chamomilla* which shows a moderate chelating effect  $89.25 \pm 0.001 \mu\text{g/ml}$ . For anti-inflammatory activity, a significant inhibition of protein denaturation at different concentrations was recorded for both extracts. The antibacterial activity of both extracts was determined by agar-well diffusion technique against five bacterial strains (*Staphylococcus aureus* ATCC, *Klebsiella pneumonia* ATCC, *Escherichia coli* ATCC, *Bacillus cereus* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC). The hydro-methanolic extract of *Matricaria chamomilla* exhibited a high activity against two Gram negative bacterial strains, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* at different concentrations but no activity was recorded against Gram positive ones.

**Key words:** *Anthemis pedunculata*, *Matricaria chamomilla*, Polyphenols, Antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial activity

# **Introduction**

## I Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés ; les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, et les flavonoïdes (Xavier et al., 2019).

L'Algérie possède une flore végétale de plantes médicinales riche et diversifiée. Parmi ces plantes on trouve la camomille qui appartient à la famille des Astéracées, souvent il s'agit de plante ayant un capitule bicolore, fleur centrale jaune et ligules du pourtour blanche, comme la *Matricaria chamomilla* et l'*Anthemis pedunculata* (Laouer et al., 2021).

Le nom de « camomille » laisse supposer des propriétés similaires de ces différentes espèces qui sont souvent employées de façon équivalente, d'autant plus qu'elles sont parfois confondues (Petitet., 2016).

L'infusion de la camomille est surtout appréciée pour son action anti-inflammatoire, antioxydant et anticancéreuse (Srivastava et Gupta., 2009 ; Guzelmeric et al., 2017). Elle est également employée pour son effet antispasmodique. Elle prévient les contractions musculaires involontaires au niveau de l'appareil digestif, et de l'utérus, elle intervient également pour calmer les troubles menstruels (Menale et al., 2021). La camomille possède d'autres propriétés intéressantes, elle favorise la sécrétion de la bile par le foie et apaise les douleurs (action analgésique), antiallergique, parfaite pour lutter contre l'inflammation de la peau et soulager les irritations cutanées (Rakou et al., 2020).

L'*Anthemis pedunculata* ou la fausse camomille et comme les botanistes l'appelle « la camomille avec un grand pédoncule » est très répandue au niveau de notre région et son utilisation est confondue avec la vraie camomille.

De ce fait, il est important de comprendre si : la composition phytochimique de ces deux espèces est particulière ? Est-ce que chacune d'elle possède-t-elle un profil d'activité biologique qui lui est propre ?

La procédure de travail va être menée de façon graduelle en trois parties :

- **La première partie** reposera sur une synthèse bibliographique comportant une présentation des métabolites secondaire, une présentation botanique et phytochimique de la famille des Asteraceae, du genre *Matricaria chamomilla* et *Anthémis pedunculata*, et un aperçu sur certaines activités pharmacologiques.

- **La seconde partie** comportera l'extraction, l'analyse phytochimique et activité biologique des deux espèces étudiées et l'illustration respective du matériel et des méthodes adoptées pour la réalisation de cette étude.

- **La troisième partie** concernera les résultats, discussion, conclusion et perspectives.

## I.1 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques indirectement impliqués dans le processus vital de base (croissance, division cellulaire, respiration, photosynthèse, reproduction), ces molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Les métabolites secondaires sont impliqués dans plusieurs processus tels que la protection des plantes contre les ravageurs et les pathogènes, l'allélopathie, la symbiose plante-microbe au niveau des nodules racinaires, la couleur, l'odeur et le goût. Ils peuvent donc servir d'attractifs pour les pollinisateurs (Macheix, et al., 2005).

Elles sont synthétisées dans une partie de la plante et stockées dans une autre (Vu thi dao, 2008). Les métabolites secondaires sont composés de trois principales catégories qui sont les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (Bendif, 2017).

### I.1.1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal d'un poids moléculaire élevé, ils se trouvent dans toutes les parties de la plante (Achat, 2013). Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les Anthocyanes, les Flavonoïdes et les Tannins (Nathalie et Jean-Paul, 2006).

Les polyphénols sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Rodrigo et al., 2011).

### I.1.2 Classification des polyphénols

Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Il existe plusieurs classes des polyphénols principalement les acides phénoliques simples, les phénols simples, les stilbènes, les coumarines, les tanins, les quinones, les flavonoïdes, les lignanes, les lignines et les xanthones (Dacosta, 2003).

## I.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant désigne le déséquilibre de la balance entre la production de radicaux libres et la quantité d'antioxydants disponibles dans l'organisme, que ce soit par un déficit dans les mécanismes de défense comprenant des composés et des enzymes antioxydants, ou une surproduction des radicaux libres (Morel et Barouki, 1999).

### I.2.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui possède un électron célibataire non apparié sur sa couche externe. Cette caractéristique le rend instable et très réactif, en excès ils sont potentiellement néfastes pour l'organisme et peuvent altérer le bon fonctionnement des cellules (Migdal et Serres, 2011).

Les dysfonctionnements du métabolisme de l'oxygène par la présence d'un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote sont à l'origine de la production excessive d'espèces chimiques très réactives appelées « espèces réactives » parmi lesquelles on trouve : Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERA) (Bendif, 2017)

### I.2.2 Les sources des radicaux libres

Il existe plusieurs facteurs qui contribuent à la production de radicaux libres, ils peuvent être produits par des réactions chimiques ou enzymatiques, ou par des agents physiques comme les rayonnements, la pollution, le tabagisme. En effet, toute réaction impliquant de l'O<sub>2</sub> ou un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO. Les autres sources de production de radicaux libres sont représentées dans le **tableau I**, elles sont classées en deux catégories source endogène et source exogène (Pastre, 2005).

**Tableau I** : les principales sources des radicaux libres.

Source endogène	Source exogène
NADPH oxydase	Les médicaments
Chaîne respiratoire mitochondriale	Rayonnement électromagnétique
Cytochromes P450	Les Métaux de transition
Xanthine oxydase	Les Pesticides
Cyclo-oxygénases	Xénobiotiques pro-oxydants
Lipo-oxygénases	Cytokines pro-inflammatoires
Peroxisomes	

### I.2.3 Rôle physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres sont utiles et vitaux pour l'organisme à dose raisonnable. Ils interviennent dans des fonctions importantes, nécessaires pour être en bonne santé ; dans la fertilisation et la maturation du mouvement cellulaire, dans l'élimination des déchets toxiques ainsi que dans la défense contre les microbes, les virus et même les cellules tumorales (Favier., 2003).

### I.2.4 Rôle pathologique des radicaux libres

Les radicaux libres et les oxydants ont des effets à la fois toxiques et bénéfiques. Lorsque ces substances sont produites en excès, elles peuvent causer des lésions tissulaires impliquées dans différents problèmes de santé. Ils réagissent avec la plupart des macromolécules cellulaires, notamment les protéines, les lipides et l'ADN. L'oxydation des protéines induite par les ROS rend souvent le protéine marquée et plus susceptible d'être dégradée. Les ROS sont une source majeure de dommages de l'ADN, provoquant des ruptures de brins, l'élimination des nucléotides, et une variété de modifications des bases nucléiques qui peuvent entraîner des modifications ou des dommages à l'ADN, avec des effets potentiellement néfastes pour la cellule (Rao et al., 2011).

### I.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances naturellement présentes dans de nombreux aliments, capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres, et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques. On distingue deux sources d'antioxydants : endogène et exogène, Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Mohammedi, 2013).

#### I.3.1 Les antioxydants enzymatiques :

Ces systèmes sont composés d'enzymes tels que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la Glutathion peroxydase, capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives (Guéye, 2007).

- ✓ Superoxyde dismutase (SOD) : Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
- ✓ Catalase : Elle permet de convertir deux molécules de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>
- ✓ Glutathion peroxydase: Action réductrice sur H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et hydroperoxydes

#### I.3.2 Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques peuvent prendre diverses formes parmi lesquelles : Les vitamines (C, D, E, A), les Oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium) et les caroténoïdes qui correspondent aux pigments que l'on trouve surtout dans les aliments jaunes et oranges (Bendif, 2017).

## **I.4 L'inflammation**

L'inflammation est une réponse immunitaire adaptative naturelle de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse. C'est la première ligne de défense de l'organisme. Elle est souvent suivie par une dilatation des vaisseaux sanguins permettant la migration de cellules et de certaines molécules du sang vers les tissus où l'agression a été localisée, favorisant ainsi rougeur, chaleur, œdème et douleur (Diallo,2019). L'inflammation peut être aiguë ou chronique. La première est une réponse immédiate de courte durée suite à une agression par un agent pathogène, habituellement, elle disparaît spontanément ou avec un traitement. Toutefois, elle peut évoluer vers une inflammation chronique conduit à la formation de lésions focalisées à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (Rousselet et al., 2005).

### **I.4.1 Les anti-inflammatoires**

Ce sont des substances utilisées pour lutter contre l'inflammation qui limitent l'amplitude et la durée des réactions inflammatoires. Ils se classent en deux catégories : Les anti-inflammatoires stéroïdiens et les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS (Stora,2005).

Aussi bien il existe de nombreux composés phytochimiques d'origine végétale dans les plantes médicinales qui ont des propriétés anti-inflammatoires et sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase (Zeinali et al., 2017).

## I.5 Présentation botanique des plantes étudiées

### I.5.1 Généralités sur la famille des Astéraceae

Le terme « aster » du grec signifie « l'étoile » en référence à la forme des fleurs (Gaussen et Leroy, 1982). La famille des astéracées (anciennement appelées Composées ou Synanthérées) comprend près de 1500 genres et pas loin de 23 000 espèces (Gaussen et Leroy, 1982 ; Guinard, 1994). D'après Quezel et Santa (1963) en Algérie il existe 109 genres et 408 espèces. C'est une famille très importante dans le règne végétal. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées à l'exception des pôles. Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes. Ces plantes ont la caractéristique commune d'avoir une inflorescence en capitule, c'est-à-dire une multitude de fleurs sans pédoncule regroupées sur un réceptacle et entourées de bractées florales (Gherboudj, 2014).

### I.5.2 *Matricaria chamomilla*

#### I.5.2.1 Etymologie

La camomille allemande est souvent considérée comme l'espèce originale de la camomille. Son nom anglais "chamomile" provient de deux mots grecs "Chamos" et "Melos" qui signifient respectivement « à terre » et « pomme » ce dernier terme fait probablement référence au parfum unique de pomme que dégagent les fleurs (Moghaddasi, 2011).

#### Synonymes :

- ✓ **Nom en commun** : Camomille sauvage
- ✓ **Nom botanique** : *Matricaria chamomilla*
- ✓ **Nom Français** : Matricaire, Petite camomille, Camomille allemande, Camomille vraie
- ✓ **Nom Arabe** : Baboundj.

#### I.5.2.2 Systématique

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

**Tableau II** : Position taxonomique de *Matricaria chamomilla*.

<b>Taxonomie</b>	<b>Description</b>
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Super division</b>	Spermatophyta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	<i>Matricaria</i>
<b>Espèce</b>	<i>Chamomilla</i> .L

### I.5.2.3 Description botanique du *Matricaria chamomilla*

La camomille allemande est une herbe annuelle aromatique à saveur amère avec une hauteur de 10-60 cm, parfois elle peut atteindre une hauteur allant jusqu'à 80 cm de long. C'est une plante vivace à racine pivotante, assez forte, fibreuse et chevelue, avec une tige dressée, rameuse. Les feuilles sont alternes, épaisses, très divisées (bi ou tri pennées), et en lanières. L'appareil reproducteur apparaît formé d'un cœur jaune et d'une collerette blanche, de nombreux pétales recouvrant le cœur jaune, en fait cet ensemble est un capitule en corymbe, une inflorescence de nombreuses petites fleurs (jaunes au centre, blanches autour) serrées les unes contre les autres sur un réceptacle conique. Les fruits qu'il produit sont appelés achènes, et sont cylindriques. Les capitules de fleurs de la camomille matricaire, d'un diamètre de 1,5 à 2.5 cm, assez nombreux, coniques, creux, et très allongés à maturité, supportent deux types de fleurs : des fleurons centraux tubulés à corolles à 5 dents et des fleurs blanches, ligulées, étalées à la périphérie du capitule (**Figure1**) (Chauhan et al., 2022).



**Figure 1** : *Matricaria chamomilla*.

#### I.5.2.4 Distribution géographique

*Matricaria chamomilla* est originaire de l'est de l'Europe et du Moyen-Orient, elle est répandue partout en Europe. Elle pousse aussi en Inde, en Amérique du Nord et en Australie. Elle est particulièrement commune en Hongrie, en Croatie, ainsi que dans le nord et l'est de l'Afrique et en Algérie (Chauhan et al., 2022) La camomille aime les terrains siliceux, riches, légers et bien drainés, elle tolère un pH de 4.5 à 7.5 et pousse sous climat en plein soleil (El Mihyaoui et al., 2022).

#### I.5.2.5 Composition chimique

*Matricaria chamomilla* appartient à un groupe majeur de plantes médicinales cultivées. Elle contient un large groupe de classes de composés actifs et intéressants sur le plan thérapeutique. Les sesquiterpènes, les flavonoïdes, les coumarines et les polyacétylènes sont considérés comme les constituants les plus importants de la camomille. Les coumarines sont représentées chez *Matricaria chamomilla* par l'herniarine, l'ombelliférone (Kotov et al., 1991 ; Redaelli et al., 1981). L'acide(Z)-et(E)-2-β-d-glucopyranosyloxy-4-méthoxyCinnamique (GMCA), les glucosides précurseurs de l'herniarine ont été décrits comme des composés natifs de la camomille (Singh et al., 2010).

Onze composés phénoliques bioactifs tels que l'herniarine et l'ombelliférone (coumarine), l'acide chlorogénique et l'acide caféique (phénylpropanoïdes), l'apigénine, l'apigénine-7-O-glucoside, la lutéoline et la lutéoline-7-O-glucoside (flavones), la quercétine et la rutine (flavonols), et la naringénine (flavanone) sont présents dans l'extrait de camomille (Singh et al., 2011).

#### I.5.2.6 Utilisation pharmacologique

La camomille est une espèce de plante médicinale bien connue à travers le monde du fait de ses propriétés thérapeutiques. Elle fait partie de la pharmacopée souvent appelée « l'étoile » parmi les espèces médicinales (Upadhyay et al., 2016).

Elle possède plusieurs propriétés pharmacologiques d'une nature anti-inflammatoire, antimicrobienne, antiseptique, antispasmodique et sédative, hypoglycémiant (**Figure 2**) ce qui en fait une herbe très recherchée pour une utilisation dans de nombreuses industries pharmaceutiques et aromatisants (Chauhan et al., 2022).

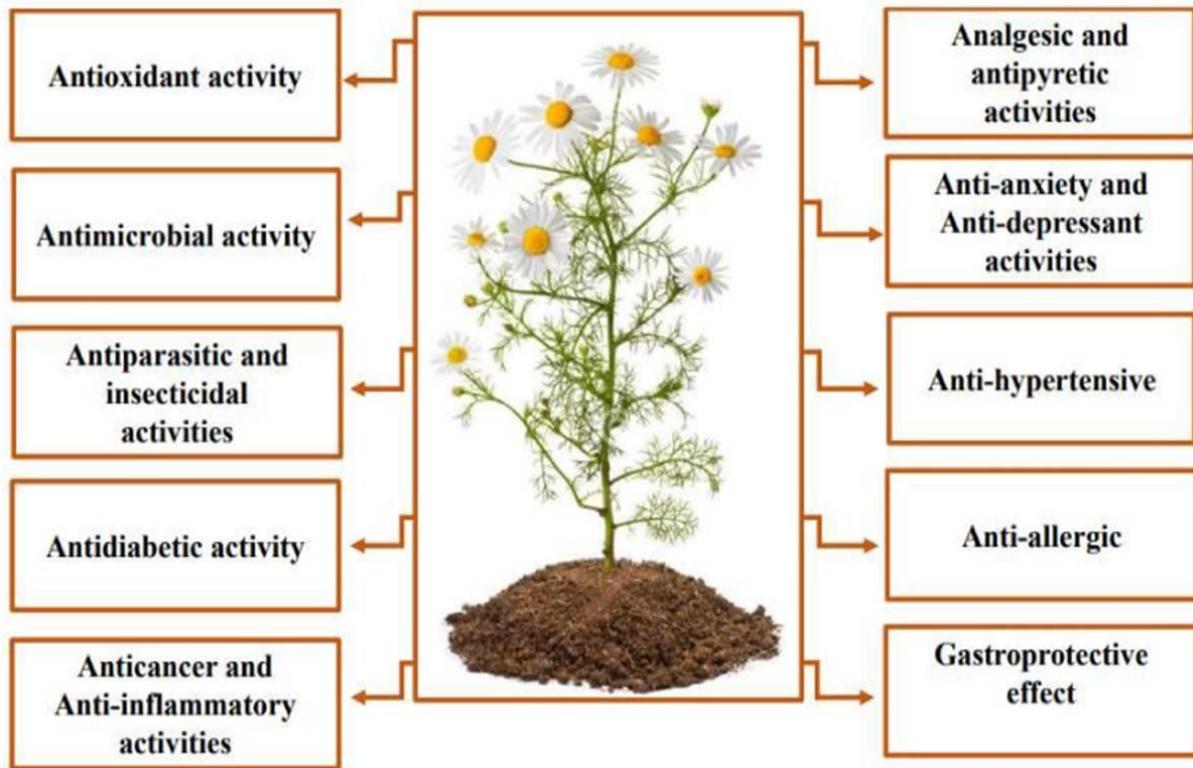


Figure 2 : Les propriétés biologiques de *Matricaria chamomilla*.

### I.5.3 L'*Anthemis pedunculata*

#### I.5.3.1 Etymologie

Le nom scientifique du genre « Anthemis » vient du grec qui signifie fleurette et « Pedunculus » du latin qui signifie pédoncule en botanique. On appelle pédoncule la pièce florale en forme de tige, parfois on parle improprement de « queue », qui porte les fleurs après la fécondation. Les anthémis partagent avec d'autres genres le nom commun de camomille (El kolli, 2008).

#### Synonymes :

- ✓ **Nom en commun** : Manzanilla
- ✓ **Nom botanique** : *Anthemis pedunculata*
- ✓ **Nom Français** : Anacycle en massue, anacycle tomenteux
- ✓ **Nom Arabe** : Bouibicha / Boumelal

#### I.5.3.2 Systématique

La classification de l'espèce *Anthemis pedunculata* est décrite dans le **tableau III**.

Tableau III : Position taxonomique d'*Anthemis pedunculata*

TAXONOMIE	DESCRIPTION
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Anthemis</i>
Espèce	<i>Anthemis pedunculata</i> . Desf

### I.5.3.3 Description botanique

L'*Anthemis pedunculata* est une plante vivace, rhizomateuse, appartenant à la famille des Asteraceae. La tige est pubescente, ascendante ou érigée ramifiée dès la base. Les feuilles persistantes sont multipliées et pennées avec un limbe poilu à segments ultimes linéaires, mucronulés, capitules à long pédoncule, hétérogames, radiés ou discoïdes, réceptacle hémisphérique, les fleurs solitaires au bout d'un long pédoncule. Après la floraison, le capitule de fleurs jaunes du centre s'arrondit et les ligules blanches du pourtour se rabattent sur le pédoncule. Elles s'épanouissent entre mai et juin et produisent des akènes. (**Figure3**) (El kolli, 2008).



**Figure 3** : *Anthemis pedunculata*.

#### I.5.3.4 Distribution géographique

**Distribution générale :** *Anthemis pedunculata* pousse en Algérie, au Maroc, en Espagne. Cette plante herbacée se trouve dans les montagnes, les pâturages, les pelouses et les forêts (El kolli, 2008).

#### I.5.3.5 Composition chimique

Les principaux constituants de cette plante sont les flavonoïdes, les lactones, les sesquiterpènes et les poly-acétylènes et d'après la recherche et l'étude de Benahmed et al (2013) qui ont démontré pour la première fois la présence de **lutéoline** dans les parties aériennes de l'*Anthemis pedunculata*.

#### I.5.3.6 Utilisation pharmacologique

De nombreuses *Anthemis* sont utilisées comme tisane, pour aromatiser les aliments, ainsi que dans les cosmétiques et dans l'industrie pharmaceutique. Leurs extraits, teintures, pommades et tisanes sont largement utilisés comme antispasmodiques, anti-inflammatoire et antibactérien (Kurtulmus et al., 2009). Les parties aériennes de L'*Anthemis pedunculata* sont utilisées contre les coliques, le diabète et les parasites intestinal (Chermal et Gharzouli, 2015). En général le genre *Anthemis* est connu pour ses vertus médicinales variées, stimulantes, emménagogues et carminatives (El kolli, 2008).

# **Matériel et méthodes**

## II. Matériel et méthodes

Cette expérimentation a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire des deux extraits polyphénoliques de deux espèces végétales appartenant à la famille des Astéracées : *Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla*. Les travaux d'expérimentation de cette étude ont été réalisés au sein du laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'Université Mohamed el Bachir el Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algérie.

### II.1 Matériel :

#### II.1.1 Matériel végétal

La plante *Anthemis pedunculata* a été récoltée au mois de mars 2022 dans la région de Djaafra (Bordj Bou Arreridj), lors de l'éclosion des fleurs, puisque c'est à ce moment que les principes actifs sont les plus concentrés. Tandis que la deuxième plante *Matricaria chamomilla* a été récoltée au mois d'avril dans la région d'ELKala (Taref).

L'identification du matériel végétal des deux plantes a été réalisée par le botaniste Dr : SARRI Djamel ; Docteur chercheur au niveau de la Faculté des sciences, Université Mohamed Boudiaf M'SILA.

Les fleurs des deux plantes ont été nettoyées, séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant trois semaines pour abaisser la teneur en eau. Les parties séchées sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique et la poudre ainsi obtenue est conservée à l'abri de l'air et de l'humidité dans des flacons en verres sombres et hermétiquement fermés.

#### II.1.2 Souches bactériennes

Cinq souches bactériennes fournies par le laboratoire de biochimie appliqué de Sétif, université Farhat Abbas, dont trois à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumonia* ATCC70603, et deux à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579).

### II.1.3 Matériel non biologique

La réalisation des expériences de cette étude a fait appel à un matériel classique composé de verreries, d'équipements et d'appareillages, il comprend aussi un ensemble de réactifs et de produits chimiques.

### II.1.4 Réactifs et produits chimiques

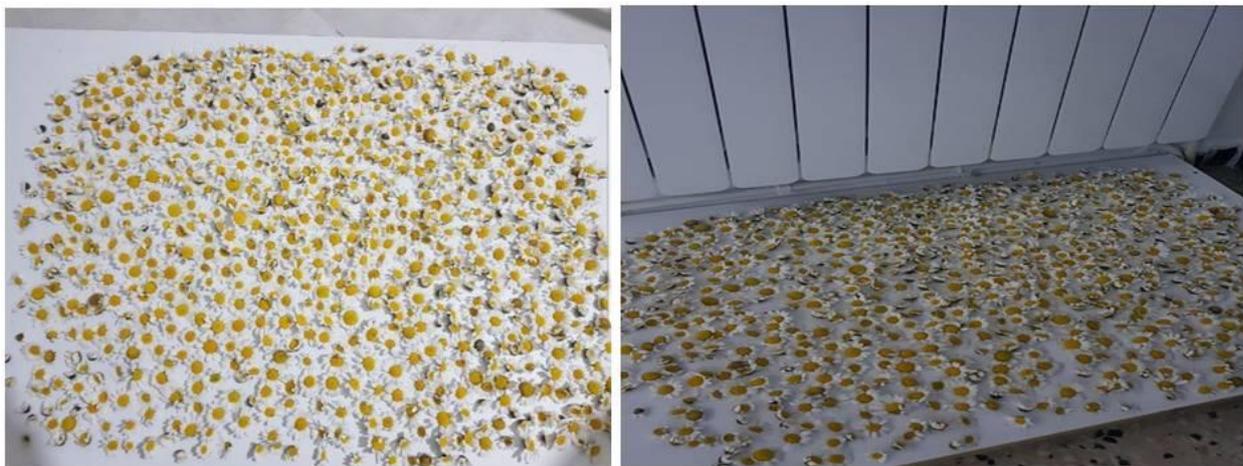
Acide gallique, Quercétine, folin-ciocalteu,  $\text{FeCl}_3$  (Chlorure de fer), Méthanol, Eau distillée, Acide trichloracétique (TCA), 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), Éthylènediaminetétraacétique (EDTA), 2, 6 di-tert-butyl-4-methyl phenol (BHT),  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (ferricyanure de potassium), Albumine de sérum bovin (ASB), Le ferrozine,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Hydrogénophosphate de potassium),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Phosphate de potassium monobasique).

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Préparation de la plante

#### 1. Séchage

Les fleurs des deux plantes fraîchement récoltées, après avoir été lavées pour éliminer les impuretés et enlever la poussière et autres particules, sont ensuite séchées à une température ambiante et à l'ombre (**Figure 4**).



**Figure 4** : Séchage des deux plantes à l'ombre.

## 2. Broyage :

Les fleurs séchées des deux plantes sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à leur réduction en poudre (**Figure 5**). Une étape de tamisage a été effectuée afin d'obtenir une poudre de granulométrie de 200  $\mu\text{m}$ , puis stockées dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure 5** : Broyats des deux plantes.

### II.2.2 Extraction

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux (85/15 %) pour extraire les principes actifs. L'extraction des composés phénoliques de *l'Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla* a été effectuée selon la méthode décrite par Markham (1982). Il s'agit d'un double macération, 100g de la matière végétale des deux plantes est recouvert par 850 ml de méthanol et 150 ml eau distillée (85/15 %). Le mélange a été macéré pendant 24 heures avec une agitation douce, ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat récupéré a été conservé à 4 °C alors que le marc a été soumis à une deuxième macération dans un solvant préparé avec 1 litre de méthanol/eau distillée selon le rapport (1:1) correspondant de 50 % du méthanol avec 50 % eau distillée pendant 4 h sous agitation, puis filtrer. Le deuxième filtrat a été mélangé avec le premier. La solution obtenue a été évaporée sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif qui permet l'élimination complète du solvant.

Les extraits obtenus ont été séchés dans une étuve à une température 40°C afin d'obtenir une poudre fine qui représente l'extrait brut et conservés au réfrigérateur à 4°C dans des flacons en verres sombres et étiquetés jusqu'à son utilisation (**Figure 6**).

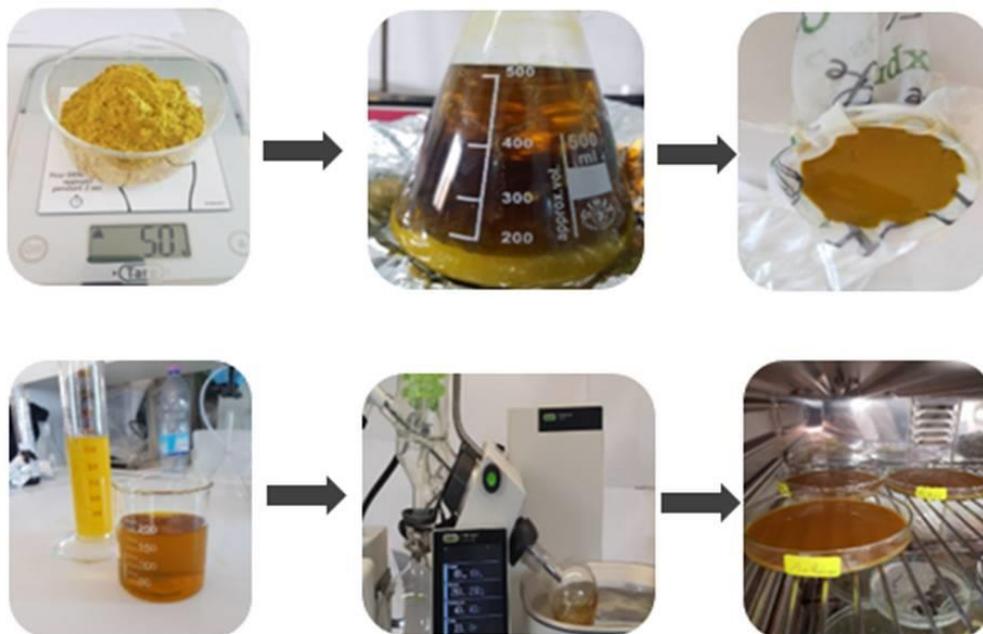


Figure 6 : les étapes de l'extraction des composés phénoliques.

#### Calcul du rendement de l'extraction :

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage R (%) du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

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

- ✓ M : masse de l'extrait brut obtenue (en g).
- ✓ Mt : masse du matériel végétal à traiter (en g).

### II.2.3 Analyses phytochimiques

Le taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans les extraits a été évalué par la méthode de Folin-Ciocalteu (Lister et Wilson, 2001), et par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (Dewanto et al., 2002) respectivement.

#### II.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux des extraits d'*Anthimus pedunculata* et de *Matricaria chamomilla* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Lister et Wilson. (2001). 200 µl de chaque extrait ou standard sont ajoutés à 1 ml du Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois), après agitation et 04 min d'incubation à une température ambiante, 800 µl du

carbonate de sodium (75 g/l) sont ajoutés à la solution précédente. Après 2 heures d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (20-160 µg/ml) et exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EAG / g E).

### II.2.3.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits bruts a été mesurée selon la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium décrite par Dewanto et al (2002), en utilisant la quercétine comme standard.

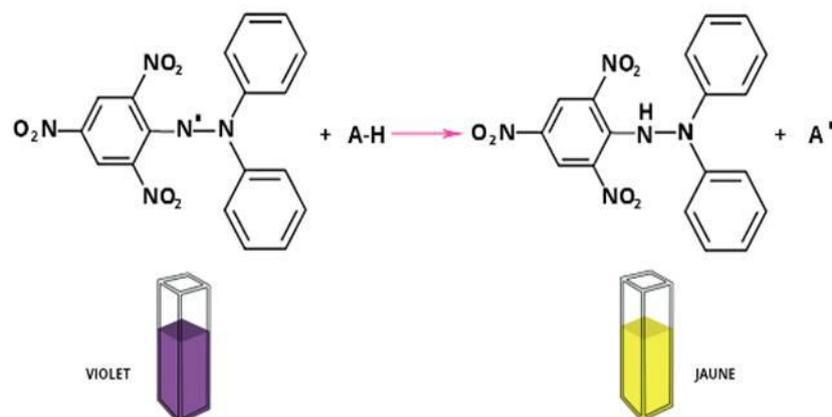
Le mélange réactionnel est préparé par l'addition de 1ml de chaque extrait à 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 430 nm. La même procédure est répétée pour la solution standard de la quercétine. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg équivalent de quercétine /g d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercétine.

### II.2.4 Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante des deux extraits a été évaluée par trois méthodes : test DPPH, pouvoir réducteur et pouvoir Chélateur du fer ferreux.

#### II.2.4.1 Effet scavenger du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire des deux plantes a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Ce test repose sur la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) par sa décoloration de couleur violette foncée en couleur jaunâtre due à sa réduction en présence de capteurs des radicaux libres.



**Figure 7** : Réduction du DPPH.

Ce test consiste à incuber 50  $\mu$ l de chacune des différentes concentrations des extraits et de standard avec 1.25 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 % pendant 30 minutes, les absorbances ont été enregistrées à 517 nm (Boumerfeg et al., 2012). Les résultats obtenus ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits de *Matricaria chamomilla* et *Anthemis pedunculata* a été calculé comme suit :

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

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

**AE** : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

#### II.2.4.2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur de fer est la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe ferricyanure de potassium (de couleur jaune) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) induisant à la formation d'un complexe de couleur bleue mesurable à 700 nm (Blasovics et al., 2003; Jayanthi et Lalitha, 2011).

La capacité réductrice de l'extrait est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986). Ce test consiste à réagir 200  $\mu$ l de chaque extrait à différentes concentrations avec 200  $\mu$ l d'une solution tampon phosphate (0,2 M. pH 6,6) et 200  $\mu$ l d'une solution de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite 200  $\mu$ l d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% est ajouté pour stopper la réaction, et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un volume de 400  $\mu$ l de

surnageant est combiné avec 400 µl d'eau distillée et 80 µl d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. La lecture de l'absorbance a été faite à 700 nm contre un blanc semblablement préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (BHT) dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et al., 1965).

#### II.2.4.3 Chélation du Fer ferreux

La capacité chélatrice de *Matricaria chamomilla* et de *Anthimus pedunculata* est déterminée selon la méthode de Le et ses collaborateurs. (2006), qui est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe (II)- Ferrozine. Ce test consiste à mélanger un volume de 250µl des extraits des deux plantes avec différentes concentrations avec 450 µl du méthanol et 50 µl FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM), après 5 min d'incubation, un volume de 50µl de ferrozine est ajouté (5mM), le mélange est incubé pendant 10 minutes à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 562 nm, l'EDTA est utilisé comme un contrôle positif.

L'activité chélatrice est exprimée selon l'équation ci-dessous :

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

**Ac** : absorbance du contrôle.

**At** : Absorbance du test.

#### II.2.5 Activité anti-inflammatoire *in vitro* (dénaturation de BSA)

Cette technique est basée sur la capacité des extraits à réduire la dénaturation thermique du BSA (Sérum D'Albumine Bovine) (Habibur et al., 2012). La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires et arthritiques, aboutissant à la production d'auto-antigènes (Williams et al., 2008)

Ce test consiste à réagir 0.05 ml de chaque concentration d'extrait, avec 0.45ml de BSA (2 %), les tubes sont incubés à 37C° pendant 20 min à l'étuve, puis placés dans un bain marie à 57C° pendant 30 min. Après refroidissements, 2.5 ml du PBS a été ajouté à chaque

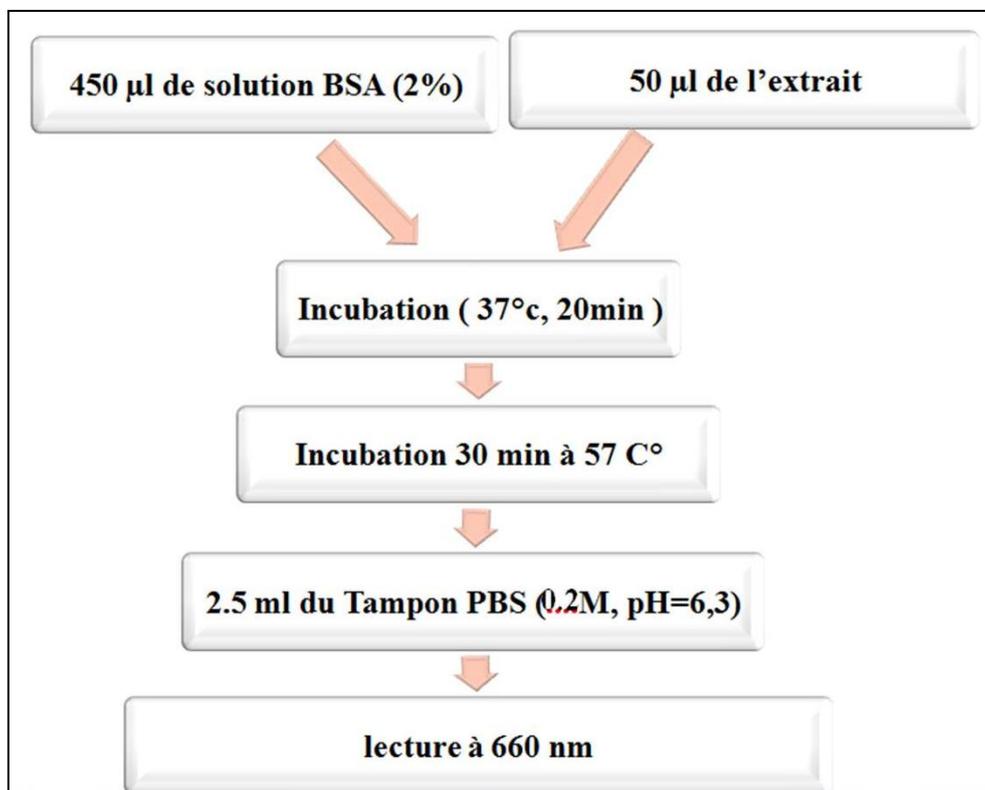
tube, la turbidité est mesurée à 660 nm. Le standard utilisé est le Diclofénac de sodium dans les mêmes conditions que les extraits (**Figure 8**).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \frac{AbsC - AbsT}{AbsC} \times 100$$

*AbsT* : absorbance test

*AbsC* : absorbance contrôle



**Figure 8** : Schéma illustratif de l'activité anti-inflammatoire.

### II.2.6 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des deux extraits des deux plantes a été testée selon la méthode décrite par Rahal (2005) contre Cinq souches bactériennes ATCC (deux bactéries à Gram positif et trois souches à Gram négatif pathogènes pour l'homme), la Gentamicine est utilisée comme antibiotique de référence. Cette activité est effectuée par la méthode des puits de diffusion sur la gélose.

L'effet antibactérien des deux extraits est examiné en utilisant le milieu Mueller-Hinton (MH) car c'est le milieu approprié pour le développement des bactéries.

Avant de commencer l'activité, une étape de stérilisation et d'autoclavage du matériel à 121°C pendant 15 minutes est enregistré (L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les embouts jaunes et bleus enrobés dans du papier aluminium).

Le milieu est coulé dans des boîtes pétries stériles avec une épaisseur de 4mm et laissé pour 30 min avant l'utilisation (20ml de MH correspond 4mm d'épaisseur).

Quatre concentrations de chaque extrait sont préparées dans le DMSO (500,300, 150 et 75 mg/ml). Les bactéries sont cultivées sur la gélose Mueller Hinton (MH) 18 h avant d'entamer l'expérience, ensuite une ou plusieurs colonies de chaque culture pure de ces bactéries sont prélevées et transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (NaCl 0.9 %), afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité équivalente à 0.5 Mc Farland, ce qui est traduit par une absorbance comprise entre 0.08 et 0.1 à 625 nm (Falleh et al.,2008).L'inoculum est ajusté en ajoutant, soit de la culture bactérienne, s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. A partir de cet inoculum, les souches bactériennes sont étalées par écouvillonnage (un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne et chargé au maximum), sur la totalité de la surface gélosée en stries serrés sur le milieu Mueller Hinton dans des boîtes de Pétri (Rahal., 2005).

---

### II.2.6.1 Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

Une fois l'ensemencement est effectué, la gélose est perforée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et coupée afin d'obtenir des puits de 6 mm de diamètre, et remplis par 50  $\mu$ L de chaque extrait en quatre concentrations (500, 300, 150 et 75mg/ml), Ensuite les boites sont placées au réfrigérateur 2 h pour éviter l'écoulement de l'extrait. Les boites sont ensuite incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 heures. L'effet inhibiteur se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions produites et exprimées en millimètres (Ismail et al., 2008).

Selon la méthode de Cooper et Woodman (1946) qui consiste à étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antibactérien, elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire.

### II.3 Analyse statistique

Les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (SD). La méthode d'analyse des échantillons a été utilisée pour évaluer la différence entre les moyennes en utilisant une analyse de variance one way (ANOVA) suivi par TUKEY ( $p \leq 0.001$ ). Une régression linéaire a été effectuée pour déterminer la concentration inhibitrice de 50 % (IC<sub>50</sub>) dans chaque test. La différence entre les groupes expérimentaux et témoins a été déterminés en utilisant Graph Pad Prism ® version 7.0

# **Résultats et discussion**

### III. Résultats et discussion

#### III.1 Extraction des composés phénoliques

Afin d'obtenir un extrait brut à partir de la poudre des fleurs *Matricaria chamomilla* et *Anthemis pedunculata*, une extraction par macération hydro-méthanolique a été réalisée selon la méthode de Markham (1982), qui consiste à une double macération pendant 24 h suivie de 4 h. L'extraction des composés phénoliques a permis d'obtenir des résidus secs des extraits bruts sous formes de cristaux. Chaque extrait est caractérisé par son aspect, sa couleur et son rendement.

Le rendement obtenu de l'extraction hydro-methanoliques est exprimé en pourcentage (%) par rapport au poids sec de la poudre végétale. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Rendement d'extraction des deux plantes

Extrait	Rendement (%)
<i>Anthemis pedunculata</i> E.AP	24
<i>Matricaria chamomilla</i> E.MC	18.66

Au regard des résultats illustrés dans le tableau IV et **figure 10**, on constate que le rendement obtenu dans *l'Anthemis pedunculata* (E.AP) est de 24%, cette valeur est supérieure à celui trouvé dans *Matricaria chamomilla* (E.MC) qui a été estimé à 18.66 %.

Par comparaison avec les résultats obtenus par Al-debagh et al.(2019) sur la même plante, le rendement de l'extraction éthanolique de *M. chamomilla* est 13.51%, ce pourcentage est très proche de nos résultat. Dans une autre étude réalisée par Hadj mohamed et al.(2021) sur la même espèce originaire de Tunisie, utilisant les capitules secs en poudre macérés dans l'eau tiède pendant 48 h, le rendement de l'extrait aqueux est de l'ordre de 1,3%.

La plante *A. pedunculata* est avérée riche en métabolites secondaires, comme il n'y a pas d'études sur l'extrait brut de cette plante, Laouer el al (2014) ont déterminé que le rendement en huile essentielle de *l'A.pedunculata* récoltée de la région de Megress (Sétif) était de 0.10%.

D'après ces résultats, le rendement d'extraction dépend de la région et de la saison de récolte, la durée et les conditions de stockage, mais aussi de la méthode d'extraction, la nature du solvant et la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre. Ou l'extrait hydro-méthanolique de l'*A.pedunculata* de la région de Bordj présente le rendement le plus élevé tandis que celui de la *Matricaria chamomilla* de la région d'Elkala présente un faible rendement.

En outre, de nombreux facteurs influencent le rendement tels que la teneur en polyphénols, les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique de la plante, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et la zone de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal (El oualilalami et al., 2013).

## III.2 Caractérisation phytochimique

### III.2.1 Dosage des polyphénols

Les propriétés biologiques des plantes sont généralement attribuées à leurs teneurs en composés phénoliques, particulièrement aux flavonoïdes et aux tanins (Santos-Sanchez et al., 2014 ; Pavun et al.,2018). La détermination de ces teneurs dans les extraits de plantes apparaît donc comme un indicateur de leurs activités biologiques.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard. La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 09**), qui est exprimé en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g E).

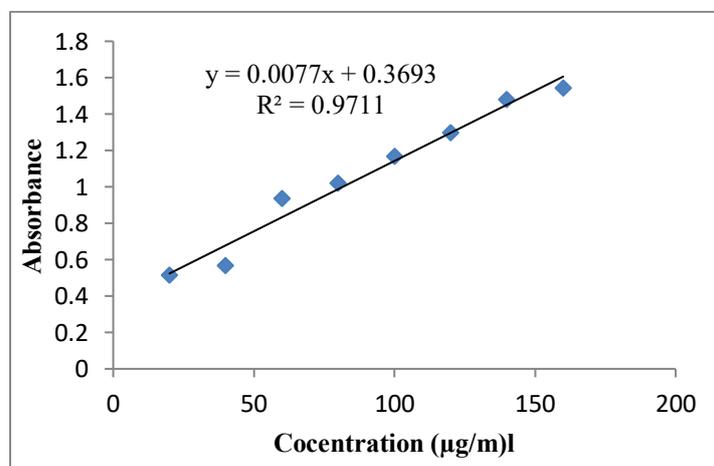


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats (**Tableau V**) ont montré que les deux plantes *Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla* sont riches en composés phénoliques, comme ils affichent le même pourcentage malgré la différence de région, où l'E.AP renferme la teneur ( $32.95 \pm 1.56$  mgEAG/g), et l'E.MC a une teneur de  $29.28 \pm 4.59$  mg EAG/g ext.

**Tableau V** : la teneur en polyphénols des deux extraits

Extrait	Teneur en polyphénols (EAG/g)
<i>Anthemis pedunculata</i>	32.95
<i>Matricaria chamomilla</i>	29.28 <sup>ns</sup>

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$ SD (n=3) (\*\*\*)  $P \leq 0.001$

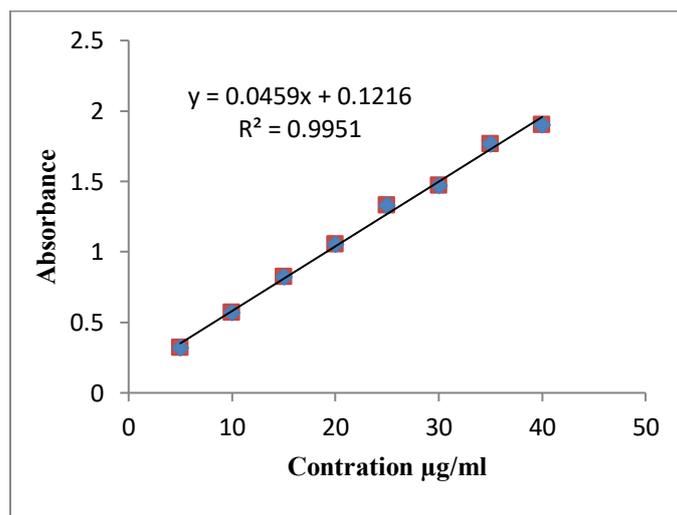
Il est important de souligner que la plante *Matricaria chamomilla* est très riche en polyphénols en comparaison aux études menées par Hajjaj et ses collaborateurs. (2019), dont la teneur en polyphénols est  $19.62 \pm 0.26$  mg EAG/g et qui est inférieure à nos résultats. Des résultats proches ont été notés par Al dabagh (2019) par extraction éthanolique de *Matricaria chamomilla* ( $21.4 \pm 0.327$  mg EGA/g).

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par Sotiro poulou et al (2020) qui ont adopté la décoction à température  $80\text{C}^\circ$  comme méthode d'extraction de la plante *M.chamomilla*, on peut dire que l'EMC trouvé dans cette étude a une teneur plus élevée que son extrait aqueux, qui a été estimé par une valeur de 0.165 mg EGA/gE. D'après constatation, l'extrait hydro-méthanolique est plus riche en polyphénols que l'extrait aqueux, probablement due à la solubilité relative des polyphénols présents dans l'*Anthemis pedunculata* et la *Matricaria chamomilla* dans le méthanol et l'eau respectivement.

En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une plus haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh et al., 2008). D'ailleurs, la méthode de macération à température ambiante sous agitation douce permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants.

### III.2.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), la quercétine est utilisée comme standard. La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la quercétine (**Figure10**), et exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par 1g d'extrait (mg EQ/gE).



**Figure 10** Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats (**Tableau VI**) montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les deux extraits avec statistiquement aucune différence entre les deux plantes. L'E.AP a une teneur en flavonoïdes ( $15.85 \pm 0.32$  mg EQ/g E), tandis que dans L'E.MC la teneur est un peu basse ( $10.47 \pm 2.98$  mgEQ/g E). Donc les deux plantes sont plus riches en flavonoïdes et en polyphénols.

**Tableau VI:** Teneur en Flavonoïdes des deux extraits

Extrait	Teneur en Flavonoïdes (mgEQ/g)
<i>Anthemis pedunculata</i> EAP	15.95
<i>Matricaria chamomilla</i> EMC	10.47 <sup>ns</sup>

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$ SD (n=3) (\*\*\*) P $\leq$ 0.001)

La teneur en flavonoïdes obtenue de l'extrait hydro-méthanolique du *Matricaria chamomilla* a manifesté une teneur plus faible que celle de l'extrait méthanolique de Seddik et al (2013) qui est égale à  $35.16 \pm 0.028$  µg EQ/gE, tandis qu'une autre étude menée par Hajaj (2017) en utilisant un extrait aqueux, a révélé que la même espèce contenait une teneur proche des flavonoïdes totaux ( $17.2 \pm 0.34$ ).

Plusieurs études ont été faites sur la *Matricaria chamomilla* contrairement à *l'Anthemis pedunculata*, qui a peu de travaux concernant les polyphénols et les flavonoïdes. Belhaoues et al (2020) ont rapporté que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait aqueux d'une autre espèce d'*Anthemis (Anthemis praecox)* est de l'ordre de :  $39.65 \pm 1.98$  mg EGA/gE et de  $2.28 \pm 0.07$   $\mu$ g EQ/gE respectivement, il reste l'extrait hydrométhanolique d'*Anthemis pedunculata* possède la meilleure teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

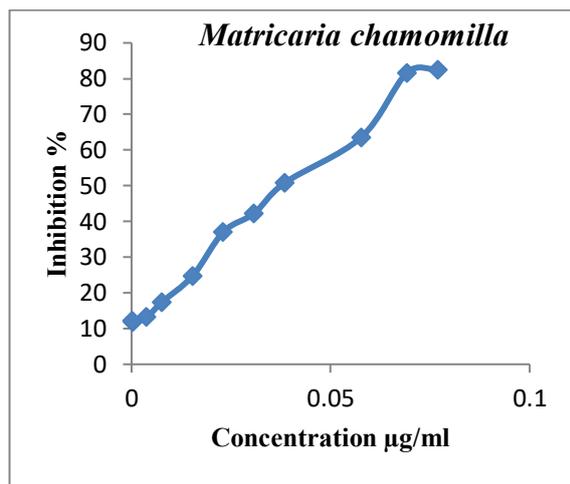
### III.3 Evaluation de l'activité antioxydante

L'utilisation de plusieurs méthodes analytiques complémentaires est recommandée pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante d'un extrait. Il existe plusieurs méthodes spectrophotométriques de détermination de l'activité antioxydante. Parmi les tests courants utilisés à cet effet sont : test DPPH, pouvoir réducteur de fer (FRAP) et chélation des ions de Fer.

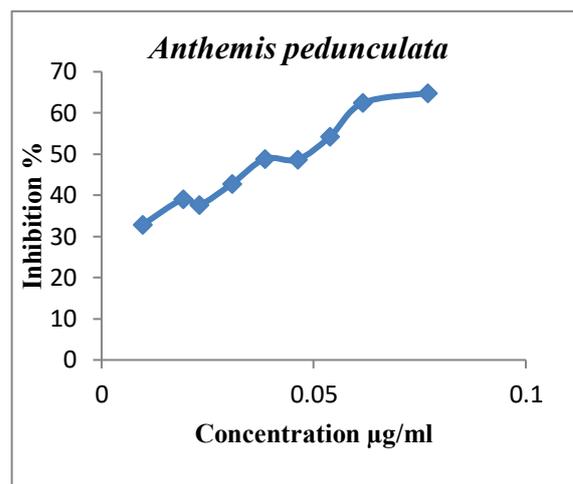
#### III.3.1 Test DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre, qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La caractéristique de la solution de DPPH est la couleur violette. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu et la mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une réduction des radicaux DPPH, mesurable par un spectrophotomètre à 517 nm (Sirivibulkovit et al., 2018).

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits à partir des équations des régressions linéaires des graphes permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition ( $IC_{50}$ ). Une faible valeur d' $IC_{50}$  correspond à une grande efficacité de l'extrait (**Figure 11 et 12**)



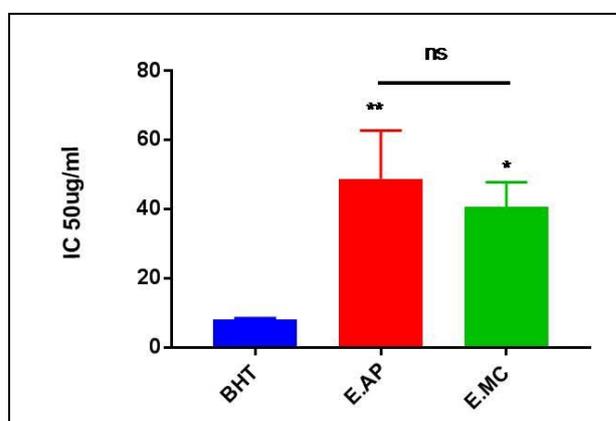
**Figure 12** Activité antiradicalaire de *Matricaria chamomilla*



**Figure 11** Activité antiradicalaire d'*Anthemis pedunculata*

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante des deux extraits est exprimé en  $IC_{50}$ . Les résultats montrent que les deux extraits possèdent une activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH avec une différence significative avec le standard (BHT).

Les deux plantes ont montré le même effet sur l'inhibition du radical DPPH, aucune différence n'est observée entre les deux extraits avec des  $IC_{50} = 40.69 \pm 0.005 \mu\text{g/ml}$  pour l'E.MC,  $IC_{50} = 48.77 \pm 0.013 \mu\text{g/ml}$  pour l'E.AP. Ces valeurs d' $IC_{50}$  sont significativement supérieures à celle du BHT qui a un  $IC_{50}$  de l'ordre de  $8.15 \pm 0.0002 \mu\text{g/ml}$ , ces résultats restent faibles par rapport au standard **Figure 13**



**Figure 13** Activité antiradicalaire des deux extraits et le standard BHT

Les travaux de Niknam et al (2021) montrent que l'extrait brute de *Matricaria chamomilla* a un effet de piégeage considérable du radical DPPH avec  $IC_{50} = 84.2 \mu\text{g/ml}$ , mais ce potentiel est faible en comparaison avec le BHT ( $IC_{50} = 7.8 \mu\text{g/mL}$ ).

Dans une autre étude réalisée par Hajjaj (2017), l'extrait aqueux de la plante *Matricaria chamomilla* a inhibé le radical par une  $IC_{50}$  de  $72.37 \pm 0.89 \mu\text{g ml/l}$ . Egalement Bardaweel et ses collaborateurs. (2014) ont déduit que l'huile essentielle de l'*Anthemis palestinaa* une bonne activité anti-radicalaire vers le DPPH avec des pourcentages d'inhibition de 13%, 27%, 40% et 63% pour les concentrations : 10, 25, 50 et 100  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

Sur la base de ces résultats, nous avons conclu que l'effet scavenger augmente avec l'augmentation de la concentration des polyphénols dans l'extrait. Ce qui suggère que l'effet antioxydant de l'extrait de plante est lié à la quantité de polyphénols présents. Cette hypothèse est confirmée par plusieurs chercheurs (Jayaprakash et al., 2007 ; Agbor et al., 2007 ; Hodzic et al., 2009).

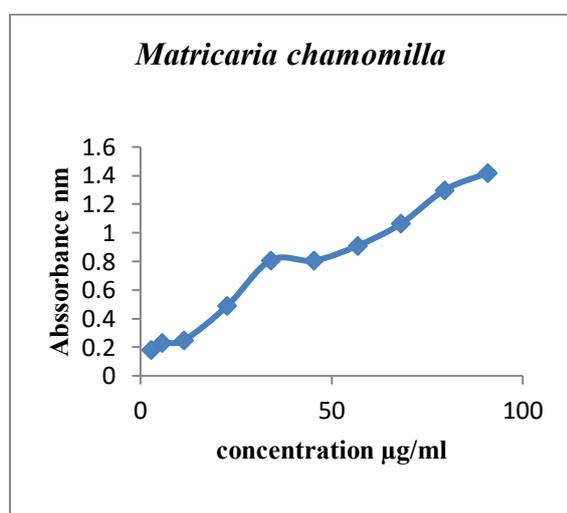
D'après Turkmen et al (2005), cette activité pourrait être reliée à sa richesse en flavonoïdes qui semblent être des donneurs d'hydrogène efficaces pour le radical DPPH, en raison de leur structure chimique idéale, de plus, ses études ont rapporté une corrélation positive entre les composés antioxydants et les activités antioxydantes dans les parties de la plante, (par exemple, les fleurs, fruits, feuilles, graines) et leurs extraits.

Les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes, capables de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène et le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurelle de l'antioxydant et du nombre de radicaux. L'antioxydant, et le nombre de groupes OH des structures des flavonoïdes peuvent influencer les différents mécanismes antioxydants. (Guignard, 1994)

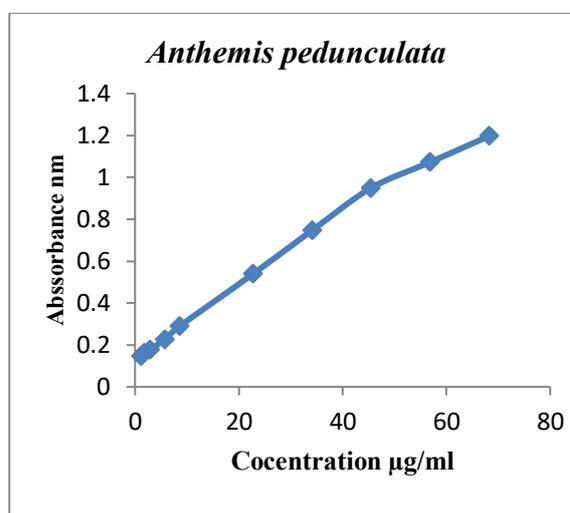
Enfin, cette étude montre que le potentiel antioxydant de radicaux libres de la plante *Matricaria chamomilla* et *Anthemis pedunculata* pourrait être considérée comme une source d'antioxydants naturels.

### III.3.2 Pouvoir réducteur

C'est une méthode de mesure du pouvoir des échantillons analysés à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ , avec le don d'un électron, cette réaction se manifeste par le changement de la couleur jaune du milieu réactionnel en vert, dont son intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique un extrait avec un grand pouvoir réducteur. Le pouvoir réducteur est l'un des mécanismes antioxydants qui est fréquemment utilisé en laboratoire. C'est une technique rapide, facile et reproductible. De nombreux auteurs ont constaté que la capacité réductrice d'un composé peut être considérée comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Figure 14 , 15).

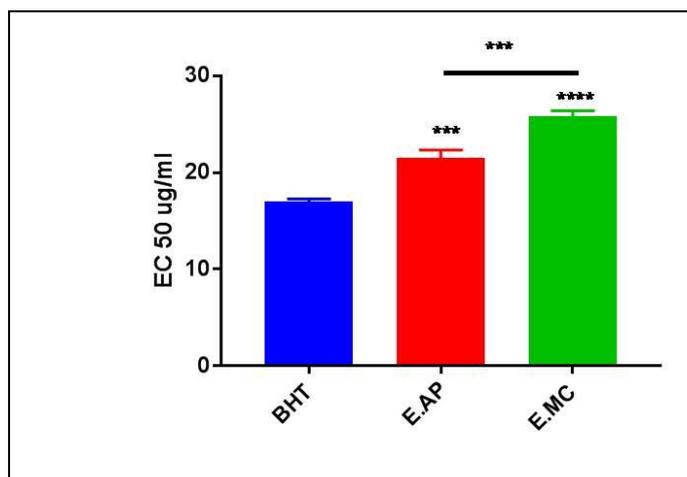


**Figure 15** Pouvoir réducteur de l'extrait *M.chamomilla*



**Figure 14** Pouvoir réducteur de l'extrait *A.pedunculata*

Les valeurs d' $EC_{50}$  obtenues dans ce test montrent que la capacité réductrice des deux extraits est pas loin à celle de BHT ( $EC_{50}= 17.00 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$ ), et que le pouvoir réducteur de l'extrait l'E.AP présente une  $EC_{50}$  de l'ordre de  $21.50 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$ , ce qui prouve que cet extrait est plus puissant que l'E.MC qui présente une valeur d' $EC_{50}=25.77\pm 0.63 \mu\text{g/ml}$  (\*\*\*)  $P \leq 0.001$ ) (Figure 16). Ce qui prouve sa capacité de neutraliser les radicaux libres. Bien que ces valeurs d' $EC_{50}$  soient supérieures à celles de BHT mais cette activité reste inférieure à ce standard ( $EC_{50}= 17.00 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 16** EC<sub>50</sub> des deux extraits et du BHT

Il existe une corrélation entre la teneur en polyphénols, flavonoïdes et l'activité réductrice des extraits. L'E.AP qui est plus riche en polyphénols, possède une meilleure activité. Cette activité peut être classée selon l'efficacité de la réduction du fer : BHT > E.AP > E.MC.

Plusieurs travaux sur l'activité du pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* sont faits avec la méthode de Benzie et Strain.(1996), où les résultats ont été exprimés en millimoles de (Fe<sup>++</sup>) par gramme d'extrait, comme les travaux de Niknam et al.(2021) sur l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* qui ont eu un faible pouvoir réducteur avec la valeur de 13 mmol Fe<sup>+2</sup>/100g, par rapport à la BHA et la vitamine E qui ont des valeurs de 880 et 313mmol Fe<sup>+2</sup>/100g respectivement.

Tandis que les travaux de Farhoudi (2013) sur l'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* ont démontré que l'EC<sub>50</sub>est égal à 26.7 µg /ml, cette valeur est très proche du résultat obtenu par l'extrait hydro-methanolique.

Bardaweel et al.(2014) ont prouvé que l'huile essentielle de l'*Anthemis palestina* a une activité réductrice modérée avec une capacité de réduction le Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup> de 65% pour la concentration de 100 µg/ml, par rapport à l'acide ascorbique avec 89% pour la même concentration.

Des études précédentes ont montré qu'il existe une relation directe entre l'activité antioxydante et le pouvoir réducteur de certains extraits de plantes (Ghedadba et al., 2015).

### III.3.3 Activité chélatrice

Dans ce test, les extraits ont interféré avec la formation de complexes de fer ferreux et de Ferrozine, ce qui suggère qu'ils ont une activité chélatrice et qu'ils sont capables de capter l'ion ferreux avant la Ferrozine (Amamra et al.,2018).

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits présentent une activité chélatrice faible à modérée, cela se traduit par une différence hautement significative entre eux, comme la valeur d'IC<sub>50</sub> la plus faible est enregistrée dans l'E.AP (IC<sub>50</sub>= 26.50 ±0.009 µg/ml), l'E.AP possède un pouvoir chélateur très puissant, en comparaison de celui de l'EMC(IC<sub>50</sub>=82.95± 0.001µg/ml) (Figure 17 ,18) De plus, il n'existe pas une différence significative entre l'E.AP et le standard EDTA.L'E.AP présente un effet important similaire à celui de ce standard (IC<sub>50</sub>= 6.05 ± 7.06 µg/ml) Figure 19

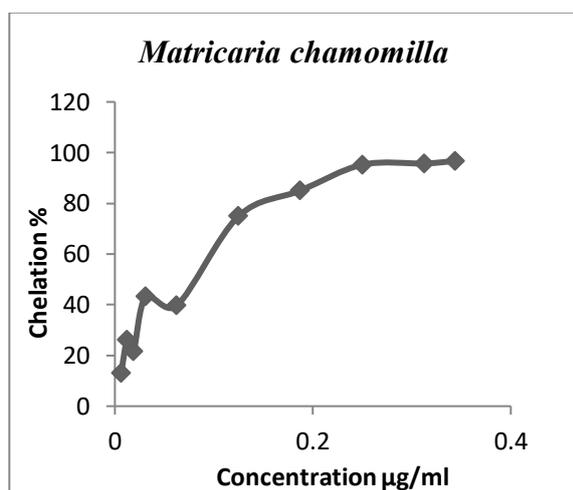


Figure 17 Activité chélatrice de l'extrait *M.chamomilla*

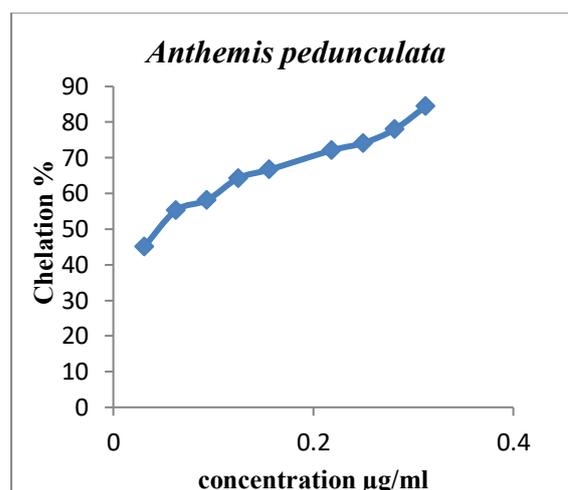
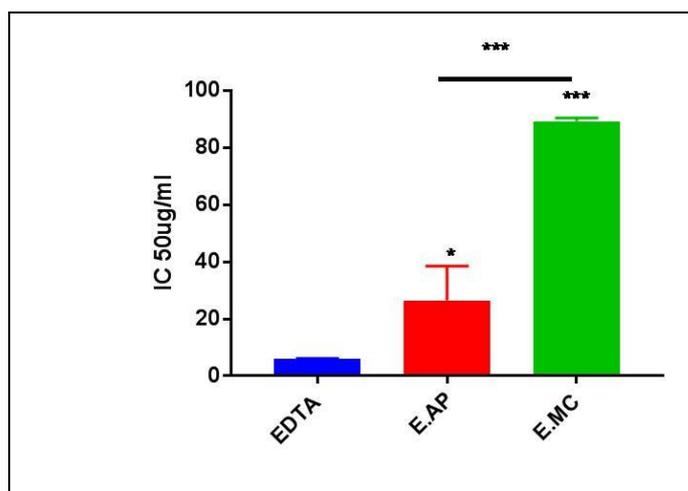


Figure 18 Activité chélatrice de l'extrait *A.pedunculata*



**Figure 19** Activité chélatrice des deux extraits et du standard EDTA

Des recherches faites par Mahdavi et ces collaborateurs (2019) sur l'huile essentielle du *Matricaria chamomilla*, ont montré que la valeur d'IC<sub>50</sub> est égale à  $1448.68 \pm 14.56 \mu\text{g/ml}$ , cette valeur est très élevée par rapport à nos résultats, cela signifie que l'huile essentielle du *Matricaria chamomilla* a un effet chélateur très faible par rapport à l'extrait hydro-méthanolique.

D'après les résultats, les deux extraits des deux plantes ont exercé un effet chélateur des métaux de transition, en capturant les ions ferreux, avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine. Comme l'E.AP, contenant la teneur la plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes, celui-ci était le plus actif. Cela laisse penser qu'il y'a une forte corrélation linéaire entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité chélatrice d'une manière similaire à celle enregistrée avec l'EDTA, qui est une molécule pure caractérisée par une structure unique, lui permettant de chélater les ions de fer dans le centre et bloquer la formation du complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -Ferrozine (Amamra et al.,2018).

#### III.4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaires à des stimuli nuisibles, tels que des agents pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Il s'agit d'une tentative de protection de l'organisme visant à éliminer ces stimuli nuisibles et à lancer le processus de guérison du tissu (Vetriselvan et al.,2013). Les anti-inflammatoires disponibles dans le commerce comme les stéroïdiens, les non-stéroïdiens (AINS) et les corticostéroïdes à forte dose ou en usage prolongé peuvent provoquer certains effets secondaires ou indésirables graves et non désirés, notamment ostéoporose, aggravation des

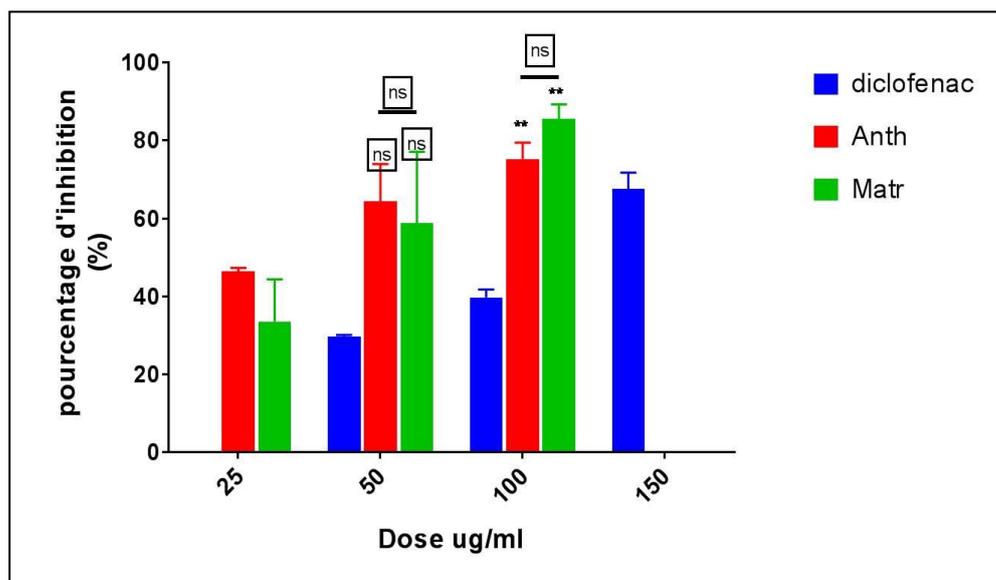
ulcères, infections graves, etc. Par conséquent, le développement et la mise en place de médicaments anti-inflammatoires non-toxiques ainsi que des médicaments anti-inflammatoires plus puissants et plus rentables qui peuvent favoriser une réduction du processus d'inflammation sont toujours nécessaires. Le but de cette étude est de dépister la capacité des extraits à protéger l'albumine bovine contre la dénaturation induite par la chaleur. Cependant, afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de ces extraits, une dénaturation de sérum d'albumine bovine (BSA) est induite *in vitro*, la capacité anti-inflammatoire d'un extrait est traduite par sa capacité à inhiber la dénaturation thermique de BSA et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (**Tableau VII**).

**Tableau VII** : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA

	Concentration	Inhibition %
Diclofenac	<b>50 µg/ml</b>	<b>16.17</b>
Diclofenac	<b>100 µg/ml</b>	<b>28.52</b>
Diclofenac	<b>150 µg/ml</b>	<b>35.29</b>
E.AP	<b>25 µg/ml</b>	<b>47.67</b>
E.AP	<b>50 µg/ml</b>	<b>64.41</b>
E.AP	<b>100 µg/ml</b>	<b>75.29</b>
E.MC	<b>25 µg/ml</b>	<b>33.52</b>
E.MC	<b>50 µg/ml</b>	<b>58.82</b>
E.MC	<b>100 µg/ml</b>	<b>85.58</b>

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$ SD (n=2)(\*\*\* P $\leq$  0.001)

Les deux extraits ont été capables d'inhiber la dénaturation des protéines de manière dose-dépendante. L'effet inhibiteur de différents extraits à différentes concentrations sur la dénaturation des protéines est montré dans la **Figure 20**. Le Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'E.AP était compris entre 47.67 % à 75.29 % et de l'E.M.C était compris entre 33.52 % à 85.58 %, en utilisant des concentrations variantes entre 25 et 100 µg/ml.



**Figure 20** L'effet des deux extraits et de standard sur l'inhibition de la dénaturation des protéines

Les résultats illustrés dans le tableau VII ont montré aucune différence significative entre les deux extraits des deux plantes (75.29% pour EAP et 85.58% pour EMC), mais une différence moyennement significative par rapport au standard à la concentration 100  $\mu\text{g/ml}$ , qui inhibe la dénaturation du BSA par un pourcentage de 28.52 % à la même concentration. On peut dire que les deux extraits sont capables d'inhiber la dénaturation des protéines et leurs effets étaient comparables au médicament standard. Cette différence est attribuée à son efficacité comme des anti-inflammatoires.

Ces effets sont peut-être dus à la présence de principes actifs dans les extraits, certainement les polyphénols et les flavonoïdes, qui attribuent à la préservation du profil tridimensionnel des protéines en contrôlant la production des auto-antigènes (Kaddour et al., 2020).

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien connues de l'inflammation et conduit à diverses maladies inflammatoires dont l'arthrite. C'est une voie par laquelle les protéines perdent leurs structures à la suite d'une modification des liaisons d'hydrogène, hydrophobes, électrostatiques et disulfure. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Leelaprakash., 2011). La majorité des protéines perdent leurs activités

biologiques consécutives à la dénaturation et provoquent la génération d'auto-antigènes, conduisant à une série de dysfonctionnements auto-immuns, tels que les troubles inflammatoires et rhumatoïdes. Cette agrégation est induite par l'application d'un stress externe ou d'un ou de composés tels qu'un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou la chaleur. Ainsi les médicaments qui inhibent la dénaturation des protéines sont considérés comme des agents anti-inflammatoires essentiels. L'un des principaux mécanismes d'action des AINS est la protection contre la dénaturation des protéines (Gunathilake et al., 2018), C'est la raison pour laquelle le diclofénac est utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

De nombreux composés phénoliques d'origine végétale, notamment les flavonoïdes, possèdent des effets anti-inflammatoires (Hajjaj et al., 2013). Les flavonoïdes sont connus pour cibler la prostaglandine, qui est impliquée dans la phase tardive de l'inflammation.

D'après Hamon et ses collaborateurs. (1989), ceux-ci ont démontré que la plante *Matricaria chamomilla* contient de nombreux constituants chimiques tels que les flavonoïdes ; épigénine, la quercétine et la lutéoline, qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires avec une activité inhibitrice sélective de la COX2 bien définie et qui induisent un effet antidouleur.

Selon les résultats de la présente étude, on peut conclure que les fleurs des deux plantes *Matricaria chamomilla* et *Anthemis pedunculata* ont un effet anti-inflammatoire qui soutient l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour le traitement des maladies apparentées, et qui peut être utilisé comme alternative aux anti-inflammatoires synthétiques

### III.5 Activité antibactérienne

La recherche de nouvelles plantes médicinales possédant une activité antibactérienne fait l'objet de plusieurs recherches, à cause de leurs extraits qui contiennent des activités antibactériennes, et qui peuvent être probablement des agents compétents contre la résistance bactérienne (Alkuraishy et al., 2015). La présente étude a pour but de tester le comportement des différentes souches bactériennes, vis-à-vis d'extraits de deux plantes et d'antibiotique. Pour cela l'activité antibactérienne des deux extraits hydro-méthanolique est testée vis-à-vis des cinq souches bactériennes pathogènes via la méthode de diffusion par puits dans un milieu Mueller Hinton.

Le pouvoir antibactérien a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits et des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis des bactéries à : Gram- : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603 et *Escherichia coli* ATCC25922 et Gram+ : *Bacillus cereus* ATCC14579, *Staphylococcus aureus* ATCC25923

La Gentamicine est utilisée comme antibiotique de référence, et le DMSO comme témoin négatif.

### III.5.1 Activité antibactérienne par puits

D'après les résultats obtenus dans le **tableau VIII**, Les souches bactériennes étudiées sont toutes sensibles à la gentamicine (antibiotique de référence) avec des zones d'inhibition variées, dont la sensibilité varie en fonction du diamètre d'inhibition, où les souches (*B.cereus*, *K .pneumoniae* et *S. aureus*) se sont avérées extrêmement sensibles à cet antibiotique avec une zone d'inhibition de 28, 24, 23 mm respectivement, alors que les deux souches (*P. aeruginosa* et *E. coli*) se sont révélées très sensibles par des zones d'inhibitions de: 19 et 17mm respectivement. Cependant, le solvant de dissolution des extraits (DMSO) est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes

**Tableau VIII** : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des deux extraits, de DMSO et d'antibiotique

L'extrait mg/ml Souche Bactérienne	E.AP				E.MC				DMSO	Gentamicine
	500	300	150	75	500	300	150	75		
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>19</b> ++
<i>B.cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b> +++
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	-	-	<b>19±0.4</b> ++	<b>15±0.5</b> ++	<b>13±0.3</b> +	<b>10±1.3</b> +	-	<b>23</b> +++
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	<b>17.5±0.5</b> ++	<b>17±0.9</b> ++	<b>14±0.1</b> +	<b>10±1.5</b> +	-	<b>17</b> ++
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>24</b> +++

Chaque valeur représente la moyenne ±SD (n=3)

Konan et al. (2014) ont permis de classer l'activité antibactérienne en quatre classes en fonction des diamètres des zones d'inhibitions, à savoir :

- Non sensible (-) ou résistante diamètre : <7mm
- Sensible (+) : diamètre compris entre 8-14mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15-20 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20 mm.

L'effet antibactérien de l'E.MC s'est avéré beaucoup plus élevé que celui de l'E.AP, qui ne présente aucune activité antibactérienne contre les souches testées. L'E.MC a un effet significatif et variable avec les différentes doses testées contre les deux souches *K. pneumoniae* et *E. coli*, dont les diamètres des zones varient entre 10 mm et 19 mm pour *K. pneumoniae* et entre 10 à 17,5 mm pour *E. coli* de manière dose-dépendante, c'est à dire la concentration élevée de l'extrait reste la plus efficace dans l'inhibition du développement bactérien avec des zones d'inhibitions proches de celles de l'antibiotique. Par contre les souches *P.aeruginosa*, *B.cereus* et *S. aureus* se sont montrées résistantes contre toutes les concentrations de l'extrait.

Par ailleurs la souche *K.pneumoniae* est sensible à toutes les concentrations 75 mg/ml, 150 mg/ml, 300 mg/ml et 500 mg/ml avec des zones d'inhibitions: 10, 13, 15 et 19 mm respectivement, l'*E.coli* est sensible aussi à toutes les concentrations 75 mg/ml, 150 mg/ml, 300 mg/ml et 500 mg/ml avec les zones d'inhibitions: 10, 14, 17 et 17.5 respectivement.

L'activité antibactérienne enregistrée dans cette étude est supérieure à celle obtenue par Hadj mohamed et al. (2021), ces derniers ont prouvé que l'extrait aqueux de la camomille a une activité antibactérienne contre l'*Escherichia coli* avec une zone d'inhibition égale à 13±1mm. Cet effet demeure faible par rapport à celui de la gentamicine, utilisée comme antibiotique de référence, avec les zones d'inhibitions entre 15 et 26 mm, pour toutes les souches testées.

Dans cette étude l'extrait hydro-méthanolique de l'*Anthemis pedunculata* n'a exercé aucun effet antibactérien vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées. Contrairement aux travaux de Laouer et al. (2014), qui ont rapporté qu'il y a une sensibilité de l'*Escherichia coli* et de *S. aureus*, et une résistance de *P.aeruginosa* vis-à-vis de l'huile essentielle extraite de cette plante. Une grande activité antibactérienne contre la souche *S. aureus* a été obtenue avec 3 dilutions (1/2: 45mm , 1/5 :36mm, 1/10 :29mm), contre celle de l'*E.coli* (1/2 :11mm ,

1/5 : 09 mm, 1/10 : 07mm). Ils ont ajouté que les diamètres des zones d'inhibition sont inversement proportionnels à la dilution. D'autres résultats ont aussi démontré que l'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* est active contre les deux souches : *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, lui donnant la possibilité de l'utiliser comme alternative aux produits chimiques pour traiter l'otite externe aiguë (Curty et al., 2014). Cette activité pourrait expliquer que l'huile essentielle est plus riche en constituants responsables de l'activité antibactérienne, tels que les monoterpènes hydrocarbures, terpinènes qui sont dotés d'une grande activité antibactérienne contre les bactéries Gram- et gram + (Oyedeki et al., 2005), ces constituants empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries, et s'insèrent sélectivement sur les lipides de la membrane cytoplasmique afin de perturber sa fonction. Cette insertion entraîne la perte d'électrolytes et la réduction du taux de sucre et d'acides aminés (Chouia et al., 2018).

Ces différences entre les résultats sont probablement dues à la nature de l'extrait préparé (différents types de phénols et présence d'autres molécules bioactives dans l'HE que dans l'extrait brut).

Chouia et al (2018) ont rapporté que l'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactives, les composés moins polaires, tels que les flavonoïdes, sont plus actifs contre les agents microbiens. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins sont des composés produits par les plantes pour se défendre contre les infections microbiennes, ceci est attribué à la formation du complexe entre les tanins et les enzymes des micro-organismes ainsi que les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire, ce complexe rend les protéines inactives, ce qui inhibe la croissance microbienne. D'après Abdalla et Abdelgadir.(2016) l'extrait méthanolique de *M.chamomilla* a une activité contre la souche bactérienne *Escherichia coli* à une concentration de 100mg/ml avec une zone d'inhibition égale à  $17 \pm 2.0$ .

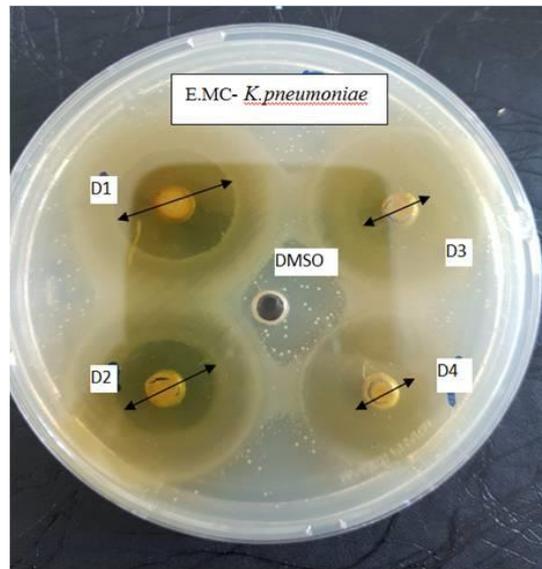
Sur l'ensemble de ces résultats, il ressort que l'activité inhibitrice dépend de la dose de l'extrait.

L'absence de l'activité de l'E.MC contre *Pseudomonas aeruginosa* qui est une bactérie Gram négative, est due à sa membrane externe qui constitue une barrière osmotique efficace, riche en lipopolysaccharides, et sa charge superficielle négative qui empêche la pénétration des molécules (Nikaido et al., 2003).

L'inactivité de l'extrait hydrométhanolique de l'*Anthemis pedunculata* contre quelques bactéries dans cette étude peut être due à la différence de la composition chimique de la même espèce d'une région à une autre, puisque chaque extrait agit d'une manière complètement différente sur la même souche bactérienne (Chouia et al., 2018).

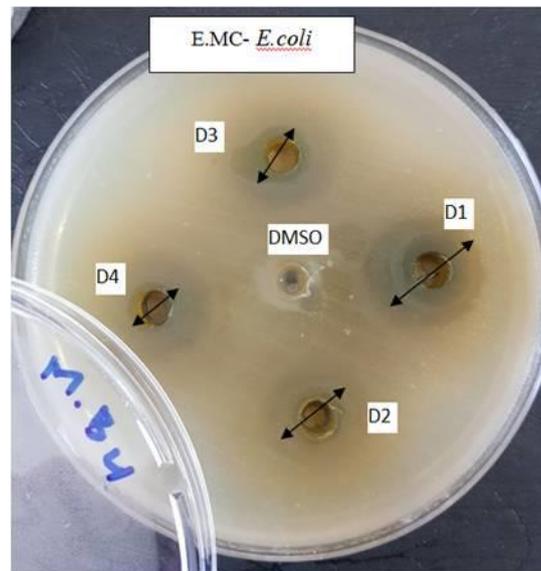
Ces résultats indiquent que la *M. chamomilla* pourrait être utilisée comme un agent antibactérien naturel pour les maladies infectieuses humaines et dans la conservation des aliments. De plus, le développement d'agents antimicrobiens naturels contribuera à diminuer les effets négatifs (pollution de l'environnement, résistance) des produits chimiques synthétiques et des médicaments.

L'effet antibactérien intéressant observé dans ce cas soutient l'utilisation traditionnelle de cette plante, notamment par la population locale, qui a besoin de médicaments bon marché.



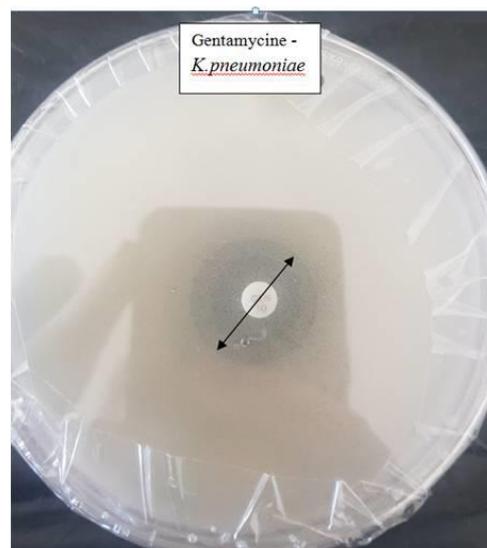
( D1= 500mg/ml, D2= 300mg/ml, D3= 150mg/ml, D4= 75 mg/ml)

**Figure 21** Résultats de l'activité antibactérienne de l'E.MC sur la souche *K. pneumoniae*.



( D1= 500mg/ml, D2= 300mg/ml, D3= 150mg/ml, D4= 75 mg/ml)

**Figure 22** Résultats de l'activité antibactérienne de l'E.MC sur la souche *E.coli*.



**Figure 23** Résultats de l'activité antibactérienne de l'antibiotique Gentamycine sur la souche *E.coli*.

# **Conclusion et Perspectives**

## Conclusion et perspectives

---

### Conclusion et perspectives

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de substances naturelles bioactives tels que les polyphénols, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices qu'ils pourraient procurer à la santé humaine.

Le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne de deux espèces végétales algériennes appartenant à la famille des Asteraceae *Matricaria chamomilla* et *Anthemis pedunculata*

En premier lieu l'extraction par macération a montré que les composés phénoliques de l'*Anthemis pedunculata* présentent un rendement estimé de 24 %, ce rendement est relativement plus important que celui de *Matricaria chamomilla* 18.66 %. Cette variation dans les taux de rendements est liée aux facteurs climatiques, à la nature de sol, la région, la saison de récolte et la composition chimique d'une plante à l'autre.

Les résultats de dosage des composés phénoliques montrent que les deux plantes présentent des teneurs appréciables en phénols totaux. La concentration la plus élevée des phénols et en flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait brut de *L'Anthemis pedunculata* ce qui confirme sa richesse en flavonoïdes et en polyphénols.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par trois tests à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, la réduction de fer FRAP et la Chélation de fer.

Il en ressort que les deux plantes exhibent un pouvoir antioxydant intéressant. Le potentiel scavenger de radicaux libres des deux plantes pourrait être considéré comme une source d'antioxydants naturels. Les résultats du test du pouvoir réducteur ont clairement montré que les extraits hydro-méthanoliques possèdent la capacité de réduire les ions  $Fe^{3+}$ , ce qui signifie leur capacité de réduire les radicaux libres.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'extrait brut de *Matricaria chamomilla* a montré une forte activité vis-à-vis de deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, tandis que l'extrait brut de l'*Anthemis* n'exhibe aucun effet sur les souches testées.

## Conclusion et perspectives

---

Les substances bioactives contenues dans ces deux plantes ont montré une inhibition efficace de l'inflammation comparable à celle d'un anti-inflammatoire non stéroïdien le diclofénac, avec une inhibition importante de dénaturation du BSA, dont les deux extraits possèdent un effet anti-inflammatoire marqué *in vitro*.

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur l'extraction, les teneurs en composés phénoliques, l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire des fleurs d'*Anthemis pedunculata* et *Matricaria chamomilla*. Il serait souhaitable d'aller plus loin en essayant d'étudier l'efficacité et la toxicité des extraits *in vivo*, et de réaliser certaines activités thérapeutiques (activités antidiabétique, anti-hypertensive, antitumorale et antifongique), Isolement, caractérisation et identification des composés actifs présents dans les extraits et l'étude relation structure-activité permettra de corréliser les résultats des tests biologiques avec des structures bien précises responsables de l'activité, ce qui permettra la synthèse des molécules potentiellement actives.

# **Références**

# **Bibliographiques**

### Références Bibliographiques

- **Abdalla, R. M., & Abdelgadir, A. E. (2016).** Antibacterial activity and phytochemical constituents of *Cinnamomum verum* and *Matricaria chamomilla* from Sudan. *Bio Bulletin*, 2(2), 01-0.
- **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.Thèse de doctorat. UNIVERSITE A. MIRA-BEJAIA. 211p
- **Agbor GA, Kuate D and Oben JE.,( 2007).** Medicinal plants can be good source of antioxidants: case study in Cameroon. *Pakistan journal of biological sciences*. 10, 537-544.
- **Al-Dabbagh, B., Elhaty, I. A., Elhaw, M., Murali, C., Al Mansoori, A., Awad, B., & Amin, A. (2019).** Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *BMC research notes*, 12(1), 1-8.
- **Alkuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Albuhadilly, A. K., & Alwindy, S. (2015).** In vitro assessment of the antibacterial activity of *Matricaria chamomile* alcoholic extract against pathogenic bacterial strains. *Br Microbiol Res J*, 7(2), 55-61.
- **Amamra, S., Cartea, M. E., Belhaddad, O. E., Soengas, P., Baghiani, A., Kaabi, I., & Arrar, L. (2018).** Determination of total phenolics contents, antioxidant capacity of *Thymus vulgaris* extracts using electrochemical and spectrophotometric methods. *Int. J. Electrochem. Sci*, 13(8), 7882-7893.
- **Bardaweel, S. K., Tawaha, K. A., & Hudaib, M. M. (2014).** Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of *Anthemis palestina* essential oil. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1-8.
- **Belhaoues, S., Amri, S., & Bensouilah, M. (2020).** Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. *South African Journal of Botany*, 131, 200-205.
- **Benahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Laouer, H., & Vérité, P. (2012).** A flavonoid from n-butanol extract of *Anthemis pedunculata*. In *International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012 997* (pp. 145-147).
- **Bendif H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques lamiaceae: *ajuga iva* (L.) schreb., *teucrium polium* L., *thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (boiss. & reut.) greuter & burdet et *rosmarinus sericeus* L. Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure de kouba-Alger, 154 p
- **Blàsovics A, Lugasi A, Szentmihályi K, Kéry A. (2003).** Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum fectorum* in vitro and in vivo. *Acta biologica Szegediensis*, 47(1- 4): 99-102. page
- **Boumerfeg S., Baghiani A., Djarmouni M., Ameni D., Adjadj M., Belkhiri F., Charef N., Khennouf S. and Arrar L. (2012).** Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chinese Medicine*, 3(1): 30-41.
- **Chermat, S., & Gharzouli, R. (2015).** Ethnobotanical study of medicinal flora in the North East of Algeria-An empirical knowledge in Djebel Zdim (Setif). *J Mater Sci Eng*, 5, 50-9.
- **Chauhan, R.; Singh, S.; Kumar, V.; Kumar, A.; Kumari, A.; Rathore, S.; Kumar, R.; Singh, S. (2022).** A Comprehensive Review on Biology, Genetic Improvement, Agro and Process Technology of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) *Plants*, 11, 29.

## Référence Bibliographiques

---

- **Chouia, A., Chouikh, A., Alia, F., Adjal, E. H., Chefrou, A., & Ait Kaki, Y. (2018).** Antibacterial activity and DPPH• radical scavenging of different metabolites extracted from two plants: essential oil from (*Matricaria recutita* L.) and flavonoids from flowers and leaves of (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, 25(1), 26-32.
- **Cooper, K. E., & Woodman, D. (1946).** The diffusion of antiseptics through agar gels, with special reference to the agar cup assay method of estimating the activity of penicillin. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 58(1), 75-84.
- **Curty, N. F. R., Martins, L. F. D. S., Ito, C. A. S., Schafranski, M., Brites, D. A., & Busato, C. R. (2014).** Morbimortality study of infection in patients undergoing different types of dialysis in a renal replacement therapy center. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 18, 281-286.
- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p
- **Dewanto V, Wu X, Adom K K, Liu R H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50, p. 3010 -3014.
- **DIALLO, Ibrahima. (2019).** Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture. Thèse de Doctorat. Université Montpellier. 181p
- **El kolli meriem. (2008).** Contribution chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*anthesis pedunculata* Desf., d'*anthesis punctata* Vahl. et *Daucus crinitus* Desf. Thèse de Magister. Université ferhet abbas setif. 181p
- **El Mihaoui, A.; Esteves da Silva, J.C.G.; Charfi, S.; Candela Castillo, M.E.; Lamarti, A.; Arnao, M.B. (2022).** Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A Review of *Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses* *Life*, 12, 479.
- **Falleh H., Kousri R., Chaieb K., Karray- Boutaoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdely C., (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *C.R. Biologies*. 331:372-379.
- **Farhoudi, R. (2013).** Chemical constituents and antioxidant properties of *Matricaria recutita* and *Chamaemelum nobile* essential oil growing wild in the south west of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(4), 531-537.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-115.
- **Gaussen, H., Leroy, H. F. (1982).** Précis de Botanique (végétaux supérieurs). 2<sup>ème</sup> Ed. 426.
- **Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousseles, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- **Gherboudj, O. (2014).** Etude phytochimique et activité antioxydante de *matricaria pubescens* (desf.) sch. bip. et *chrysanthemum deserticum* batt. & Trab. (Asteraceae). Thèse de Doctorat en Chimie pharmaceutique. Université Constantine. Constantine. Algérie, 219p
- **Gueye P. M. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur, Strasbourg

## Référence Bibliographiques

---

- **Guignard J.L., Cossen L., Henry M., (1985).** Abrégé de Phytochimie, Ed. Masson, Paris.
- **Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. V. (2018).** In vitro anti-inflammatory properties of selected green leafy vegetables. *Biomedicines*, 6(4), 107.
- **Guzelmeric, E.; Ristivojević, P.; Vovk, I.; Milojković-Opsenica, D.; Yesilada, E. (2017).** Quality assessment of marketed chamomile tea products by a validated HPTLC method combined with multivariate analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal*, 132, 35–45.
- **Habibur, R., Eswaraiah, M. C., & Dutta, A. M. (2015).** In-vitro anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *Oryza Sativa* Var. joha rice (an aromatic indigenous rice of Assam). *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 15(1), 115-121.
- **HADJ MOHAMED khawla , SAMEH SASSI AYDI b , SAMIR AYDI , HABIB BOUSNINA , MANSOUR HADDAD (2021).** *Matricaria recutita* L. : Phytochemical characterization, biological activities and possibility of application in biological control. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 83 (1), 4789-4797
- **Hajjaj, G., Bounihi, A., Tajani, M., Cherrah, Y., & Zellou, A. (2013).** Anti-inflammatory evaluation of aqueous extract of *Matricaria chamomilla* L.(Asteraceae) in experimental animal models from Morocco. *World J Pharm Res*, 2(5), 1218-28.
- **Hamon, N. (1989).** Herbal medicine. The chamomiles. *Can Pharm J*, 612.
- **Hodzic Z, Pasalic H, Memisevic A, Srabovic M, Saletovic M and Poljakovic M., (2009).** The Influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *Scientific research*. 28 (3), 471-477.
- **Ismail, H., Lemriss, S., Aoun, Z. B., Mhadhebi, L., Dellai, A., Kacem, Y., ... & Bouraoui, A. (2008).** Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holothuria polii*. *Journal de Mycologie Médicale*, 18(1), 23-26.
- **Jayanthi P, Lalitha P. (2011).** Reducing power of the solvent extracts of *eichhornia crassipes* (mart) Solms, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3:126-128.
- **Jayaprakasha GK and Patil BS., (2007).** In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food chemistry*. 101, 410-418.
- **Kaddour, S. M., Arrar, L., & Baghiani, A. (2020).** Anti-Inflammatory Potential Evaluation (In-Vitro and In-Vivo) of *Arthrophytum scoparium* Aerial Part. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5), 213-218.
- **Konan, F. K., Guessennd, N. K., Oussou, K. R., Bahi, C., Coulibaly, A., Djaman, A. J., & Dosso, M. (2014).** Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance in vitro des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(3), 1192-1201.
- **Kotov AG, Khvorost PP, Komissarenko NF(1991).** Coumarins of *Matricaria recutita*. *Khim Prirod Sojed.* ;6: 853–4.
- **Kouri G, Tsimogiannis D, Bardouki H, Oreopoulou V., (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative food science and emerging technologies*. 8, 155-162.

## Référence Bibliographiques

---

- **Kurtulmus, A., Fafal, T., Mert, T., Saglam, H., Kivcak, B., Ozturk, T., ...& Baser, K. H. C. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Anthemis* species from Turkey. *Chemistry of natural compounds*, 45(6), 900-904.
- **Laouer, H., El Kolli, M., Boulaacheb, N., & Akkal, S. (2021).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Anthemis pedunculata* and *Anthemis punctata*. *Yanbu Journal of Engineering and Science*, 9(1), 81-88
- **Le J, Koo N, Min DB. 2006.** Reactive oxygen species aging and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1) :21-33
- **Leelaprakash, G., and Mohan Dass, S. (2011).** In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (3): 189-196
- **Lister E, Wilson P., (2001).** Measurement of total phenolics and ABTS assay for Antioxidant Activity. New Zealand: Crop Research Institute. London: Academic. Press, 1-113
- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Mahdavi, B., Ghorat, F., Nasrollahzadeh, M. S., Hosseyni-Tabar, M., & Rezaei-Seresht, H. (2020).** Chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxicity, and hemolyses activity of essential oils from flower of *Matricaria chamomilla* var. *chamomilla*. *Anti-Infective Agents*, 18(3), 224-232.
- **Markham K. R., (1982).** Techniques of flavonoid identification (chapter 1 and 2).
- **Menale, B.; De Castro, O.; Di Iorio, E.; Ranaldi, M.; Muoio, R. (2021).** Discovering the ethnobotanical traditions of the island of Procida (Campania, southern Italy). *Plant Biosyst. An Int. J. Deal. All Asp. Plant Biol*, 1–19.
- **Migdal, camille ;serres, Mireille.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, *MedSci (paris)*, 2011, vol.27, N°4 ;p.405-412
- **Moghaddasi Mohammad, S. (2011).** Study on Cammomile (*Matricaria chamomilla* L.) usage and Farming. *Advances in Environmental Biology*, 1446-1454.
- **Mohammedi Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 169p
- **Morel Y, Barouki R.** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem j* 1999; 481-96.
- **Nikaido H., (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4): 593-656
- **Niknam, S., Tofghi, Z., Faramarzi, M. A., Abdollahifar, M. A., Sajadi, E., Dinarvand, R., & Toliyat, T. (2021).** Polyherbal combination for wound healing: *Matricaria chamomilla* L. and *Punica granatum* L. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), 133-145
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44, 307–315.
- **Oyedeji, O. A., Adeniyi, B. A., Ajayi, O., & König, W. A. (2005).** Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity. Another chemotype from Nigeria. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(4), 362-364.

## Référence Bibliographiques

---

- **Pastre J.(2005)**. Interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse pour le doctorat vétérinaire, l'université paul-sabatier de toulouse.
- **Pavun L, Uskoković-Marković S, JelikićStankov M, Đikanović D, Đurđević P. (2018)**. Determination of Flavonoids and Total Polyphenol Contents in Commercial Apple Juices. *Czech J. Food Sci.*, 36(3): 233–238.
- **Petit, F(2016)**. Les matricaires, des « camomilles » d'intérêt pour la phyto-aromathérapie. *Phytothérapie* 14, 196–202.
- **Quezel, F., Santa, S. (1962-1963)**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- **Rakou, K.; Iatrou, G.; Lamari, F.N. (2020)**.Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, *Greece. J. Herb. Med.*, 19, 100305.
- **Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011)**.Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, 1(4), 2-7.
- **Redaelli C, Formentini L, Santaniello E (1981)**.HPLC determination of coumarins in *Matricariachamomilla*. *Planta Med.* ;43:412–3.
- **Rodrigo, R., Miranda, A., & Vergara, L. (2011)**.Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta*, 412(5-6), 410-424.
- **Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P. (2005)**. Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie*, 1-57.
- **Santos-Sanchez NF, Flores-Parra A, ValadezBlanco R, Fernandez-Rojas B, MartinezVasquez JB, Salas-Coronado R. (2014)**.Polyphenolic content, free radical scavenging activity and isolation of Tiliroside from *Heliocarpusterebinthinaceus* (Tiliaceae) Seeds. *Journal of Biological Sciences*, 14(5): 376-380.
- **Sassi Aydi, S., Aydi, S., Kolsi, R. B. A., Haddeji, N., Rahmani, R., Ktari, N., & Bouajila, J. (2020)**.CO2 enrichment: Enhancing antioxidant, antibacterial and anticancer activities in *Arthrospira platensis*. *Food Bioscience*, 35, 100575.
- **Seddik, K., Dalila, B., Saliha, D., Saliha, D., Smain, A., Nouredine, C., ...& Lekhmici, A. (2013)**. Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria chamomilla* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(2), 35.
- **Singh, B., Gairola, S., Kumar, D., Gupta, V., & Bansal, P. (2010)**. Pharmacological potential of *Eriobotrya Japonica*-AN. *International Research Journal of Pharmacy*, 1(1), 95-99.
- **Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011)**. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosyreviews*, 5(9), 82–95.
- **Singleton V.L.et Rossi J.A. (1965)**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, 144-153.
- **Sirivibulkovit K., Nouanthavong, S. & Sameenoi Y. (2018)**. Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Anal Sci.* 34(7): 795-800.
- **Sotiropoulou, N. S., Megremi, S. F., & Tarantilis, P. (2020)**.Evaluation of antioxidant activity, toxicity, and phenolic profile of aqueous extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) prepared at different temperatures. *Applied Sciences*, 10(7), 2270.

## Référence Bibliographiques

---

- **Srivastava, J.K.; Gupta, S. (2009).** Health Promoting Benefits of Chamomile in the Elderly Population. In *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 135–158.
- **Stora. D.(2005).** Chapitre : généralités sur les anti-inflammatoires. *Pharmacologies B.P.* print book français 3<sup>ème</sup> édition ;101-102.
- **Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005).** The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food chemistry*, 93(4), 713-718.
- **Upadhyay, R.K.; Singh, V.R.; Tewari, S.K (2016).** New agro-technology to increase productivity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Ind. Crop. Prod.*, 89, 10–13.
- **Vetriselvan, S., Subasini, U., Velmurugan, C., Muthuramu, T., & Revathy, J. (2013).** Anti-inflammatory activity of *Cucumis sativus* seed in carrageenan and xylene induced edema model using albino wistar rats. *Int. J. Biopharm*, 4(1), 34-37.
- **Vu, Thi. Dao. (2008).** *Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez Datura innoxia Mill. cultivé en conditions hors sol; impact des facteurs biotiques et abiotiques* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- **Williams L.A.D et al. (2008).** The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animal. *The West Indian medical journal* 57(4):327-31.
- **Xavier, W., Ernest, L. Y., Armel-Frédéric, N., Firmin, B. P., Marinette, S., Jean-Laurent, S. M., & Boniface, K. (2019).** Activite antibacterienne de l'extrait methanolique des ecorces de Manilkara MABOKEENSIS. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 25(2), 785.
- **Zeinali M., Reezae S.A. and Housseinzadeh H. (2017).** An overview on immunoregulatory and antiinflammatory properties of chrysin and flavonoids substances. *Biomedicine&pharmacotherapy*. 92, 898-1009.