



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences et de la technologie
Department de chimie industrielle

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences et Techniques

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie chimique

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

Bouthaina Ben Alia

Le : lundi 28 septembre 2020

Différentes méthodes d'extraction de l'espèce Matricariachamomilla : (analyse chimique et étude biologique)

Jury :

Dr :	Guettaf Temmam Elhachemi	MCA	Université de Biskra	Président
Dr :	Khawla Kerbeb	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Dr :	Assia Slimani	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

REMERCIEMENT

Je voulais bien remercier toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail

*Je tiens particulièrement à remercier mon encadreur **Dr. Kerbab Khawla**,
qui m'a suivi tout au long de cette période et m'a conseillé sur l'orientation que
celui-ci devait prendre.*

*Je remercie vivement le président de jury **Dr. Guettaf Temmam Elhachemi**, et
l'examineur **Dr. Slimani Assia**, qui ont accepté de juger ce travail.*

En fin, je remercie tous les enseignants de département de Génie des procédés.

Merci à tous.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour:

À LA PLUS CHÈRE MA MÈRE

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

À MON PÈRE

Rien au monde ne vaut les efforts que tu as fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.

À MES FRÈRES

Abdallah...Hamza...Sohaib...Moaataz .

Mes anges gardiens et mes fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

A ma sœur Fatima zahra.

À MES COPINES

Pour leur amour, leur soutien, et leurs encouragements.

A mes camarades

A tous ce que j'aime

BOUTHAINA.

Liste des figures

Chapitre I : Rappel bibliographique

Figure 1 : Structure de quelques constituants chimique de la camomille.....	5
Figure 2: Types de fleurs des Astéracées.	6
Figure 3: Les métabolites secondaires.....	8
Figure 4 : Les composées phénoliques.....	9
Figure 5 : Structures chimiques de quelques composés phénoliques.....	12
Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes.....	13
Figure 7: Structures chimique des flavonoides isolés d'espèce <i>Matricaria Chamomilla</i> du genre <i>Matricaria</i>	14
Figure 8: Structures chimique des flavonoïdes isolés d'espèce <i>Matricaria Chamomilla</i> du genre <i>Matricaria</i>	15
Figure 9: Squelette de base des coumarines.....	16
Figure 10: Structures chimique des coumarines isolées de quelques espèces du genre <i>Matricaria</i>	17.

Chapitre II : Matérielles et méthode

Figure 1 : Les trois extrait de <i>Matricaria chamomilla</i>	22
Figure 2 : Les différentes étapes d'extraction.....	23
Figure 3: Rotavap (Evaporateur rotatif).....	24
Figure 4: Forme réduite du radical DPPH.....	32

Chapitre III : Résultats et discussions

Fig 1 : Quelques tests du screening phytochimique.....	39
---	----

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Chapitre I : Rappel bibliographique

Tableau 1 : Quelques constituants chimique de la camomille	4
Tableau 2 : position taxonomique de <i>Matricariachamomilla</i>	8
Tableau 3 : Les principales classes des composés phénoliques.....	11
Tableau 4 : Les flavonoïdes isolés du <i>M.chamomilla</i>	14
Tableau 5 :Les coumarines isolées du <i>M.chamomilla</i>	16

Chapitre II :Matérielles et méthode

Tableau 1 : Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.....	19
Tableau 2 : Relation fluorescence sous lumière de Wood et type de flavonoïdes.....	28
Tableau 3 : Les différents systèmes d'élutions et les méthodes de révélation.....	29

Chapitre III : Résultats et discussions

Tab 1 : Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction à partir de la plante <i>Matricariachamomilla</i>	37
Tab 2 : Mise en évidence des métabolites secondaires dans macération.....	40
Tab 3 :Mise en évidence des métabolites secondaires dans les extraits (MC1) et (MC2).....	40
Tab 4 :Activité anti-radicalaire du DPPH : IC ₅₀ de l'extrait (infusé, décocté et éthanolique) de <i>Matricariachamomilla</i>	43

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des figure	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Chapitre I : Rappel bibliographique

I. Etude ethnobotanique de la plante <i>Matricaria chamomilla</i>	4
I.1.La famille des Astéracées	4
I.1.1.Généralités	4
I.1.2.Systématique	5
I.1.3.Caractéristiques morphologiques des Astéracées	5
I.2.Le genre <i>Matricaria</i>	6
I.2.1.Systématique	6
I.3. <i>Matricaria chamomilla</i> L.....	7
I.3.1. Description botaniques.....	7
I.3.2. Distribution géographique.....	8
I.3.3.Classification.....	8
I.3.4. Utilisation traductionnel.....	8
I.3.5.Précautions d'emploi	9
I.3.6.Propriétés de <i>Matricaria chamomilla</i>	9
II. Les métabolites secondaire et leurs pouvoirs biologiques	9
II.1. Les métabolites secondaires	9
II.1.1. Les composées phénoliques (polyphénols).....	10
Les composées phénoliques	10
II.1.2. Les terpénoïdes	17
II.1.3. Les alcaloïdes.....	17
II.2. Leurs pouvoirs biologiques.....	17

Chapitre II : Matérielles et méthode

I. Etude phytochimique de l'espèce <i>Matricaria chamomilla</i>	19
I.1. Matériel Végétale	19
I.2. Matériel de laboratoire	19
I.3. Méthode d'extraction	20
I.3.1 Infusion	20
I.3.2. Décoction	20
I.3.3. Macération alcoolique	21
I.4. Le Screening phytochimique	24
I.4.1. Recherche des alcaloïdes.....	24
I.4.2. Recherche des stérols et des terpènes insaturés	25
I.4.3. Recherche des triterpènes.....	25
I.4.4. Recherche des Saponosides.....	25
I.4.5. Recherche des coumarines	26
I.4.6. Recherche des tanins caté chiques et galliques	26
I.4.7. Recherche de flavonoïdes	26
I.5. la chromatographie Sur couche mince (CCM).....	27
I.5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	27
I.5.2. Principe de la chromatographie sur couche mince :	27
I.5.3. Le protocole	28
I.6. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes	29
I.6.1. Dosage des polyphénols totaux	29
I.6.2. Dosage des flavonoïdes.....	30
II. Etude biologique.....	31
II.1. Activité atioxydante.....	31
II.1.1. Test au DPPH	31
II.2. Activité antibactérienne	33
II.2.1. Définition de l'activité antibactérienne.....	33
II.2.2. Antibiotiques.....	33
II.2.3. Les souches bactériennes testées	33

II.2.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	34
II.2.4. Le protocole expérimentale	34

Chapitre III : Résultats et discussions

I. Etude comparative des techniques d'extraction.....	37
I.1. Détermination du rendement.....	37
I.2. Screening Phytochimique	38
I.3. Chromatographique sur couche mince CCM.....	41
I.4. Activité antioxydante	43

Conclusion

References

Résumé

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction

Depuis l'origine des temps, l'homme s'est tourné vers les végétaux pour y trouver l'essentiel de sa nourriture, de sa médication.

Au XXI^e siècle, à côté des médicaments fabriqués seulement par synthèse chimique, d'autres sont obtenus par traitement chimique de substances naturelles, végétales le plus fréquemment ou animales, mais également des remèdes purement naturels qui sont rarement d'origine animale (comme le miel) ou minérales (comme la tourbe médicinale) mais qui proviennent presque exclusivement de plantes. Parmi celles-ci, cependant, seules certaines sont médicinales et la substance thérapeutique efficace n'est, en outre, logée que dans un certain organe déterminé, qu'on cueille alors à cet effet. Il arrive particulièrement rarement d'utiliser la plante entière.

De même il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique (**Benattia et al., 2019**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique. Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimiques. Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants (**Lehout et al., 2015**).

La camomille est une plante médicinale utilisée dans les remèdes à base de plantes depuis des milliers d'années, connue dans l'Égypte ancienne, la Grèce et Rome. Cette herbe a été considérée par les Anglo-Saxons comme l'une des 9 herbes sacrées données aux humains par le seigneur. Le médicament à la camomille est inclus dans la pharmacopée de 26 pays.

Antonelli avait cité des écrits de plusieurs médecins de l'Antiquité du 16^{ème} et 17^{ème} siècle que la camomille était utilisée à cette époque dans les fièvres intermittentes.

Introduction

C'est un ingrédient de plusieurs préparations médicinales traditionnelles et homéopathiques, Gould et al., Ont évalué les effets hémodynamiques du thé à la camomille chez les patients atteints de maladie cardiaque. Il a été constaté en général que les patients tombaient dans un sommeil profond après avoir pris la boisson. Pasechnik rapporte que l'infusion préparée à partir de *M. chamomilla* exerce une action stimulante marquée sur la fonction de secrétaire du foie. Les autres propriétés pharmacologiques comprennent une activité anti-inflammatoire, antiseptique, carminative, cicatrisante, sédative et spasmolytique. Cependant, *M. chamomilla* a présenté une activité bactéricide à la fois positive et négative.

La camomille est également très demandée pour une utilisation dans les tisanes, l'huile de massage pour bébé, pour favoriser l'écoulement gastrique des sécrétions et pour le traitement de la toux et du rhume. L'utilisation de préparations à base de tisane a éliminé les coliques chez 57% des nourrissons. En raison de ses propriétés pharmacologiques et pharmaceutiques étendues, la plante possède ainsi une grande valeur économique et est très demandée dans les pays européens (**Singh et al., 2011**).

L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification.

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (**Lehout et al., 2015**).

Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par macération (extraction éthanolique), l'extraction par décoction et infusion. L'extraction par décoction ou avec de l'infusion est un procédé très utilisé traditionnellement par la population algérienne, soit dans la préparation des boissons les plus populaires comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales.

L'objectif visé dans ce mémoire est l'étude comparative des différentes méthodes d'extraction de l'espèce *Matricaria chamomilla*. La comparaison porte plus précisément sur le rendement d'extraction des métabolites et rapport d'effet antioxydant et antibactérienne des extraits obtenus. Dans ce contexte notre travail est planifiées en trois chapitres essentielles dont :

Introduction

- ✚ Le premier chapitre est un aperçu bibliographique sur l'étude ethnobotanique de l'espèce choisie et les métabolites secondaires, leurs méthodes d'extraction et les activités biologiques
- ✚ Le deuxième chapitre est particulièrement consacrée aux différentes méthodes expérimentales utilisées lors de la préparation des extraits ainsi que les tests chimiques (screening et dosages des polyphénols) et l'évaluation biologique (activité antioxydant et antibactérienne)
- ✚ Et enfin le chapitre trois qui résume les résultats des tests chimiques et biologiques ainsi que leur discussions.
- ✚ Notre travail est achevé par une conclusion générale, la liste des références bibliographiques et les annexes.

CHAPITRE I :

RAPPEL

BIBLIOGRAPHIQUE

I. Etude ethnobotanique de la plante *Matricaria chamomilla*

I.1. La famille des Astéracées

I.1.1. Généralités

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur (Mezache., 2010).

La famille des Astéracées comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces et en France 111 genres et 638 espèces. Cette vaste famille est (Mahdjar., 2013) la plus vaste du groupe des dicotylédones (Mezache., 2010) et économiquement importante, vu que plusieurs de ses plantes sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc (Mahdjar., 2013).

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie (Mahdjar., 2013). En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes Possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires. De ce fait, de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle (Mezache., 2010).

Le Tableau I montre la variation en constituants chimiques d'une espèce de la famille des Astéracées ayant une valeur alimentaire et médicinale qui est la camomille (Mahdjar., 2013).

Tab 1 : Quelques constituants chimique de la camomille (Mahdjar., 2013).

Constituants chimique	Nom trivial	Structure
Flavonoïde	Apigénine-7-O-glucoside	<u>1</u>
Sesquiterpène lactone	Matricine	<u>2</u>
Huile essentielle	Chamazulène	<u>3</u>
Coumarine	Ombelliféone	<u>4</u>
Acide phénolique	Syringique	<u>5</u>

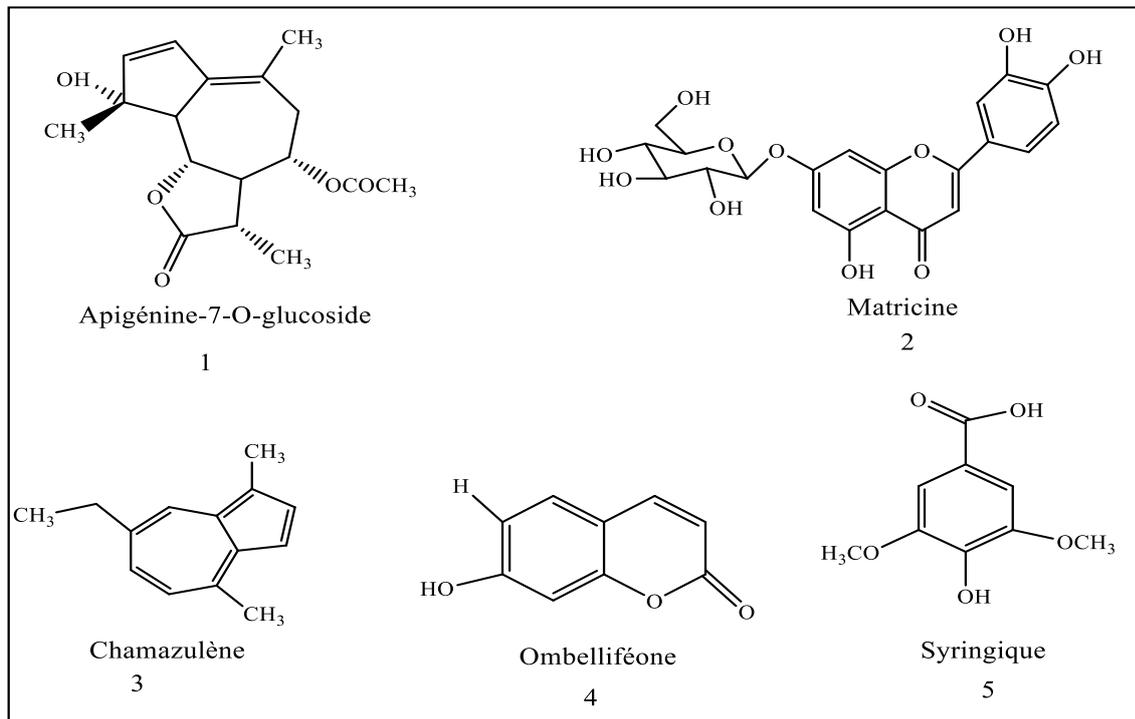


Fig 1 : Structure de quelques constituants chimique de la camomille (Mahdjar., 2013).

I.1.2.Systématique

(Achoub., 2013)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Embranchement	Phanerogamae (Phanérogameae)
Embranchement	Mangnoliphytina (angiospernes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous-classerogamae	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)

I.1.3.Caractéristiques morphologiques des Astéracées

Les Astéraceae sont caractérisés par leur inflorescence en capitule. Les capitules sont constitués du regroupement de fleurs sessiles sur un même réceptacle.

On distingue trois types de capitules:

- Liguliflores dont les capitules sont uniquement composés de ligules (languettes comme les pissenlits, chicorées, etc.).
- Tubuliflores dont les capitules sont uniquement composés de tubules (petits tubes comme chez les chardons).
- Radiées : en faisant la synthèse des deux types de fleurons on obtient les radiées dont le capitule est composé de ligules imitant les pétales à la périphérie et de tubules imitant les étamines et le pistil au centre (**Achoub., 2013**).



Fig 2: Types de fleurs des Astéracées (**Mezache., 2010**).

I.2. Le genre *Matricaria*

Matricaria est un genre de plantes à fleurs de la famille Asteraceae (**Mahdjar., 2013**).

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué (**Boutaoui., 2012**).

I.2.1. Systématique

Règne : Plantae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Sous-famille: Asteroideae

Tribu: Anthemideae

Sous-tribu : Matricariinae

Genre: *Matricaria* (Mahdjar., 2013).

I.3. *Matricaria chamomilla* L

La camomille (*Matricaria chamomilla* L.) est une espèce de plante médicinale bien connue de la famille des Astéracées, souvent appelée «l'étoile parmi les espèces médicinales». De nos jours, c'est une plante médicinale très appréciée et très utilisée en médecine traditionnelle. Ses valeurs multithérapeutiques, cosmétiques et nutritionnelles ont été établies à travers des années d'utilisation et de recherche traditionnelles et scientifiques (Singh et al., 2010).

Sous la dénomination de camomille, on distingue trois plantes différentes dont la plus recherchée est *Matricaria chamomilla* L. (*Matricaria recutita*) son nom arabe est le “baboundj” (Hajjaj., 2017).

Le nom « chamomilla » vient du grec « chamaimelon » (Djoubani et al., 2017).

I.3.1. Description botaniques

La *Matricaire* est une plante herbacée annuelle, aromatique, à odeur prononcée de camomille et à saveur amère; mesurant de 50 centimètres de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, épaisses, sont très divisées (bi ou tri pennées), en lanières.

Les capitules sont insères sur un réceptacle conique, présentant un grand nombre de fleurs tubulées jaunes synanthérées : les fleurs du milieu en tube cylindrique sont jaunes à 5 lobes, les fleurs du pourtour en languettes blanches souvent réfléchies, radiées (Djoubani et al., 2017).

Les fruits de la camomille sont des akènes sans aigrette lisses et très petits (1 mm environ) et surmontés d'une petite couronne oblique, Leur couleur est jaunâtre. La floraison a lieu de mai-juillet à septembre-octobre (Hajjaj., 2017).

On utilise les parties aériennes fleuries de la plante dont la concentration en parthénolide est maximale au moment de la floraison (Boutaoui., 2012).

I.3.2. Distribution géographique

La plupart des matricarias sont très fréquents dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, et en Amérique, ainsi que dans le nord et le sud de l'Afrique, et certaines sont naturalisées en Australie (Mahdjar., 2013). 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 plein soleil (Hajjaj., 2017).

Cette plante peut s'élever à une assez grande altitude dans les champs des montagnes ou au voisinage des habitations des villages situés à environ 1000 m (Djoubani et all., 2017).

I.3.3. Classification

La classification de l'espèce de *Matricaria chamomilla* L. est décrite dans le tableau 2 (Djoubani et all., 2017).

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Dicotyledones
Classe	Dicotyledoneae
Ordre	Asteralae
Famille	Astéraceae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Matricaria chamomilla</i> L

Tab 2 : position taxonomique de *Matricaria chamomilla* (Djoubani et all., 2017).

I.3.4. Utilisation traductionnel

C'est une plante médicinale populaire anciennement utilisée comme remède. Pendant des siècles, des extraits de cette plante ont été utilisés par les guérisseurs pour soigner (Achoub., 2013), Elle pourrait avoir des effets anti-inflammatoires. D'autre part, l'activité de la camomille bloque les ondes lentes dans l'intestin grêle, ce qui pourrait ralentir le mouvement péristaltique ainsi elle pourrait avoir des effets anti-œstrogènes, elle semble également stimuler l'activité des ostéoblastes ce qui entraîne une stimulation de la synthèse de la matrice protéique et l'ostéoformation (Hajjaj., 2017).

C'est la plante la plus utilisée cosmétologie où elle se montrerait émolliente, protectrice (Djoubani et all., 2017).

Des récentes études phytochimiques sur cette plante ont montré que la majorité des effets démontrés de la Camomille peut être attribuée à la forte teneur de terpènes et les flavonoïdes trouvés dans cette plante. Ces composés sont biologiquement actifs et possèdent des propriétés anti-oxydantes, antibactériennes, antifongiques, anti inflammatoires, anticancéreuses, antipyrétiques et antispasmodiques (Achoub., 2013).

I.3.5.Précautions d'emploi

- Pour les personnes allergiques à la camomille, la consommation de thé à la camomille peut aggraver les affections allergiques. Aussi la camomille peut provoquer une conjonctivite allergique.

- Les femmes enceintes ne devraient pas utiliser la camomille durant la grossesse. On ne rapporte risque de toxicité, cependant les personnes souffrant de problèmes allergiques, particulièrement aux fleurs, devraient consommer la Camomille avec prudence (Hajjaj., 2017).

I.3.6.Propriétés de *Matricaria chamomilla*

La camomille a plusieurs caractéristiques:

- Propriétés organoleptiques (Saveur aromatique, douce, amère).
- Propriétés en aromathérapie énergétique (Légèrement réchauffante et Asséchante).
- Les propriétés pharmacocinétiques sont Action sur le système digestif (Problèmes de menstruation, Système nerveux, Douleur arthritique, Système immunitaire), Action anti-migraineuse (Par son action au niveau des neuromédiateurs et vasculaire), Action anti-inflammatoire, Activité anticancéreuse, Activité antimicrobienne, Anti-hyperglycémiant (Hajjaj., 2017).

II. Les métabolites secondaire et leurs pouvoirs biologiques

II.1. Les métabolites secondaires

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblées en superfamilles chimiques telles que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. C'est le produit chimique le plus actif dans les plantes et aujourd'hui, on estime qu'environ un tiers des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une matière végétale (Mekhelfi., 2016).

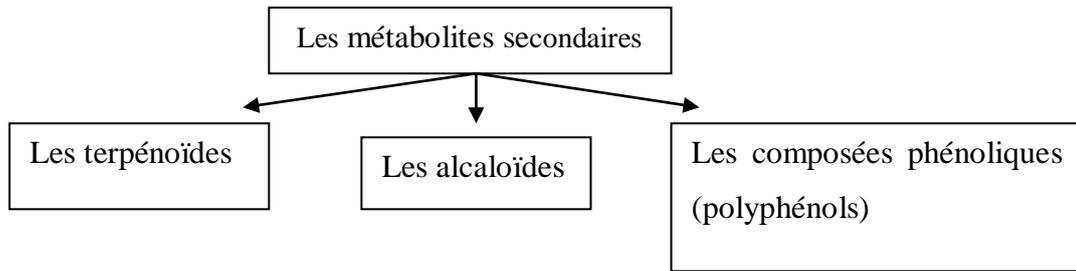


Fig 3: Les métabolites secondaires (Mekhelfi., 2016).

II.1.1. Les composées phénoliques (polyphénols)

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Djoubani et al., 2017).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus.

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boudjouref., 2011).

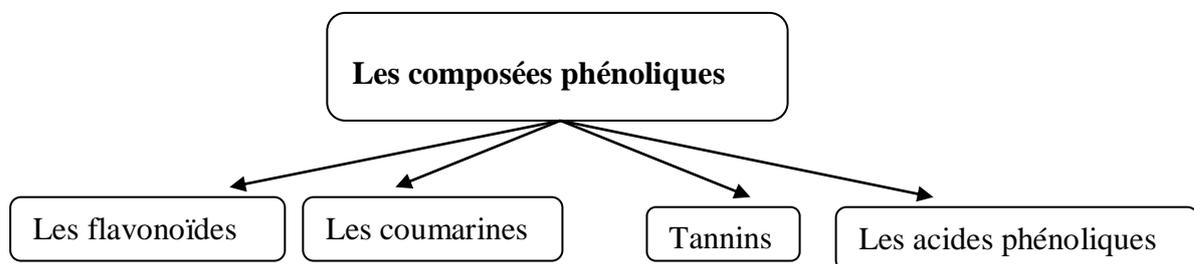


Fig 4 : Les composées phénoliques (Boudjouref., 2011).

II.1.1.1. Classification

Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Les différentes classes principales de ces composés phénoliques isolés des plantes sont illustrées dans le tableau suivant (Boutaoui., 2012).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol 6
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	Acide salicylique 7
8	C ₆ -C ₂	Acétophénones	3-Acetyl-6-méthoxybenzaldéhyde 8
9	C ₆ -C ₃	-Acide hydroxycinnamique -Phénylpropène -Coumarines -Isocoumarines -Chromones	-Acide caféique 9 -Eugénol 10 -Ombélliférone 11 -6-7-diméthoxy 8-hydroxy 3-methyl isocoumarine 12 -Eugénine 13
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone 14
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	1, 2, 3,7-tetramethoxy xonthane 15
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	-Stilbénes -Anthraquinones	-Acide hunularique 16 -Emodine 17
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	-Flavonoides -Isoflavonoides	Quercetine 18 Genisteine 19
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Podophylotoxine 20
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Kayaflavone 21
N	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) _n (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	-Lignines -Catéchol mélanines -Flavolanes (Tannins condensés)	- - -

Tab 3 : Les principales classes des composés phénoliques (Boutaoui., 2012).

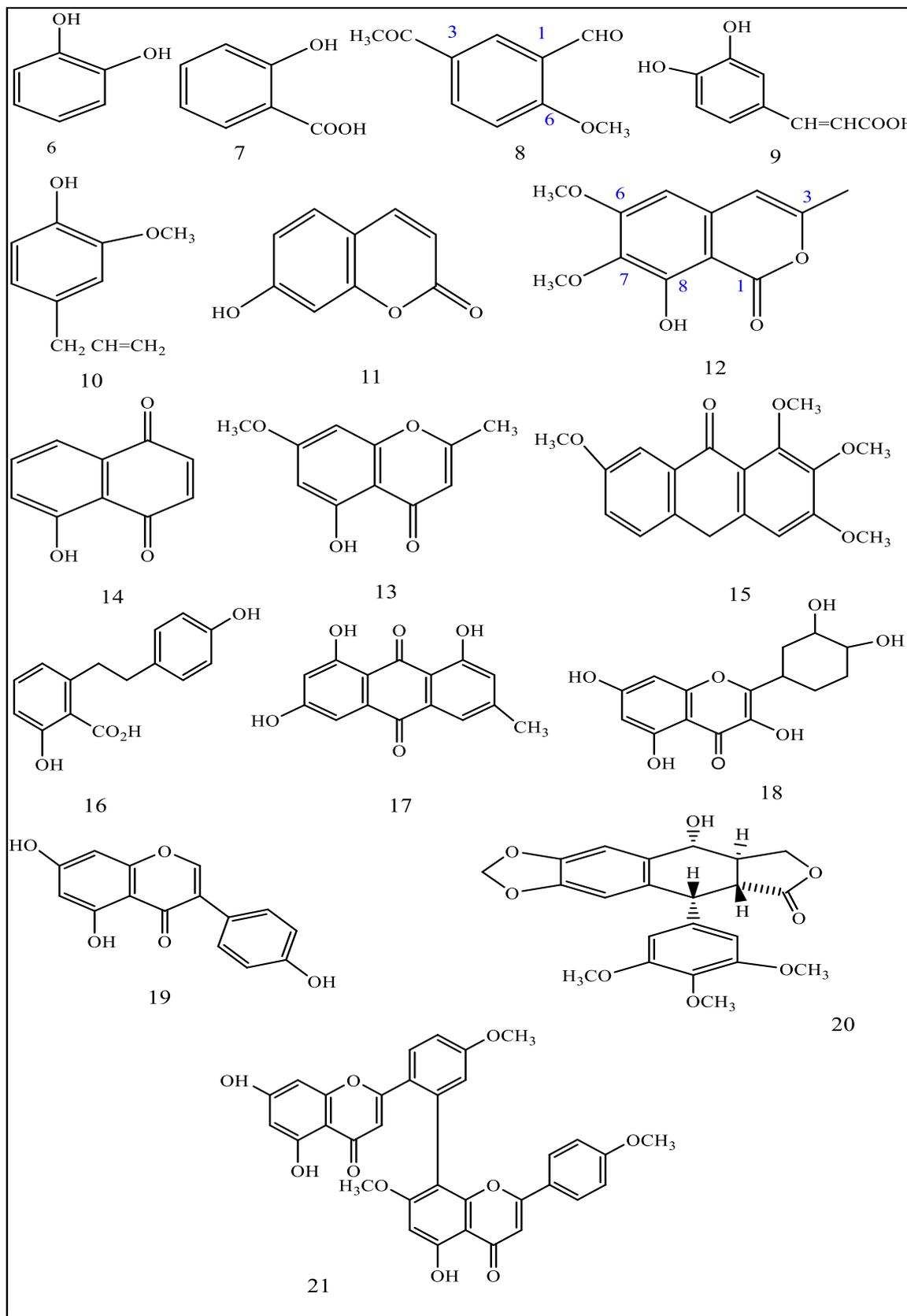


Fig 5 : Structures chimiques de quelques composés phénoliques (Boutaoui., 2012).

II.1.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal (Mekhelfi., 2016), appartenant à la famille des polyphénols (Boudjouref., 2011). Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Mekhelfi., 2016).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, et aussi dans le miel (Boutaoui., 2012).

Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (Lehout et al., 2015).

Jusqu'à ce jour, plus de 9000 structures flavoniques ont été isolées et identifiées. La structure chimique des flavonoïdes est basée principalement sur un squelette de 15 atomes de carbone [11] constitué de deux noyaux benzéniques C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃.

Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone. La distinction des sous-classes se fait sur la conformation de cette structure centrale (Manallah., 2012).

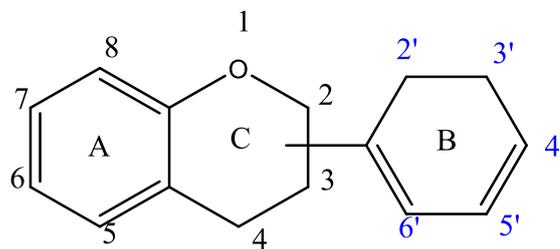


Fig 6: Squelette de base des flavonoïdes (Manallah., 2012).

Il a plusieurs Classification : Flavones et flavonols, Flavanones et dihydroflavonols, Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols, Chalcones et aures, Isoflavone et neoflavone (Boutaoui et al., 2012).

II.1.1.2.1. Les flavonoïdes isolés du *M.chamomilla*

Tab 3 : Les flavonoïdes isolés du *M.chamomilla* (Achoub., 2013).

Espèce	Les flavonoïdes isolés	Les structures
<i>M.chamomilla</i>	Apigénine 7-O-glucoside	<u>22</u>
	lutéoline 7-O-glucoside	<u>23</u>
	Patulitine	<u>24</u>
	Quercémétrine	<u>25</u>
	5,4'-dihydroxy-3,6,7,3' tetramethoxyflavone	<u>26</u>
	Apigénine 7-acetylglucoside	<u>27</u>
	Apigénine	<u>28</u>
	Lutéoline	<u>29</u>
	Quercétine	<u>30</u>
	Apigénine 7-O-glucoside (2'',6''-Diacétate)	<u>31</u>
	Apigénine 7-acetylglucoside	<u>32</u>
	Kaempférol 3-O-glucoside	<u>33</u>

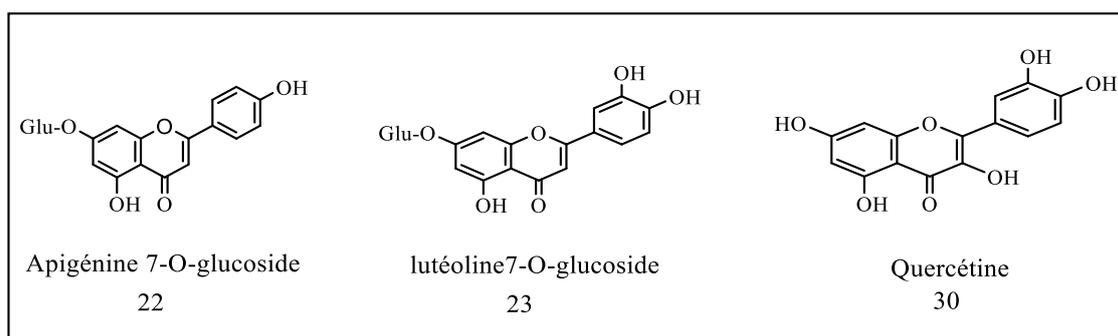
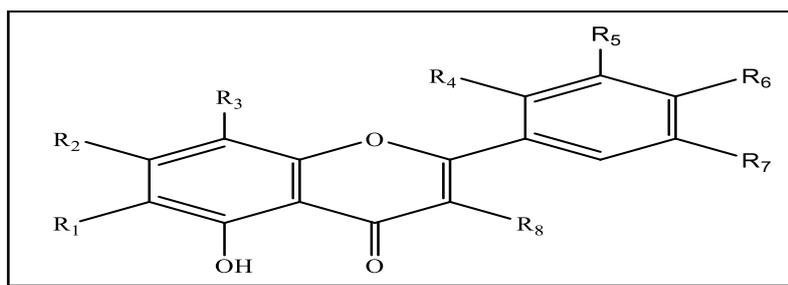


Fig 7: Structures chimique des flavonoïdes isolés d'espèce *Matricaria Chamomilla* du genre *Matricaria* (Achoub., 2013).



Structures	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
<u>24</u>	OCH ₃	OH	H	H	OH	OH	H	OH
<u>25</u>	H	Glu	H	H		OH	OH	OH
<u>26</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	OH	H	OCH ₃
<u>28</u>	H	OH	H	H	H	OH	H	H
<u>29</u>	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>31</u>	H	O-Glu (2'',6'' diacétate)	H	H	H	OH	H	H
<u>32</u>	H	O-Glu (acetyl)	H	H	H	OH	H	H
<u>33</u>	H	OH	H	H	H	OH	H	O-Glu

Fig 8: Structures chimique des flavonoïdes isolés d'espèce *Matricaria Chamomilla* du genre *Matricaria* (Achoub., 2013).

II.1.1.3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétéroside. On distingue deux classes appartenant à cette sous famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique.

II.1.1.4. Tannins

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Djoubani et all., 2017).

II.1.1.5. Les coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique aromatique. Ces composés possèdent hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthyles ou être engagés dans des liaisons hétérosides (Djoubani et all., 2017). La structure de la coumarine se trouve dans environ 150 espèces, appartenant à 30 familles de plants différents. Elle donne une odeur caractéristique semblable à

celle du fion fraîchement fauché, et ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentés sous forme glycosylés. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines (Boutaoui et al., 2012).

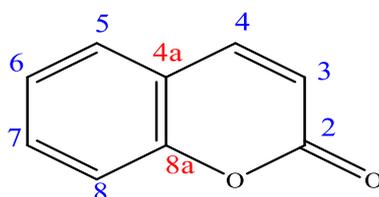


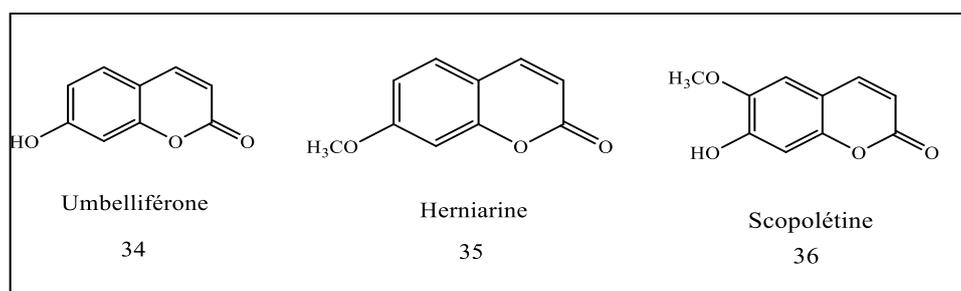
Fig 9: Squelette de base des coumarines (Boutaoui et al., 2012).

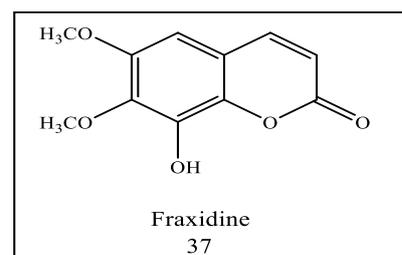
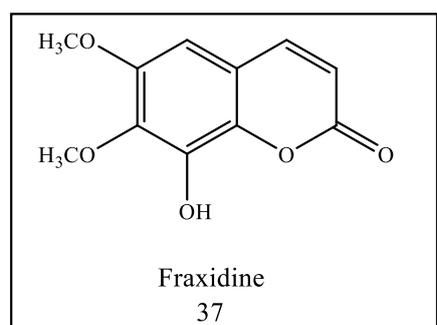
Il a plusieurs classifications : Coumarines simples, Coumarines phényles, Furanocoumarines, Dicoumarines (coumarines dimériques), Tricoumarine (coumarines trimériques) (Achoub., 2013).

II.1.1.5.1. Les coumarines isolés du *M.Chamomilla*

Tab 4 : Les coumarines isolées du *M.Chamomilla* (Achoub., 2013).

Espèce	Les coumarines isolées	Les structures
<i>M.chamomilla</i>	Umbellifèrone	34
	Herniarine	35
	Scopolétine	36
	Faxidine	37
	Coumarine	38
	Scoparone	39
	Scopolatine	40





Structures	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
38	H	OCH ₃	H	H
39	OCH ₃	OCH ₃	H	H
40	H	H	H	H

Fig 10: Structures chimique des coumarines isolées de quelques espèces du genre *Matricaria* (Achoub., 2013).

II.1.2. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, Ils peuvent s'impliquer dans les fonctions métaboliques essentielles.

Ils constituent le principe odoriférant des végétaux, cette odeur est due à la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone. Extraites du végétal, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande).

Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques, d'où divers emplois dont l'embaumement qui est resté dans le terme balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en sont tirées.

De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques. ici citer quelques exemples : Monoterpènes, Diterpènes, Les triterpènes et stéroïdes, Tétraterpènes, Sesquiterpènes et Les lactones sesquiterpéniques (Boutaoui et all., 2012).

II.1.3. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Djoubani et all., 2017).

II.2. Leurs pouvoirs biologiques

Les polyphénols ont diverses propriétés physiologiques telles qu'antiallergiques, antibactériennes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirales, anti-pathogènes, anticoagulantes, antisolaires, vasodilatatrices et antifongiques. En conséquence, de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle (**Mahdjar., 2013, Mezache., 2010, Boutaoui et al., 2012**).

Les lactones sesquiterpéniques, molécules naturelles également appelées substances amères sont très intéressantes dans le domaine biologique et pharmacologique. Ces substances présentent des propriétés cytotoxique ou antitumorale, antiinflammatoire, antimigraineuse, antioxydante, antifongique, cytoprotectrice gastrique, antileucémique, antimicrobienne, antibactérienne (**Boutaoui et al., 2012**).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine) (**Djoubani et al., 2017**).

CHAPITRE II :

**MATÉRIELLES ET
MÉTHODE**

I. Etude phytochimique de l'espèce *Matricaria chamomilla*

I.1. Matériel Végétale

Les parties aériennes de la plante *Matricaria chamomilla* ont été récoltées de la région de « djabel elwahach » wilaya de Constantine, est- d'Algérie au mois d'avril en l'an 2014, les parties aériennes de la plante ont été entreposées pour les sécher dans un endroit sec.

I.2. Matériel de laboratoire

Plusieurs réactifs chimiques et appareillages (Tab.1) ont été utilisés dans la présente étude (extraction, dosage et activités biologiques). Les réactifs sont de grade analytique.

Tab. 1: Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.

Appareillages	Produit chimique
Les Béchers	Chloroforme
Les Arlène Mayer	Anhydride acétique
Les tubes à essai	Acide sulfurique.
Les spatules	Eau distillée
Support de tube à essai	Ammoniaque
Les Éprouvettes graduée	Chlorure ferrique (FeCl ₃)
Un entonnoir	Acétate de sodium
Balance de précision	NaOH
pipettes pasteur	HCl
Plaque chauffante	Magnésium.
Etuve	éthanol
Plaque CCM	Méthanol
Cuve en verre	Acétate d'éthyle
Lampe UV	éther de pétrole
Évaporateur rotatif	Nitrate basique de bismuth
Ballon	Iodure potassium
Pince de laboratoire	Acide acétique

I.3. Méthode d'extraction

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche KONKON et al., 2006 afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche KONKON et al., 2006. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion) (Lehout et al., 2015).

Dans notre travail nous avons étudié trois méthodes d'extraction différentes (infusion, décoction, macération) sur les parties aériennes de l'espèce *M. camomille*.

I.3.1 Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Lehout et al., 2015).

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant :

- Peser 10g de la matière végétale (*M.chamomille*) puis on la met dans Arlène Mayer.
- Mesurer 350ml d'eau distillée, puis le mettre dans béccher sur plaque chauffer jusqu'à ébullition.
- Versez l'eau chaude sur la *M.chamomilla*, puis couvrez l'Arlène Mayer du papier d'aluminium, laissez le mélange infuser pendant 10-15 minutes.
- Prenez de l'Arlène et un entonnoir et on met un peu de coton dans l'entonnoir pour filtrer.
- On obtient une solution homogène (eau + extrait).
- La solution obtenue à été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap (figure 3) qui permet a éliminé le solvant sous vide.
- Placer la solution dans le ballon d'évaporation.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ($T_0 = 65^\circ \text{C}$ et vitesse de rotation =27).
- L'extrait obtenue est (infusé, MC1).

I.3.2. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire

bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (**Benzeggouta., 2015**).

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant :

- Peser 10g de la matière végétale (*M.camomille*) et la mettons dans Arlène Meyer.
- Mesurer 350 ml d'eau distillée et l'ajoutons à la *Camomille* dans de l'Arlène et le fermons du papier d'aluminium.
- Mettre sur une plaque chauffée, laissez le mélange décocter pendant 10-15 minutes.
- Prenez Arlène Meyer et un entonnoir et y mettons une quantité de coton pour filtrer le mélange.
- Pour évaporé la solution obtenue Utilisez la même méthode d'extrait MC1.
- L'extrait obtenu est (décocté, MC2).

I.3.3. Macération alcoolique

Le liquide de macération peut être l'eau, de l'alcool, du vin, du vinaigre. Pour l'eau, les plantes sont versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures, en principe). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine d'heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide. Pour l'alcool, le vin, le vinaigre, l'huile, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénient (**Laraba et all.; 2016**).

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :

- Peser 5g de matière végétale (*M.camomille*) et la mettons dans Arlène Meyer.
- Ajouter quantité d'éthanol à 100% jusqu'à ce qu'il recouvre la plante Et fermer avec du papier d'aluminium.
- Laissez-le macérer pendant 48 heures au moins,
- Pour filtrer le mélange, on prend Arlène Meyer et un entonnoir dans lequel on met une quantité de coton.
- La solution obtenue à était évaporé à l'aide d'un rotavap qui permet a éliminé le solvant sous vide.
- Placer la solution dans le ballon d'évaporation.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (To =40oC et vitesse de rotation =3).
- L'extrait obtenue est (Extrait éthanolique, MC1).

Remarque: Si l'extrait colle aux parois du ballon, nous le dissolvons avec du méthanol et le mettons dans un tube à essai jusqu'à ce que le solvant s'évapore et que vous obteniez l'extrait de MC.



Fig 1 : Les trois extrait de *Matricaria chamomilla*.

Les différentes étapes d'extraction sont résumées sur la figure 2 :

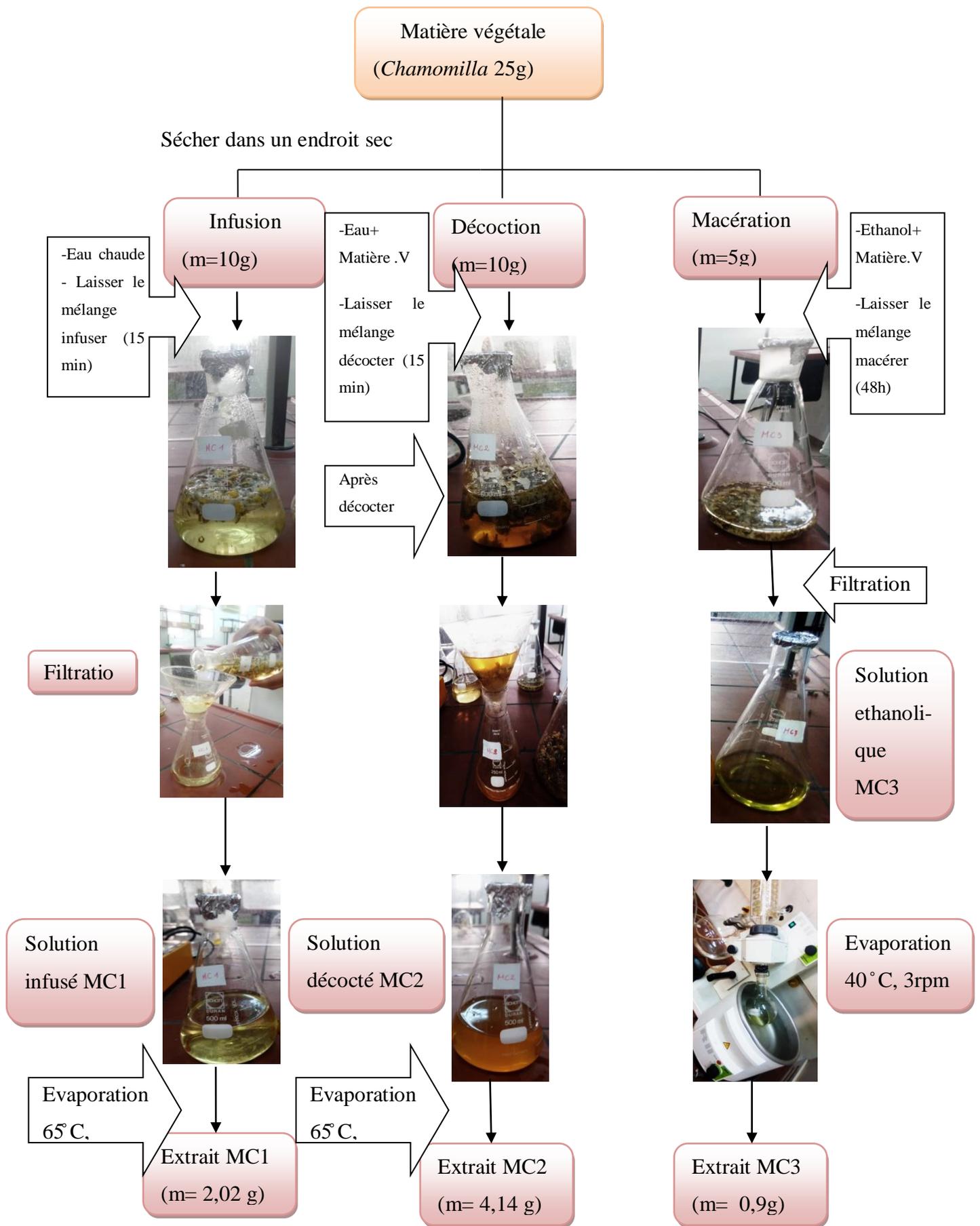


Fig 2 : Les différentes étapes d'extraction.



Fig 3 : Rotavap (Evaporateur rotatif).

Le rendement des extraits de *Matricaria chamomilla* L. est déterminé par le rapport :
 $R = [\text{Masse de l'extract obtenu} / \text{Masse de la matière végétale avant extraction}] \times 100.$

I.4. Le Screening phytochimique

Le Screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Le but final de l'étude des plantes médicinales est d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante (**Ghizlane., 2017**).

Dans notre travail, nous nous sommes appuyés sur les moyens et capacités disponibles. Nous avons commencé à rechercher: les alcaloïdes, terpènes et stéroïls insaturés, triterpènes, saponines, coumarines, tannins catéchique et galliques, flavonoïdes.

I.4.1. Recherche des alcaloïdes

La présence d'alcaloïde est établie par la précipitation des sels et la révélation à l'aide du réactif de dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthite de potassium) et Mayer (mercuritétra iodure de potassium) et Bouchard (réactif iodo-ioduré): (**Ghizlane., 2017, et Dahou et all., 2003, et Guetteche et all., 2016**)

Mettre une quantité d'extract dans 30 ml de solution d'acide sulfurique H₂SO₄ à 10% pendant 24 min (**Hamid et all., 2018**).

La solution est répartir en 4 tubes à essai et on procède aux tests suivants

Tube (1) : Ajouter quelque goutte de réactif de Mayer qui donne une coloration jaune en présence des alcaloides.

Tube (2) : Ajouter quelque goutte de réactif de Dragendorf qui donne un précipité rouge-orangé.

Tube (3) : Ajouter quelque goutte de réactif de bouchardat qui donne un précipité rouge-brun.

Tube (4) : Soumis sous lumière UV pour détecter la présence des alcaloïdes de quinquina qui donne une fluorescence bleue intense à $\lambda = 365\text{nm}$.

I.4.2. Recherche des stérols et des terpènes insaturés

Les stérols et les terpènes ont été mis en évidence dans les extraits aqueux par la réaction de Liebermann à l'aide de H_2SO_4 , selon le protocole suivant (**Ghizlane., 2017, et Guetteche et all., 2016**).

Ajouter a une quantité de l'extrait 5ml de chloroforme

Diviser le contenu dans trois tubes à essai en quantité égale comme suit :

Tube (1) : témoin.

Tube (2) : Ajouter 1.5 ml d'anhydride acétique.

Tube (3) : Ajouter 3 gouttes d'acide sulfurique.

Le changement rapide de couleur confirme la présence de terpène.

L'apparition de la couleur rouge cerise confirme la présence des stérols insaturés.

I.4.3. Recherche des triterpènes

La présence des stérols insaturés et triterpènes est mis en évidence à l'aide de H_2SO_4 , selon le protocole suivant (**Guetteche et all., 2016**) :

Dissous l'extrait obtenu dans 1ml d'anhydride acétique, puis dans 1ml de chloroforme.

Diviser le contenu dans deux tubes à essai dont:

Tube (1) : témoin.

Tube (2) : Ajouter 1ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube sans agiter.

La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone du contact des deux liquides révèle la présence des triterpènes (Réaction de Liebermann-Bouchard).

I.4.4. Recherche des Saponosides

Leur présence est déterminée par la présence ou non de mousse persistante (**Benzeggouta., 2015**) pour identifier leurs présences on suit les étapes suivant :

Prélever une quantité de l'extrait et introduire dans un tube à essai Dissoudre dans d'eau distillée puis agiter

L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

I.4.5. Recherche des coumarines

La recherche de présence de la coumarine est réalisée selon les étapes suivant **(Guetteche et all., 2016)**.

Ajouter l'ammoniaque à 25% à l'extrait, mélanger et observer la fluorescence sous UV à 365 nm.

Une fluorescence intense dans le tube contenant de l'ammoniaque indique la présence des coumarines.

I.4.6. Recherche des tanins caté chiques et galliques

La présence de tanins galliques et catéchiques a été mise en évidence à laide de chlorure ferrique **(Guetteche et all., 2016)**.

Prélever une quantité de l'extrait et introduire dans un tube à essai Dissoudre dans d'eau distillée.

Diviser le contenu dans trois tubes à essai dont:

Tube (1) : témoin.

Tube (2): ajouter quelques gouttes (environs 3) de chlorure $FeCl_3$ (1%).

L'apparition de coloration, ou la formation d'un précipité indique la présence des tannins caté chiques.

Tube (3) : saturer en acétate de sodium et ajouter quelques gouttes de $FeCl_3$ 1% .

La formation d'un précipité ou changement de couleur indique la présence des tanins galliques.

I.4.7. Recherche de flavonoïdes

La réaction à la cyanidine a permis de tester les flavonoïdes **(Ghizlane., 2017)**.

Test 1 : Prélever une quantité de l'extrait et introduire dans un tube à essai Dissoudre dans d'eau distillée.

Diviser le contenu dans quatre tubes à essai dont:

Tube (1) : ajouté 1 ml de NaOH (1N)

Tube (2) : ajouté 1 ml d'eau distillée

Tube (3) : ajouté de HCl concentré et de copeaux de magnésium.

En présence des flavonoïdes, un changement de coloration sera observé.

I.5. la chromatographie Sur couche mince (CCM)

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus afin de vérifier s'il y a une différence d'efficacité entre les différentes méthodes d'extraction.

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange (**Lehout et al., 2015**), il est basé sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase (**Mahdjar., 2013**).

I.5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimique de routine d'extraits bruts, de fractions, ainsi que de produits purs isolés lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées.

Elle permet de suivre l'évolution d'une réaction et de tester la pureté d'un solvant (**Kahlouche., 2014**).

Elle est peu coûteuse, rapide, sensible (moins d'un milligramme d'analyte est nécessaire), souple quant au choix des phases mobile et stationnaire

I.5.2. Principe de la chromatographie sur couche mince :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption :

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière

plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires (Mechernene., 2014).

I.5.3. Le protocole

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie,
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant);
- Tracer la ligne de dépôt à environ 2,5 cm du bord de la plaque ;
- A l'aide d'une micropipette, déposer environ 0,5µl de chaque échantillon, le diamètre de la tâche environ 2mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt;
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant ;
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme;
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur ;
- Sécher le chromatogramme à l'air libre (Lehout et all., 2015).

Pour avoir des résultats fiables on a utilisé des différents systèmes d'élutions et deux méthodes de révélation, ils montré dans le tableau 2 :

I.5.4. Fluorescence sous lumière de Wood

L'absorption des substances sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique. Le tableau suivant montre la relation entre la fluorescence et la structure chimique (Mabry *et al.* 1970).

Tab 2: Relation fluorescence sous lumière de Wood et type de flavonoïdes

Couleur du spot du sous UV	Type des substances
Noir-violet	- Flavone - Flavonol substitué en 3 - Certain chalcones

Violet-mauve	- Flavanone ou flavanonol possédant un OH-3 - Flavanone sans OH en 5 - Flavonol substitué en 3 et sans OH en 5
Jaune	- Flavonol avec OH en 5
Jaune-vert	- Aurone
Jaune-brillant	- Flavonol substitué en 5
Orange-brillant	- Isoflavone
Vert	- Certaines chalcone
Vert-bleu	- Flavanone sans OH en 5

Tab 3 : Les différents systèmes d'élutions et les méthodes de révélation.

Les extraits	Les systèmes d'élutions	La méthode de révélation
MC1 et MC2	Chloroforme + Méthanol (9 / 1) (V / V)	Révélation sous lampe UV à 365nm.
	Chloroforme + Méthanol (8 / 2) (V / V)	
MC3	Chloroforme + Méthanol (9 / 1) (V / V)	
	Chloroforme + Méthanol (8 / 2) (V / V)	
	Chloroforme + Méthanol (7 / 3) (V / V)	

I.6. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes

I.6.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses (**Laraba et al., 2016**).

I.6.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolibdique (H₃PMO₁₂O₄₀), il est réduit par les phénols en un

mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à entre 725 et 750nm (**Benidiri et al., 2016**).

I.6.1.2. Le protocole de dosage des polyphénoles :

On va dissoudre 5 mg de l'acide gallique dans 5 ml d'eau distillé pour obtenir une solution mère de concentration 1 mg/ml (1000 μ g/ml). A partir de laquelle on a préparé une série de solutions filles (des solutions dilués) de concentration (10, 50, 100, 150 ,200 μ g/ml).

100 μ l de chaque solution fille ont été introduit dans des tubes a essai, suivis de l'addition de 250 μ l de réactif de Folin (1N) et 400 μ l d'eau distillée.

Après agitation puis repos pendant 2 minutes ,1250 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % ont été ajoutés.

- Les solutions sont déposées dans une chambre noire pendant 40 minutes a température ambiante.
- L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 725 nm a l'aide d'un spectrophotomètre.

Les valeurs obtenues avec les solutions filles d'acide gallique ont permis d'établir la courbe d'étalonnage correspondante (**Guetteche et al., 2016**).

I.6.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de *Matricaria chamomilla* (**Boudjouref., 2011**).

I.6.2.1 Principe

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence de chlorure d'aluminium, grâce aux groupements hydroxyles libres. Ainsi la couleur jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait (**Boussaa et al., 2016**).

I.6.2.2. Protocole de dosage des flavonoïdes :

Pour préparer le standard (rutine), on va dissoudre 4.8 mg de cette dernière dans 4.8 ml de méthanol, ça donne une concentration de 1mg /ml ou 100 μ g/ml.

A partir de la solution mère de la rutine (utilisée comme étalon), on va préparer des solutions filles de différentes concentrations (5, 10, 50, 100 ,150 et 200 μ g).

1ml de chaque solution fille de la rutine est introduit dans des tubes a essais, suivi de l'addition 1 ml d' $ALCL_3$ (trichlorure d'aluminium) (2%) préparé dans le méthanol.

- On laisse reposer dans une chambre noire pendant une heure.
- Après on fait la lecture de l'absorbance au moyen de spectrophotomètre a 480 nm.

Les valeurs d'absorbances obtenues avec les solutions filles de la rutine ont permis d'établir la courbe d'étalonnage correspondante (**Guetteche et all., 2016**).

II. Etude biologique

II.1. Activité atioxydante

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

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

Dans cette thèse, pour étudier la capacité d'antioxydant des extraits des plantes, le test au DPPH a été utilisé.

II.1.1. Test au DPPH

II.1.1.1. Principe

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydante. Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution en un composé jaune (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Bentaber et all., 2014, et Laouissi et all., 2019**).

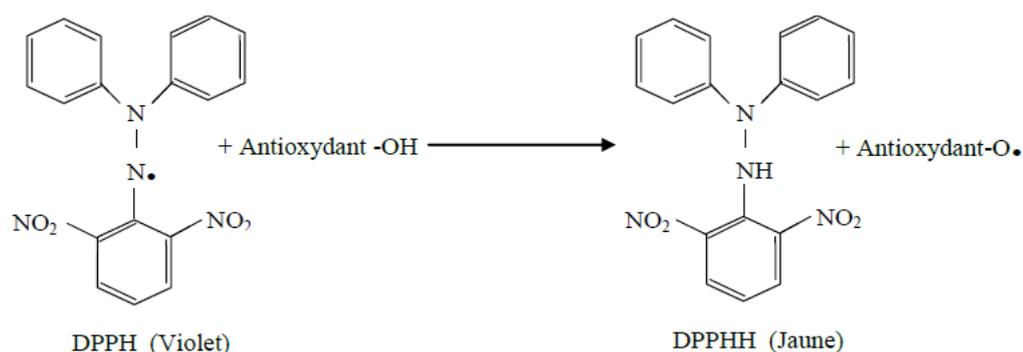


Fig 4: Forme réduite du radical DPPH.

II.1.1.2. Protocole du test de DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle).

- Les extraits : ch1 (infusé), ch2 (décocté) et ch3 (éthanol), ont été préparés dans le méthanol et le DMSO respectivement à partir de dissoudre 4 mg dans 1 mL de chaque solvant correspondant.
- Une série de dilutions à été préparée de nos extraits et ainsi du standard (α -tocophérol), (800-400-200-100-50-25-12,5 $\mu\text{g/mL}$).
- Ensuite, 40 μl de chaque solution ont été ajoutés à 160 μl de la solution de DPPH préparée. Après 30 min d'incubation dans une chambre noire à température ambiante, les absorbances des échantillons ont été mesurées avec un spectrophotomètre à 517 nm. Le pourcentage de piégeage du radical DPPH a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$I\% = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échant}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition.

Abs contrôle : absorbance du contrôle négatif.

Abs échant : absorbance de l'échantillon.

L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des IC_{50} (concentration inhibitrice de 50 % des radicaux DPPH). Cette concentration a été calculée à partir du graphe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon en utilisant Microsoft Excel.

II.2. Activité antibactérienne

II.2.1. Définition de l'activité antibactérienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries (Elharas et al., 2013).

II.2.2. Antibiotiques

Antibiotiques Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries), dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier, mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales. Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse (Benattia et al., 2019).

II.2.3. Les souches bactériennes testées

Cette étude est pour évaluer l'activité antibactérienne des trois extraits et pour vérifier s'il ya une différence d'efficacité entre les trois méthodes d'extraction.

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des extraits sont des souches de référence de type (ATCC), il s'agit d'*Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Klebsiela pneumonia* (ATCC14352).

Les souches bactériennes nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université Mohammed khaidar, et les manipulations ont été effectuées au centre de recherche **CRSTRA-BISKRA**.

- **Escherichia coli**

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm, *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire,

elle provoque également les diarrhées d'été ,diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Harrar., 2012).

- **Staphylococcus aureus**

C'est une espèce de la famille de Micrococcaceae, constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposées en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec .Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Ces caractères ubiquitaire et saprophytique expliquent que ces germes soient aussi des commensaux occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Les Staphylococcus aureus peuvent causer des infections intestinales superficielles, infections des plaies et du sang, comme elles acquièrent facilement des résistances aux antibiotiques, en particulier à la méthicilline et à la pénicilline (Benattia et all., 2019).

- **Klebsiella pneumoniae**

Les bactéries appartenant à l'espèce Klebsiella pneumoniae sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (Ait Baziz et all., 2017).

II.2.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de *Matricaria chamomilla*, nous avons utilisé la méthode de diffusion par disques. Cette méthode consiste à utiliser des disques de papier filtre imprégnés des substances à tester, ces derniers sont déposés à la surface de la gélose ensemencée avec une suspension bactérienne. On détermine une zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'antibiotique ou de la substance à tester (Fauchère., 2002).

II.2.4. Le protocole expérimentale

1. Préparation de milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux extraits MC nous utilise le milieu Mueller-Hinton, ce dernier est préparé comme suit: on dissout 14.25g de la gélose dans un 350 ml d'eau distillée, ensuite on chauffe sur une plaque chauffante avec agitation jusqu'à dissolution complète. Après on verse la gélose dissolue dans des flacons puis stérilisés avec cocotte minute pendant 15minutes à 125°C (conserver les flacons à température ambiante jusqu'à l'utilisation). Avant l'utilisation il faut liquéfier (fondre) la gélose dans un four microonde pendant 30 min, puis on coule le milieu dans des boites de pétri.

2. Préparation des disques

Des disques de diamètre 6 mm de papier Whatman N°:3 est découpés à l'aide d'un perforateur de papier.

3. Stérilisation du matériel

Le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des extraits, la solution de DMSO, les disques (dans une boîte de pétri) et les micros filtres (sont enrobés avec du papier aluminium) Être stérilisé dans la cocotte minute pendant 35 minutes.

La paillasse est stérilisée avec l'éthanol diluée 70%, et on laisse les deux Bec bunsen ouverts pendant 10 min pour bien stérilisation.

4. Préparation et stérilisation des extraits

Les extraits d'*Artemisia herba alba* asso Être dissous dans 1 ml de diméthylsulfoxyde DMSO (solvant organique neutre), les concentrations de chaque extrait sont :

- **Stérilisation**

Les extraits préparés doivent être stérilisés comme suit: (le travail est entre les deux becs bunsen).

A l'aide d'une seringue on prend l'extrait, ensuite on place le micro filtre de 0.22m dans la seringue, puis on décharge l'extrait à travers le micro filtre dans un autre tube stérile.

5. Préparation des suspensions bactériennes

On prélève à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bactériennes bien isolées, puis décharger l'anse dans le tube (l'écouvillon) qui contient 5 ml d'eau physiologique. On agite ensuite les écouvillons au vortex pendant quelques secondes.

6. L'ensemencement

Le travail est toujours entre les deux bec bunsen. On trempe un écouvillon dans la suspension bactérienne puis ensemencer la totalité de la surface de gélose par des stries parallèles. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 90° à chaque fois. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche.

7. Application des disques

Dans chaque boîte de pétri on sélectionne les places des disques, puis on dépose à l'aide d'un pince stérile (flambée) les disques sur la surface de la gélose, chaque boîte contient 5 disques:

- trois disques imprégnés par les trois extraits.
- un disque imprégné d'une solution de DMSO considéré comme un témoin négative.

- un disque imprégné d'antibiotique considéré comme un témoin positive (GENTAXYN).

On laisse les boîtes de pétri sur la paillasse au moins 15 min pour une pré-diffusion, et on ferme par l'utilisation de para film.

8. Incubation

On incube les boîtes de pétri à 37°C pendant 24h.

CHAPITRE III :

RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS

I. Etude comparative des techniques d'extraction

Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction préconisée en médecine traditionnelle : Infusion, décoction et macération alcoolique (éthanol 100%).

L'étude comparative des ces trois méthodes d'extraction se porte sur :

- Le rendement des trois extraits obtenus
- Screening phytochimique
- Le criblage chromatographique ;
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux ;
- L'activité antioxydant
- L'activité antibactérienne.

Malheureusement, (dosage de polyphénols et flavonoïdes, activité antibactérienne) n'a pas été réalisé à cause de la pandémie et quarantaine pour Corona.

I.1. Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les différents métabolites secondaires) à été déterminé par rapport a la masse de la matière dans chaque méthode d'extraction.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le tableau 1 :

Tab 1 : Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction à partir de la plante *Matricaria chamomilla*.

Matériel végétal	Extrait	poids des extraits (g)	rendement %
25g	MC1 (10g)	2,02	20,2 %
	MC2 (10g)	4,11	41,1 %
	MC3 (5g)	0,9g	18 %

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que le rendement le plus élevés de *Matricaria chamomilla* est celui de l'extrait décocté (41,1%) suivi par l'extrait infusé (20,2%) alors que le rendement le plus faible est obtenu par l'extrait éthanolique (18%).

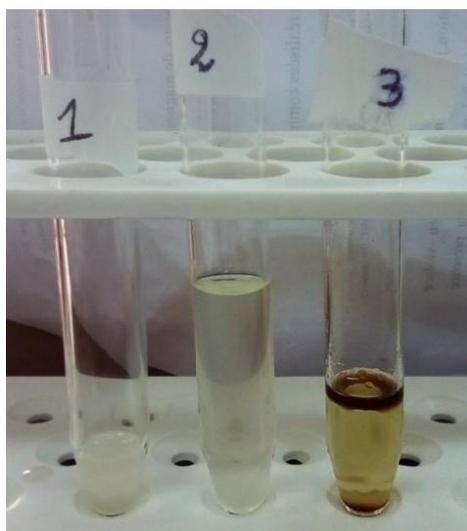
D'après ces résultats, on constate que le rendement d'extraction dépend de la méthode, la nature du solvant, la température, temps d'extraction et la composition de l'échantillon.

I.2. Screening Phytochimique

Dans notre étude nous avons réalisé des tests phytochimique sur trois différent d'extraits (infusé, décocté, extrait éthanolique) de plante *Matricaria chamomilla*, afin de mettre en évidence les différentes classes des métabolites secondaires constituants de cette plante médicinale et aussi pour avoir une bonne idée sur leurs activités pharmacologiques.

Les groupes chimiques sont présentés sur les tableaux ci-dessous (2, 3).

1. L'Extraits alcoolique (éthanol 100%)



Des terpènes et des stérols insaturés



Des triterpènes



Des saponines



Des tanins caté chique et galliques



Flavonoïdes

Fig 1 : tests du screening phytochimique.

Tab 2 : Mise en évidence des métabolites secondaires dans l'extrait alcoolique.

Recherche	MC3
les terpènes	-
les stérols insaturés	-
les triterpènes	-
les saponines	+
les flavonoïde	++
les tanins caté chique	+
les s tanins galliques	+
les coumarines	+
les alcaloïdes : par mayer	-

(+): présence, (++): abondance, (-): absence,

2. Les extrais MC1 et MC2

Tab 3 : Mise en évidence des métabolites secondaires dans les extraits (MC1) et (MC2).

Recherche	MC1	MC2
les terpènes	+	-
les saponines	+	+
les flavonoïdes	+++	++
les tanins caté chique	+	+
les tanins galliques	+	+
les coumarines	+	+
les alcaloïdes : par mayer	-	-

Le screening phytochimique des extraits de *Matricaria chamomilla* a montré une richesse en métabolites secondaires. Alors que l'infusé est plus riche en composés terpénique.

Les groupes chimiques mis en évidence sont les flavonoïdes, les tanins (caté chiques et galliques), terpènes, les saponines et les coumarines, (Tableaux 2, 3). Ainsi que le terpène a été mis en évidence dans l'extrait infusé.

Alors que les alcaloïdes n'étaient pas mis en évidence par le screening phytochimique dans trois extraits et les terpènes dans les deux extraits (décocté et éthanolique), Ainsi que l'absence des stérols et des triterpènes dans l'extrait éthanolique.

La présence de ces composés chimiques (les flavonoïdes, les tanins, et terpènes, les saponines et les coumarines) dans cette plante médicinale, révèlent que la *Matricaria chamomilla* L. possède des activités biologiques intéressantes :

- ✚ Les flavonoïdes exercent un spectre très large d'activités biologiques et pharmacologiques comprenant des activités antitumorales, antioxydante, anti-inflammatoire, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, anti-allergiques et anti-ulcéreuses.
- ✚ Les tanins sont doués d'activité antifongique, antibactérienne et antioxydante.
- ✚ Les terpènes possèdent des activités antitumorales.
- ✚ Les saponines sont connues pour leurs activités anti-tumorales, anti-inflammatoires, immunostimulants, immunoadjuvants et anti-microbiennes.

La richesse de ces extraits en composés phytochimiques est compatible avec les nombreux usages traditionnels de cette plante médicinale.

A travers les résultats de l'examen botanique pour rechercher des récepteurs secondaires, nous concluons que la méthode d'extraction par infusion est la meilleure car elle contient plus de métabolites secondaires notamment les flavonoïdes.

I.3. Chromatographie sur couche mince CCM

Pour un essai d'analyse qualitative de nos différents extraits (MC1, MC2, MC3) de la plante *camomille*. On a utilisé la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre. On utilisant systèmes d'élution de polarité différente.

Les résultats représentés dans les figures:

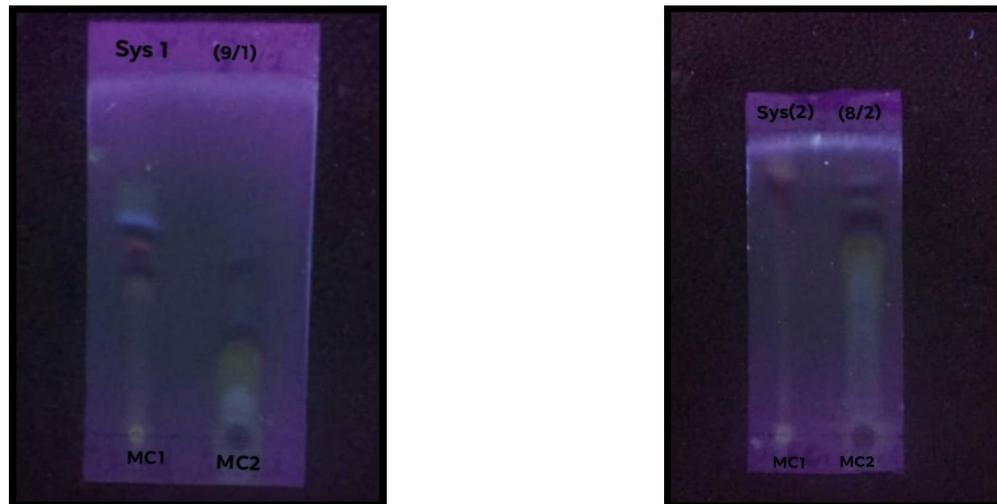


Fig 2: Révélation de plaque CCM de MC1 et MC2 sous lampe UV365 nm (deux systèmes de solvants).

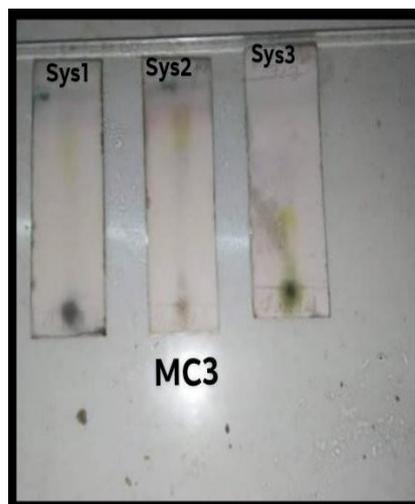


Fig 3: Résultat de la CCM d'extait MC3 (UV 365nm).

D'après l'observation des chromatogrammes sous lampe UV (365nm). Les résultats présentent dans système (Chloroforme/Méthanol (8/2) (V/V)) pour les deux extraits (MC1 et MC2) une bonne migration grâce à la bonne séparation des molécules contre le système (Chloroforme/Méthanol (9/1) (V/V)). Mais l'extrait (MC3) résultats présenté migration dans système (Chloroforme/Méthanol (7/3) (V/V))

Les spots obtenus confirment la présence des métabolites secondaires dans nos extraits étudiés.

On remarque aussi l'apparition les couleurs différent pour spots (Bleu clair, Jaune terne, jaune, orangé, Brun) sont des couleurs qui présente les flavonoïdes.

Nous concluons de cette étude que l'infusé contient plusieurs récepteurs secondaires, suivi de l'extrait de décoction, tandis que l'extrait éthanolique contient moins de composés.

I.4. Activité antioxydante

Dans cette partie d'étude nous avons procédé à l'évaluation du pouvoir anti-radicalaire avec le DPPH des extraits (MC1, MC2, MC3) de *Matricaria chamomilla* L (Tab 3).

L'activité antioxydante des trois extraits de la même plante subissant différents protocoles de macération a été exprimée en valeurs CI_{50} (une valeur faible de CI_{50} indique une forte capacité de l'extrait à inhiber les radicaux libres, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait). La CI_{50} de chaque extrait a été déduite de la courbe d'étalonnage correspondante.

En comparant les valeurs de CI_{50} des trois extraits mis en test en utilisant la méthode de DPPH radical scavenging, on constate que l'extrait MC1 (infusé) de l'espèce () possède un pouvoir antioxydant puissant ($IC_{50}(MC1) = 2,46 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$), suivi respectivement des extraits MC2 (décocté) et MC3 (ethanol) avec $IC_{50} = 4,07 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$, $IC_{50} = 4,12 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

D'une part, ces résultats nous ont permis de classer ces extraits en fonction de leur activité antioxydante comme suit : $MC1 > MC2 > MC3$.

D'autre part, l'activité inhibitrice des trois extraits est plus élevée que celles des standards α -tocophérol ($CI_{50} = 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g /mL}$) ; si bien que l'infusé (MC1) est le plus actif.

Tab 3 : Activité anti-radicalaire du DPPH : IC_{50} de l'extrait (infusé, décocté et éthanolique) de *Matricaria chamomilla*.

Les extraits	$IC_{50} \mu\text{g/ml}$
MC1	$2,46 \pm 0,06 \pm 0,18$
MC2	$4,07 \pm 0,18$
MC3	$4,12 \pm 0,16$
α -tocophérol	$13,02 \pm 5,17$

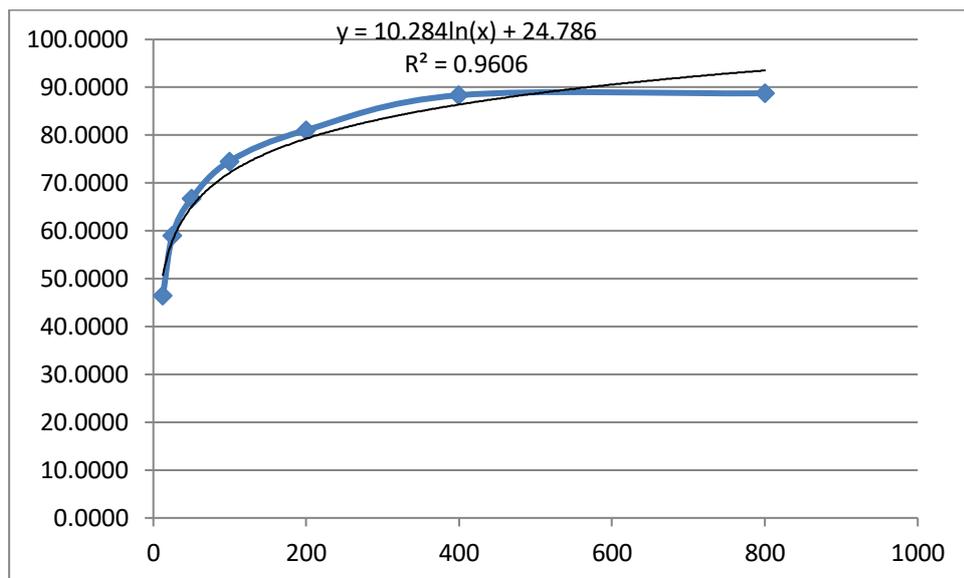


Fig 4: Activité anti radicalaire de l'infusé (MC1) et α -tocophérol

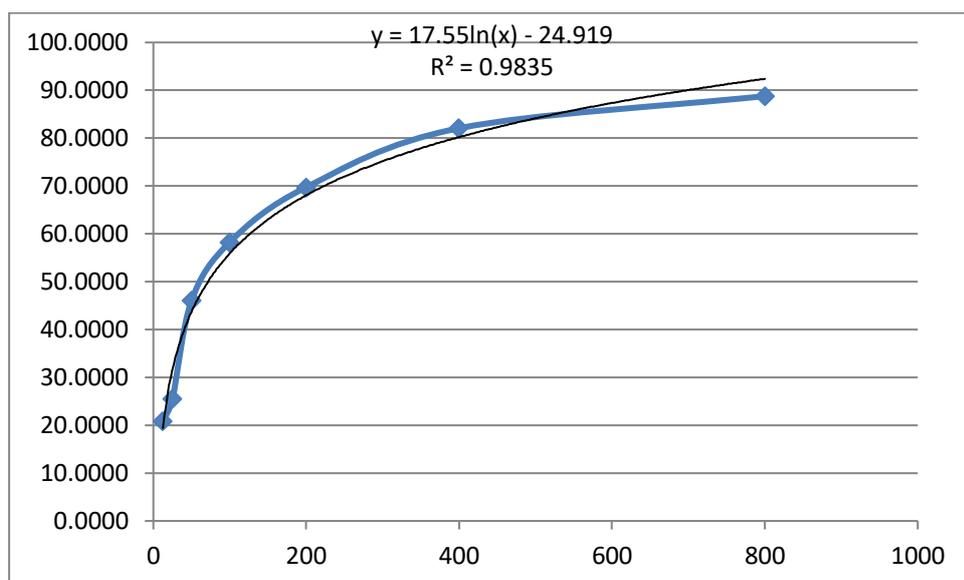


Fig 5: Activité anti radicalaire du décocté (MC2) et α -tocophérol

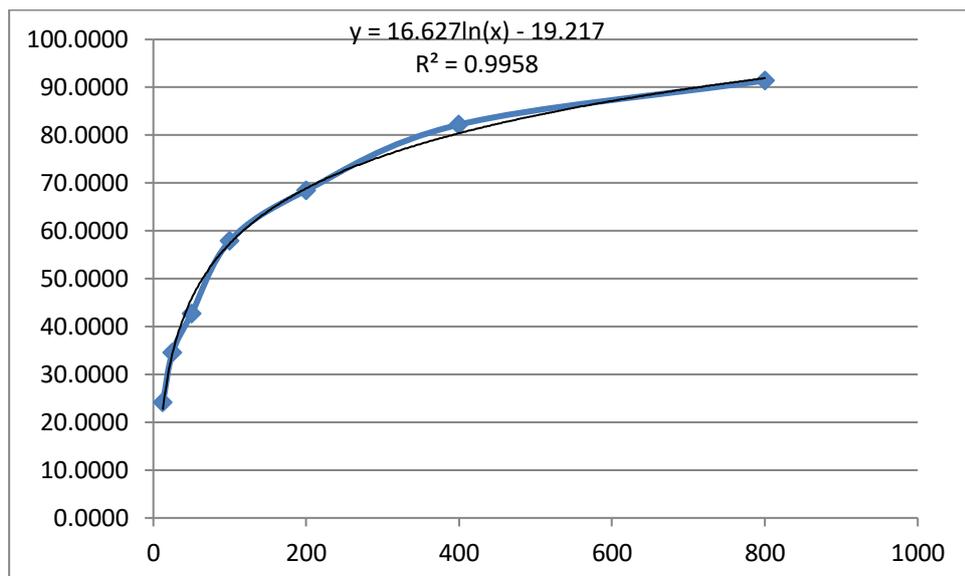


Fig 6: Activité anti radicalaire de l'extrait éthanol (MC3) et α -tocophérol

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion

Conclusion

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'une étude comparative de trois techniques d'extraction des parties aériennes de la plante, *Matricaria chamomilla* (Astracées).

Il s'agit, en l'occurrence, de l'extraction par infusion dans l'eau chaude, pendant 15 min, l'extraction par décoction dans l'eau bouillante pendant 15 min, et l'extraction par macération dans l'éthanol pendant 48 heures, la comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage phytochimique et l'analyse chromatographique et d'évaluer l'activité antioxydant et antibactérienne des trois extraits obtenus.

Nous avons choisi d'effectuer nos extractions sur 10 g de poids sec, ce qui représente la dose moyenne utilisée traditionnellement par la population algérienne.

Les résultats de l'étude comparative montrent que le rendement d'extraction de ces composés le plus élevé a été obtenu par le décocté (MC2) (41,4%), suivi par l'extrait infusé (MC1) (22.2%), et enfin extrait éthanolique (MC3) (18%).

L'analyse qualitative, après séparation par CCM, sous UV à 365 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) dans tous les extraits issus des trois méthodes. Ces taches, qui sont colorées principalement en bleu, jaune et orange, confirment la présence des composés visés.

Les tests de screening phytochimiques réalisés sur les extraits de la plante *Matricaria chamomilla*, a permis d'identifier plusieurs métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, coumarines...). L'extrait le plus riche des métabolites secondaires a été obtenu par l'infusion suivie la décoction Et macération.

Le pouvoir anti radicalaire a été évalué en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH.), les concentrations inhibitrices à 50 % (CI50) sont estimées à $13,02 \pm 5,17$ (α -toco-phérol), $2,46 \pm 0,06 \pm 0,18$ (MC1), $4,07 \pm 0,18$ (MC2) et $4,12 \pm 0,16$ $\mu\text{g/ml}$ (MC3), ces résultats montrent que l'infusé (MC1) a donné une bonne activité anti-oxydante par rapport aux deux autres extraits qui nous a expliquée par la richesse de ce dernier aux composés phénoliques qui sont des acides phénoliques et les flavonoïdes signés dans le criblage chimique et maitre l'extraction par infusion en faveur.

Conclusion

Cette étude nous a orientés de choisir l'extraction par infusion comme la bonne méthode d'utiliser cette plante dans les recettes traditionnelles, et nous a encouragés de la formulée comme additif alimentaire antioxydant

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

A

Achoub Hanane., 2013. Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase n-butanol. Mémoire magister. Université Constantine I.

Ait Baziz Hanane, Chemali Aicha., 2017. Evaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'une plante médicinale locale. Mémoire master. Université A. Mira. Bejaia.

B

Benattia Zoulikha, Hellali Ahlam., 2019. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L. Mémoire master. Université Mohamed Boudiaf. M'sila.

Benidiri Sabrina, Benmammam Sonia., 2016. Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de L'activité Antioxydante de *Rhamnus alaternus* L et *Malva sylvestris* L. Mémoire Master. Université Abderrahmane Mira. Bejaia.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

Benzeggouta Naïrouz.; 2015. Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux De plantes médicinales seules et combinées. Thèse doctorat. Université Mentouri. Constantine.

Boudjouref Mourad., 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire magister. Université Ferhet Abbas, setif.

Boussaa Karima, Izeraren Leila., 2016. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Rhamnus alaternus* L. Master. Université Abderrahmane Mira. Bejaia.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.

C

ChettahAbdEldjalil, BoutaaruchetAissa., 2016. Intitulé Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires d'une espèce du genre *Atriplex* (Chénopodiacées) et activité antioxydante. Mémoire master. Université des frères Mentouri. Constantine.

D

Dieng, M., Fall, A. D., Diatta, K., Diatta, W., & Bassene, E. (2015). Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2), 1067-1071

Djoubani Kenza, Hamadouche Naima, BoudraaOuarda., 2017. Evaluation du pouvoir antimicrobien de plusieurs extraits polyphénolique de deux espèces végétales *Chamaemelumnobil* L. et *Matricariachamomilla* L. Mémoire master. Université M'hamedBougaraBoumerdès.

Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaealythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.

E

Elharas, K., Daagare, A., Mesifioui, A., & Ouhssine, M. (2013). Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *LaurusNobilis* et *LavandulaAngustifolia*. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(2), 134-141.

F

Fauchère J.L, Avril J.L., 2002.- "Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris, 365 p.

G

GhizlaneHajjaj., 2017. Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricariachamomilla* L. Et de l'ormenismixtal. (Asteraceae). Thèse doctorat. Université Mohammed V-Rabat-.

Guéttecheamina, BelhaouesZaineb., 2016. Etude de métabolites flavoniques du genre 'Thymus' et l'activité antioxydante. Mémoire master. Université des Frères Mentouri. Constantine 1.

L

Laouissi Kenza, ChettouhMerbouha., 2019. Amélioration des propriétés fonctionnelles d'un shampooing par l'addition de flavonoïdes. Mémoire master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim-B.B.A.

LehoutRoumeissa, Laib Maya., 2015. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : Artemisia herba alba Asso. Mémoire Master. Université des Frères Mentouri. Constantine

M

MahdjarSalha., 2013. Contribution à l'étude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydante. Mémoire master. Université KasdiMerbah Ouargla.

ManallahAhlem., 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire magister. Université Farhet Abbas-Setif.

S

Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 82.

Abstract

The present works concern the validation of traditional use of a species belonging to the Algerian flora long used in traditional medicine: *Matricaria chamomilla* (Astraceae).

This work is based on a comparative study of three methods of extracting of this plant: infusion, decoction and alcoholic maceration and has allowed us to give three extracts; infused (MC1), decocted (MC2) and alcoholic extract (MC3) with a yield rate of 20,2%, 41,4% and 18% respectively.

The phytochemical evaluation of these extracts was based on analysis by thin layer chromatography (tlc), using different elution systems and chemical screening which show the richness of these extracts in secondary metabolites, in particular phenolic compounds and flavonoids.

Free radical scavenging effects were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH.), The 50 percent inhibitory concentration for DPPH. (IC₅₀) were $13,02 \pm 5,17$ (α -tochophérol), $2,46 \pm 0,06 \pm 0,18$ (MC1), $4,07 \pm 0,18$ (MC2) et $4,12 \pm 0,16$ $\mu\text{g/ml}$ (MC3).

Key words: Astraceae, *Matricaria chamomilla*, phtochemical screening of phenolic compounds, antioxidant activity.

Résumé

Notre travail est inscrit dans le cadre de la validation d'usage traditionnelle d'une espèce appartenant à la flore algérienne utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle : *Matricaria chamomilla* (Astracées).

Ce travail est basé sur une étude comparative de trois méthodes d'extraction des parties aériennes de cette plante : infusion, décoction et macération alcoolique et nous a permis de donner trois extraits ; infusé (MC1), décocté (MC2) et l'extrait alcoolique (MC3) avec un taux de rendement 20,2%, 41,4% et 18 % respectivement.

L'évaluation phytochimique de ces extraits a été basée sur l'analyse par chromatographie sur couche mince (ccm), utilisant différents systèmes d'élution et le screening chimique qui montrent la richesse de ces extraits en métabolites secondaires notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes.

Le pouvoir anti radicalaire a été évalué en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH.), les concentrations inhibitrices à 50 % (CI50) sont estimées à $13,02 \pm 5,17$ (α -toco-phérol), $2,46 \pm 0,06 \pm 0,18$ (MC1), $4,07 \pm 0,18$ (MC2) et $4,12 \pm 0,16$ $\mu\text{g/ml}$ (MC3).

Mots clés: Astracées, *Matricaria chamomilla*, screening phytochimique composés phénoliques, activité antioxydant.

الملخص

هدفنا هو التحقق من صحة الاستخدام التقليدي لنبات البابونج.

البابونج هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الأستراسيل.

تم الحصول على مستخلصات البابونج باستعمال الطرق التقليدية لاستخلاص الأجزاء الهوائية لهذه النبتة:

1- الاستخلاص بواسطة الماء الساخن (التسريب) تحصلنا على مستخلص (MC1) بمردود 22,2 بالمئة.

2- الاستخلاص بواسطة الماء المغلي (الغليان) تحصلنا على مستخلص (MC2) بمردود 41.1 بالمئة.

3- الاستخلاص بواسطة النقع الكحولي (لنقع في الايثانول) تحصلنا على مستخلص (MC3) بمردود 18 بالمئة.

اثبت الفحص النباتي والتحليل الكروماتوغرافي ثراء هذه المستخلصات بالايضيات الثانوية و خاصة المركبات الفينولية و الفلافونويدات.

تم تقدير نشاط مضاد للأكسدة باستخدام DPPH اظهرت النتائج ان المستخلص (MC1) له نشاط مضاد للأكسدة مهم مقارنة بالمستخلصين (MC2), (MC3)

الكلمات المفتاحية: استراسيا, البابونج. الفحص النباتي. المركبات الفينولية, النشاط مضاد للأكسدة.