

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955- سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOÛT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie Mémoire

Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biochimie Appliquée.

Intitulé

**Évaluation de l'activité anti-bactérienne, antioxydante et
anti-inflammatoire des Polyphénols de la plante médicinale**

Matricaria Chamomilla L.

Présenté Par : - Rekioua Maya .
- Ouatouat Asma.
- Bouleklouk Imane.
- Sid Manar.

Membres de Jury:

Dr :Gabli Z.	MCA	Présidente	Univ. 20 août 1955- Skikda
Dr. Khadri S.	MCB	Directrice	Univ. 20 août 1955- Skikda
Dr.Guergueb S.	MCB	Examinatrice	Université 20 août 1955- Skikda

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

En premier lieu, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir données la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail. Ce travail n'aurait pu se faire sans le soutien de **nos parents** que nous remercions de tous cœur pour leurs encouragements.

Un immense merci à notre promotrice **Dr, Khadri Sihem** recevrez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.

Nous tenons à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordés en jugeant ce travail : **Dr, Gabli** , qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury et , pour avoir **Dr.Guergueb S** accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également aux techniciennes des laboratoires pédagogiques : **Asma et Farida**.

A tous les enseignants. Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion de master 2 promotion 2024-2025 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble. Que toute personne ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.



Dédicace

. Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail et aller jusqu'au bout du parcours de mes études. Je dédie du plus fond de mon cœur ce modeste travail : À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur maman **LAHIOUEL WIDAD** bien qu'elle m'ait quitté trop tôt, elle a été et restera toujours la source de ma force et le secret de ma fierté (Que la miséricorde de Dieu soit sur elle)

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir Réussir mon **PÈRE RABAH**

À mes grands-parent (que Dieu leurs fasse miséricorde) qui m'ont toujours encouragé à réussir dans mes études surtout ma grande mère ou plutôt ma deuxième maman **Nana khroufa** que j'aime beaucoup un grand merci pour tous leurs sacrifices et leur soutien ils restent gravés dans mon cœur même si malheureusement elle me regarde de là – haut je ne les oublierai jamais.

À mon encadrante **Dr KHADRI SIHEM** je la remercie infiniment pour sa gentillesse, sa disponibilité, son soutien et ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

À ma chère sœur **RANIA** qui m'a apporté un soutien moral pour progresser de plus en plus, je la remercie pour ces encouragements et son soutien.

À mes cher frères **Dhiaa Eddine** et **Abd erraouf** À mes adorables tantes **Zina** et **Marwa** qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant mes études. À mes oncles **Saleh** et **Sayf eddine** Mes dédicaces vont également à tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin et à toute personne qui un jour consultera ce document.

Maya



Dédicace

Louange à **Dieu** avant tout...

Avec tout l'amour et mes respects, je dédie ce modeste travail :

À mes chères parents ma mère **FATIMA** et mon père **REBAH** Pour leur encouragement, leur amour, leur soutien et leur patience tout au long de ma vie. Que dieu les garde et protège.

À mon cher grand-père **Hamida**, Tu es parti trop tôt, avant d'avoir pu me voir franchir cette étape si importante de ma vie.

Repose en paix.

À mes chères « **Maya, Assma et Imane** » qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et qui ont partagé avec moi les moments difficiles.

A tout ma famille de **SID**.

A tous mes amis (e) sans exception

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université.

À mon encadreur Mme. **khadri sihem**.

À mes collègues de la promotion de master "**Biochimie Appliquée**".

À tous ceux qui me connaissent et qui m'aiment.

Manar



Dédicace

Louange à Dieu avant tout...

Avec tout l'amour et mes respects. Je dédie ce modeste travail: À mes chers parents, mon père **Brahim** et ma mère **saida** Pour leurs encouragements, leur amour, leur soutien et leur patience tout au long de ma vie. Que Dieu les garde et les protège

À mes adorables sœurs **Roumaissa** , **lina** , et mes frères **Seif Elddine** , pour leurs encouragements et leur aide.

À mon coeur **Djihane** pour Son soutien et sa présence à mes côtés

À mes chères **ASMA**, **Abir**, **kenza** qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et qui ont partagé avec moi les moments difficiles. À toute ma famille. À tous mes ami(e)s sans exception.

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université. À mon encadrant **Mme KHADRI SIHEM**.

À mes collègues de la promotion de master << Biochimie Appliquée >>. A tous ceux qui me connaissent et qui m'aiment.

Imane



Dédicace

Louange à Dieu avant tout... Avec tout l'amour et mes respects. Je dédie ce modeste travail: À mes chers parents, mon père **TORKI** et ma mère **ZOUBIDA** Pour leurs encouragements, leur amour, leur soutien et leur patience tout au long de ma vie.

Que Dieu les garde et les protège À mes adorables sœurs **CHAIMA**, **KENZA**, **SALMA**. et **NOUR** et mes frères **AMDJED**, **A/ LATIF** et **A/WADODE** pour leurs encouragements et leur aide. À mon coeur **HAROUN** et **BATOULE** pour leurs sourires.

À mes chères **ASMA**, **IMANE**, qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et qui ont partagé avec moi les moments difficiles.

À toute ma famille. À tous mes ami(e)s sans exception.

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université. À mon encadrant Mme **KHADRI SIHEM**. À mes collègues de la promotion de master << Biochimie Appliquée >>. A tous ceux qui me connaissent et qui m'aiment.

Asma

Sommaire

Remercîment

Dédicaces

Sommaire

Liste Des Tableaux

Liste Des Figures

Liste Des Abréviations

Résumé

Abstract

المخلص

Introduction Page 1

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Phytothérapie et plantes médicinales

I. Phytothérapie Page 5

I.1. Types de phytothérapie Page 5

I.2. Bienfaits de la phytothérapie Page 6

I.3. Usage de la phytothérapie Page 6

II. Plantes médicinales Page 6

II.1. Définition Page 6

II.2. Métabolites secondaires Page 8

II.3. Composés phénoliques Page 8

II.3.1. Principales classes des composés phénoliques Page 8

II.3.2. Activité biologiques des polyphénols	Page 9
II.3.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques	Page 12

Chapitre 02 : Plante étudiée – *Matricaria Chamomilla L.*

I. Généralité sur la famille des Astéracées	Page 13
II. Description de la plante	Page 13
II.1. Botanique	Page 13
II.2. Géographique	Page 14
III. Position systématique de la plante	Page 14
IV. Composition chimique de <i>Matricaria Chamomilla L.</i>	Page 14
V. Activités biologiques	Page 15

Partie bibliographique

Chapitre 03 : Matériel et Méthodes

I. Matériel	Page 19
I.1. Matériel végétal	Page 19
I.2. Souches bactériennes à tester	Page 20
I.3. Matériel du laboratoire	Page 20
II. Méthodes.....	Page 21
II.1. Extraction des composés phénoliques	Page 21
II.2. Calcul du rendement en extrait sec	Page 21
II.3. Dosage des polyphénols totaux	Page 21
II.4. Dosage des flavonoïdes totaux	Page 22
II.4. Évaluation des activités biologiques	Page 23
II.4.1. Test de l'activité antibactérienne.....	Page 23
a. Méthode de diffusion en puit	page 23

b. Méthode de microdilution en milieu liquide	Page 25
II.3.2. Test de l'activité anti-oxydante	Page 26
III.3.3. Test de l'activité anti-inflammatoire	Page 27
a. Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).....	Page 28
b. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges	Page 29
III.4. Étude statistique	Page 30

Chapitre 04: Résultats et discussion

I. Rendement	page 31
II. Teneurs en composés phénoliques.....	Page 31
III. Activités anti bactérienne	page 34
IV. Activités anti oxydante	page 37
V. Activité anti inflammatoire	Page 39
Conclusion.....	page 43
Références bibliographique.....	page 456

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leur propriété	07
Tableau 02: Activités des certains composés phénoliques	10
Tableau 03: Quelques constituants chimiques de la camomille	15
Tableau 04 : Certaines activités biologiques de <i>Matricaria Chamomilla L</i>	16
Tableau 05 : Caractéristiques de l'extrait polyphénolique	31
Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait polyphénolique brut de <i>Matricaria Chamomilla L</i>	35
Tableau 07 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique de <i>Matricaria Chamomilla L</i>	36
Tableau 08: Valeurs des IC50 de l'extrait de la plante <i>Matricaria Chamomilla L</i> . ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique)	38

Liste des figures

Figure 01: Classification générale des polyphénols.....	09
Figure 02: Différents parties de <i>Matricaria Chamomilla L</i>	13
Figure 03 : préparation du matériel végétal	19
Figure 04: Carte géographique montre la région de récolte	20
Figure 05 : Etapes d'extraction des composés phénoliques	21
Figure 06: Préparation de l'inoculum d' <i>Esherchia Coli</i>	24
Figure 07: Application des puits sur gélose ensemencée par la souche <i>E,Coli</i>	24
Figure 08 : Méthode de micro dilution en milieu liquide	25
Figure 09 : mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) 26	
Figure 10 : Teste de piégeage du radical libre DPPH.....	27
Figure 11 : Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA	28
Figure 12 : Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.....	30
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	32
Figure 14 : Teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de <i>Matricaria Chamomilla</i> 32	
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine	33
Figure16 : Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique de <i>Matricaria Chamomilla</i> 34	
Figure 17 : Activité anti radicalaire du l'extrait de la plante <i>Matricaria Chamomilla</i> et l'antioxydant standard l'acide ascorbique	37
Figure 18 : pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges par L'extrait poly phénolique brut de la plante <i>Matricaria Chamomilla L</i> et Diclofénac.	39
Figure19 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA par L'extrait polyphénolique brut de la plante <i>Matricaria Chamomilla L</i> et Diclofénac.	40

Liste des abréviations

Abs : Absorbance à la longueur d'onde

ADN : Acide désoxyribonucléique

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

ARN : Acide ribonucléique

BHA : Butylhydroxyanisole .

BMH : Bouillon de Mueller-Hinton.

BSA : Albumine sérique bovine

COX :Cyclooxygénase

DMSO: Diméthyle Sulfoxyde.

DO: Densité optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

EAG : équivalent d'acide gallique

GN : Gélose nutritif.

GR : Globule rouge

LOX :Lipoxygénase

MH: Gélose de Mueller- Hinton.

QE : équivalent de quercétine

Rdt : Rendement.

SOD : Superoxyde dismutase

tr/min: Tour par minute

UFC : Unité formant des colonies.

Résumé

Depuis fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours pour la fabrication de remèdes naturels. Elles ont été utilisées par différentes civilisations en médecine traditionnelle. L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire des composés phénoliques de la plante médicinale *Matricaria Chamomilla L* appelée communément « *babounedj* » ; une plante herbacée qui appartient à la famille des Astéracées très connue par ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des composés phénoliques de la plante a été effectuée par macération qui a donné un rendement indique une richesse en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes. L'extrait brut dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométrique avec un taux de $92,26 \pm 0,06 \mu\text{g EAG/mg}$ et $61,11 \pm 0,5 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement.

L'activité antibactérienne de l'extrait a été testée sur cinq souches bactérienne de références à savoir : *Escherchia coli ATCC25922*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853*, *Klibsiella pneumoniae ATCC13883* , *Salmonella typhimurium ATCC14023* , *Staphylococcus aureus ATCC25923* par deux méthodes : la méthode de diffusion en puits et celle de micro dilution en milieu liquide (microplaque). les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Matricaria Chamomilla L* possède une bonne activité inhibitrice de croissance vis-à-vis de la plupart des souches testées

L'extrait de *Matricaria Chamomilla* possède une activité antioxydante notable contre le radical libre DPPH•, bien que moins puissante que celle de l'acide ascorbique avec une valeur d'IC₅₀, indicateur de l'efficacité antioxydante significativement plus faible pour l'acide ascorbique ($37 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$) que pour l'extrait ($62 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$), soulignant sa supériorité.

L'extrait polyphénolique brut de *Matricaria chamomilla* a démontré une excellente activité anti-inflammatoire significative à travers deux méthodes expérimentales : la stabilisation des membranes des globules rouges et l'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine. Bien que légèrement moins efficace que le diclofénac médicament de référence.

Mots clés : Activité anti-inflammatoire. Activité antimicrobienne .Activité antioxydante .Camomille (*Matricaria Chamomilla*) .Polyphénol

Abstract:

For a long time, medicinal plants have been the primary source for the production of natural remedies. They have been used by various civilizations in traditional medicine. The aim of our study is to evaluate the antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of the phenolic compounds of the medicinal plant *Matricaria chamomilla* L., commonly known as "Babounedj", an herbaceous plant belonging to the Asteraceae family, well known for its therapeutic properties. The extraction of phenolic compounds from the plant was carried out by maceration, which yielded an extract rich in phenolic compounds, especially flavonoids. The crude extract showed a notable content of total polyphenols and flavonoids, quantified using spectrophotometric methods, with values of 92.26 ± 0.06 μg GAE/mg and 61.11 ± 0.5 μg QE/mg, respectively. The antibacterial activity of the extract was tested on five reference bacterial strains: *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, *Salmonella typhimurium* ATCC14023, and *Staphylococcus aureus* ATCC25923, using two methods: the agar well diffusion method and the microdilution method in liquid medium (microplate). The results showed that the methanolic extract of *Matricaria chamomilla* L. possesses good inhibitory activity against most of the tested strains. The extract of *Matricaria chamomilla* demonstrated a significant antioxidant activity against the DPPH free radical, although less potent than ascorbic acid, with an IC₅₀ value significantly lower for ascorbic acid (37 ± 0.23 $\mu\text{g}/\text{ml}$) than for the extract (62 ± 1.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$), highlighting the superior effectiveness of ascorbic acid. The crude polyphenolic extract of *Matricaria chamomilla* showed excellent and significant anti-inflammatory activity through two experimental methods: stabilization of red blood cell membranes and inhibition of bovine serum albumin denaturation, although slightly less effective than the reference drug diclofenac.

Keywords: Anti-inflammatory activity. Antimicrobial activity. Antioxidant activity. *Matricaria chamomilla*. Polyphenol

منذ زمن بعيد، كانت النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي لصناعة العلاجات الطبيعية، وقد استُخدمت من قبل مختلف الحضارات في الطب التقليدي. يهدف عملنا إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا، والمضاد للأكسدة، والمضاد للالتهابات للمركبات الفينولية الموجودة في (Asteraceae) المعروف باسم "البابونج"، وهو نبات عشبي ينتمي إلى عائلة النجمية *Matricaria chamomilla L.* النبات الطبي تم استخراج المركبات الفينولية من النبات عن طريق النقع، وقد أعطت هذه الطريقة مردودًا يشير إلى .ويشتهر بخصائصه العلاجية غنى النبات بالمركبات الفينولية، خاصة الفلافونويدات. يحتوي المستخلص الخام على نسبة ملحوظة من البوليفينولات الكلية والفلافونويدات، والتي تم قياسها باستخدام طرق التحليل الطيفي، حيث بلغت القيم 0.06 ± 92.26 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص على خمس سلالات . و 0.5 ± 61.11 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ على التوالي *Escherichia coli* ATCC25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853، *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883، *Salmonella typhimurium* ATCC14023، *Staphylococcus aureus* ATCC25923، وذلك باستخدام طريقتين: طريقة الانتشار في الأوساط الهلامية وطريقة التخفيف في الوسط السائل (الصفائح ATCC25923 يمتلك قدرة جيدة على تثبيط نمو معظم السلالات *Matricaria chamomilla L.* الدقيقة). أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي /، وإن كان أقل DPPH نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً ضد الجذر الحر *Matricaria chamomilla* كما أظهر مستخلص .المختبرة ، التي تمثل مؤشر الفعالية المضادة للأكسدة، 0.23 ± 37 ميكروغرام/مل IC50 فاعلية من حمض الأسكوربيك، حيث بلغت قيمة وقد أظهر المستخلص الخام . لحمض الأسكوربيك مقارنة بـ 1.02 ± 62 ميكروغرام/مل للمستخلص، مما يبرز تفوق حمض الأسكوربيك نشاطاً مضاداً للالتهابات ممتازاً وملحوظاً من خلال تجربتين: تثبيط أغشية كريات *Matricaria chamomilla* متعدد الفينولات من الدم الحمراء وتثبيط تمسخ ألبومين مصل البقر، رغم كونه أقل فعالية بشكل طفيف من الدواء المرجعي ديكلوفيناك

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة . النشاط المضاد للالتهابات . النشاط المضاد للميكروبات . بوليفينول . ماتريكريا كاموميل (البابونج الألماني)

Introduction générale

Les soins par les plantes aussi appelées phytothérapie, est une science millénaire très ancienne basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. Il est très difficile d'établir avec précision l'origine de la première utilisation des plantes par les humains comme thérapie car toutes les cultures les ont utilisées à un moment de leur histoire comme source de traitement. On choisissait souvent les plantes pour leur apparence qui évoquait un organe ou une affection et il s'avéra souvent que cette similitude indiquait mystérieusement un effet thérapeutique.

En Algérie, les plantes médicinales occupent une place importante dans la médecine traditionnelle et sont utilisées dans de nombreux traitements. Une étude de 2009 révèle l'existence de 1926 herboristeries réparties sur le territoire, dont une forte concentration à Alger (199 magasins), Béchar (100), la pratique se transmet entre générations et connaît un intérêt croissant. (boumediou, A et al 2017)

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIII^e siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs qui sont des substances chimiques qui leur confèrent leurs propriétés thérapeutiques. La recherche des principes actifs des extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. (Larousse . 2001).

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, représentent l'un des groupes les plus étudiés dans la recherche actuelle sur les plantes médicinales. Ils sont présents dans de nombreuses parties de la plante (feuilles, fruits, racines) et jouent un rôle crucial dans la protection contre les rayons UV, les infections fongiques, et l'oxydation. En médecine, ils sont valorisés pour leurs effets antioxydants, antimicrobien, anticancéreux, neuroprotecteurs et anti inflammatoire (Balasundram et al.2006).

De nos jours, la plante *Matricaria chamomilla L.* est largement répandue dans le monde entier. Elle a été utilisée traditionnellement dans plusieurs pays pour soigner un certain nombre de maladies, notamment les troubles gastro intestinaux, le rhume, les troubles hépatiques, neuropsychiatriques et respiratoires. Aussi, cette plante est largement utilisée contre la douleur digestif, les infections urinaires et pour soigner les maladies de la peau, des yeux et de la bouche ((Güzel et al., 2015 ; Petrakou et al., 2020 ; Singh et al., 2011).

L'objectif de notre travail est de confirmer scientifiques l'utilisation traditionnelle de cette plante médicinale en évaluant in vitro certaines activités biologiques des ses polyphénols à savoir l'activité antibactérienne, anti oxydante et anti inflammatoire.

Partie bibliographique

Chapitre I

Phytothérapie et plantes médicinales

I. Phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement soigner avec Les plantes, Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique que s'est Transmis et enrichi au fil d'innombrables génération. La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales ou une seule partie active de ces plantes ayant des propriétés thérapeutiques, dont on peut distinguer deux concepts de la phytothérapie :

- **Phytothérapie traditionnelle** : Basée sur l'observation et l'expérience, elle utilise les plantes dans leur état naturel, sans transformation majeure. Cette approche est globale et holistique, s'éloignant de médecine Scientifique moderne, mais permet une observation sur le long terme.
- **Phytothérapie moderne** : Repose sur des connaissances biochimiques et des tests cliniques standardisés pour soulager les Symptômes, souvent sous forme de complément ou médicaments d'origine végétale présentés comme Spécialités pharmaceutiques. (Z, MOHAMMEDI . et *al* .2009).

I.1. Types de phytothérapie

- **Aromathérapie**

Est une thérapeutique qu'utilise les essences des plantes, ou les huiles essentielles, substances Aromatique secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits Complexes à utiliser souvent à travers la peau.

- **Gemmothérapie**

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les Bourgeons et les radicules.

- **Herboristerie**

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne l'herboristerie sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruit, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre sèche que le sujet avale.

- **Homéopathie**

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

- **Phytothérapie pharmaceutique**

Elle utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et que sont dilués dans L'alcool éthylique ou autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, gouttes, gélules et lyophilisats. (strang 2006)

I.2. Bienfaits de la phytothérapie

- Elle offre de nombreux avantages malgré les avancées de la médecine moderne. Les plantes ont toujours été une source majeure de soins, mêmes dans les cas de maladies graves.
- Elle est généralement mieux acceptée par l'organisme et moins toxique que les médicaments Classique.
- La phytothérapie est moins couteuse que la médecine orthodoxe. Elle est adaptée aux pays en développement, car elle peut répondre aux besoins de santé de manière simple et économique. (E , ADJANOHOUM . et al, 2006)

I.3. Usage de la phytothérapie

Bien que la phytothérapie soit considérée comme naturelle, certaines plantes peuvent être à la fois bénéfiques et toxiques. Il n'est pas toujours facile de détecter leur toxicité, surtout que Certains effets secondaires n'apparaissent qu'après une utilisation prolongée et sur un grand nombre de patients. Il donc essentiel de rester prudent et de ne pas croire que tout ce qui est naturel est forcément sans danger. (ZEGGAWGH . et al, 2013)







II. Plantes médicinales

II.1. Définition

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, et au moins certaines d'entre elles ont une valeur médicinale. Leur effet provient de leurs composés (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés existants. Elles sont utilisées en raison de leurs propriétés spéciales qui sont bénéfiques pour la santé humaine. En fait, ils sont utilisés de différentes manières, décoction, infusion et macération. Une ou plusieurs parties d'entre elles, racines, feuilles, fleurs peuvent être utilisées (Dutertre. et al . 2006).

Le tableau 01 montre quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leur propriété

Tableau 01 : Quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leur propriété .Guide ullistré de la flore algérienne (2012).

Plantes médicinales	Photos	Nom Commun	Partie utilisé	Propriétés thérapeutiques
Myrte commun <i>myrtus communis l.</i>		Rihane, Mersen	Les feuilles et les fruits	utilisée comme antiseptique et digestif. Elle est recommandée contre les bronchites, elle désinfecte la gorge infectée. Les fruits, consommés verts ou desséchés, fortifient le cœur.
Chicorée sauvage, Chicorée amère <i>cicHorium intybus l.</i>		Seriss, Tilfaf	Les feuilles (en infusion) et les racines (en décoction)	soulager les problèmes gastriques et stomatiques, ou encore en cas d'anémie et d'insuffisance biliaire.
Carotte sauvage <i>daucus carota l. subsp. maximus (desf.) ball</i>		Sennayria, Asfarnaia	Les feuille et les racines	elle augmente la sécrétion urinaire, est un vermifuge, a des vertus digestives, calme les spasmes de la vessie et les douleurs menstruelles.
Échinops <i>ecHinops spinosissimus turra</i>		Fouga el djemel, Kachir	Le capitule et les feuilles	On lui reconnaît une action réelle sur les fibres musculaires lisses. Elle est aussi conseillée aussi dans le traitement des hémorroïdes
Grand mélinet, Grande cérinthe <i>cerintHe maJor l</i>		Kera en nehal, Fouila	Les fleures et les feuiies	astringentes et rafraîchissantes. Les fleurs et les feuilles étaient utilisées dans le traitement des inflammations et des troubles oculaires
Eupatoire chanvrine, Chanvrine <i>eupatorium cannabinum l..</i>		Tebbaq		reconnait des vertus laxatives. Elle facilite l'évacuation de la bile et soigne les troubles du foie ou des reins

II.2. Métabolites Secondaires

Les plantes médicinales sont reconnues pour leur richesse en composés bioactifs, produits dans le cadre de leur métabolisme. Ces composés sont généralement classés en deux grandes catégories : les métabolites primaires, nécessaires à la survie et à la croissance de la plante (glucides, lipides, protéines ...), et les métabolites secondaires, qui bien qu'ils ne soient pas vitaux pour le métabolisme de base, assurent des fonctions écologiques, de défense et d'adaptation.

Les métabolites secondaires qui sont souvent à l'origine des effets thérapeutiques des plantes médicinales, dépassant actuellement 100.000 substances identifiées, ils appartiennent à trois grandes familles : (Wink . 2010).

- ✓ **Les alcaloïdes** : Ce sont des composés azotés, souvent toxiques, qui ont un rôle de défense contre les prédateurs. Ils sont connus pour leurs effets pharmacologiques puissants chez l'homme. (Dewick, P.M. 2009).
- ✓ **Les terpènes et les stéroïdes** : Dérivés de l'isoprène, les terpènes sont très variés et interviennent dans la résistance aux stress biotiques et abiotiques. (Croteau, R. et *al.* 2000).
- ✓ **Les composés phénoliques**

II.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques font partie d'une large famille de métabolites secondaires présents chez les végétaux. A ce jour, environ 10000 de ces substances ont été identifiées. La majorité de ces composés dérivent des acides aminés aromatiques, principalement la phénylalanine, et dans une moindre mesure la tyrosine. la synthèse de ces acides varie selon les espèces végétales. le terme « composés phénoliques » englobe les mono phénols, diphénols et poly phénols, selon qu'ils possèdent une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques dans leur structure. (Fleuriet A. et *al.* 2005).

II.3.1. Principales classes des composés phénoliques

D'après (Macheix. *et al.* 2005), les composés phénoliques sont regroupés en nombreuses classes qui se différencient par:

- Les voies de la biosynthèse;
- La complexité du squelette de base (de simple C1 à des formes polymérisées)
- Les degrés de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation, de

méthylation...)

- Liaison possible de ses molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines et d'autres métabolites secondaires qui peuvent être des composés phénoliques).

La figure 01 représente les différentes classes des composés phénoliques.

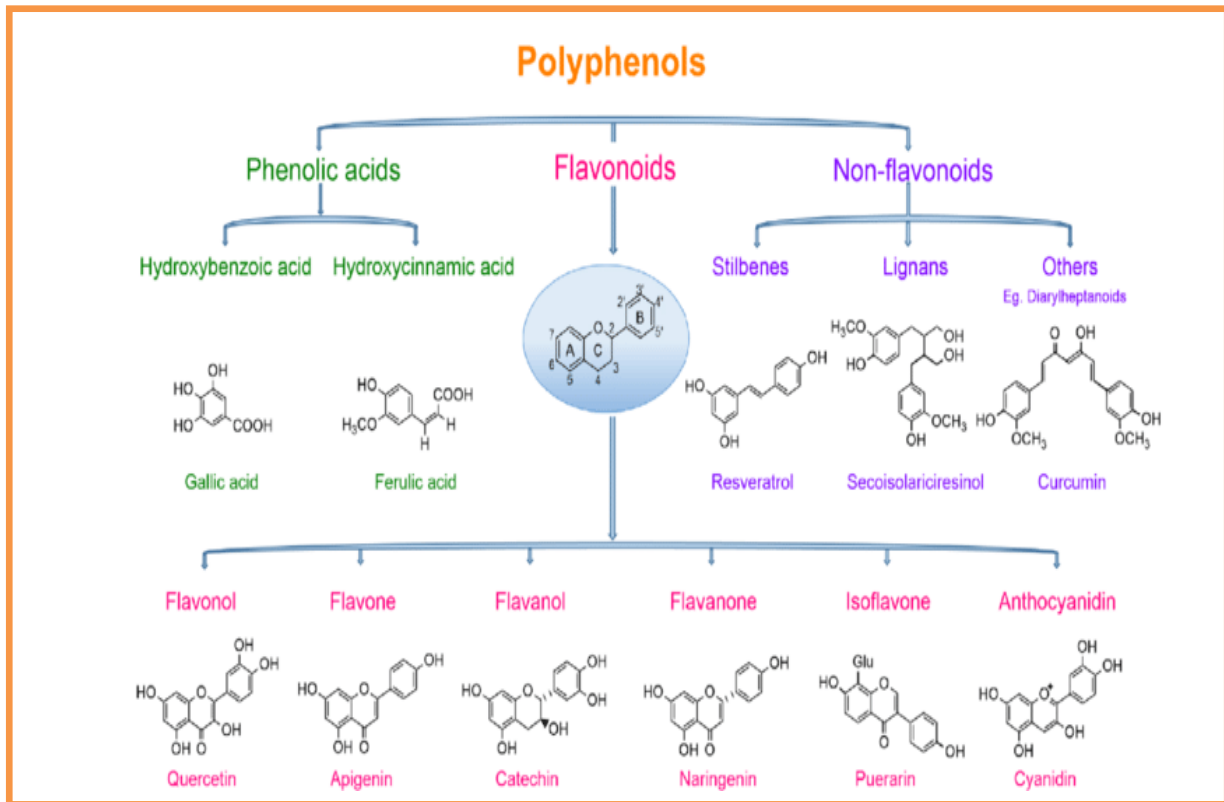


Figure 01 : Classification générale des polyphénols (Gervaise Y.2004).

II.3.2. Activité biologiques des polyphénols

Les rôles biologiques, pharmacologiques et thérapeutiques des certains composés phénoliques sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 02: Activités de certains composés phénoliques (Bahorun T. 1997)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs Diurétiques Antioxydants
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Anti tumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	antioxydants

❖ **Activité Antioxydante**

L'antioxydant est une substance qui ralentit, empêche ou inhibe l'oxydation en neutralisant des radicaux libres qui sont des molécules ou des fragments de molécules qui contiennent un électron non apparié dans leurs orbitales atomiques ou moléculaires ou simplement des espèces d'oxygène réactif, qui contiennent en également d'autres espèces d'oxygène, y compris du peroxyde d'hydrogène qui sont des fragments hautement réactifs et sont générés par les cellules pendant la respiration. Cependant, leur production élevée induit des dommages moléculaires et cellulaires conduisant au développement de divers troubles de la santé humaine. (Lalhminghui, K et *al* .2018).

Les composés phénoliques abondants dans les tissus végétaux, ont la capacité d'agir comme antioxydants naturels. Ils ont une réactivité élevée en tant que donneurs d'e- et sont capables de stabiliser et de délocaliser les e- non appariés (c'est-à-dire leur fonction de rupture de chaîne) et sont capables de chélater les ions de métaux de transition (en mettant fin à la réaction de Fenton). Ils sont également

capables de modifier la cinétique de peroxydation en modifiant l'ordre de remplissage lipidique pour diminuer la fluidité de la membrane. Ces changements pourraient entraver la diffusion des radicaux libres et restreindre la réaction peroxydative .(Yadav , et al .(2016)

❖ **Activité anti-inflammatoire**

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement provoqués par l'agression d'un agent pathogène. Ils bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation, comme les prostaglandines, réduisant ainsi la sensation de douleur ainsi que l'inflammation elle-même .(Orliaguet, G et *al.* 2013)

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* . Ils expriment leur activité anti-inflammatoire en modulant l'expression des gènes pro-inflammatoires tels que COX, LOX, la synthase de l'oxyde nitrique (NO synthase) ainsi que plusieurs cytokines . De plus, les flavonoïdes, un sous-groupe important de polyphénols, peuvent inhiber différentes étapes de la réponse inflammatoire, depuis l'augmentation de la perméabilité vasculaire dans les phases précoces jusqu'à la formation de tissu de granulation. Ils peuvent empêcher la libération des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, les dérivés lysosomales, ainsi que les produits des basophiles, cellules mastocytaires et neutrophiles. Certains flavonoïdes modulent aussi la fonction lymphocytaire, influençant ainsi la réponse immunitaire .(Santangelo *et al.*2007)

Activité anti bactérienne

Un agent antibactérien : est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou tue les bactéries. L'activité antibactérienne s'exerce de 2 manières différentes :

- **Activité létale bactéricide** : qui provoque la mort de la bactérie.
- **Activité inhibitrice ou bactériostatique** : empêche la croissance du micro-organisme. (BELOUD,A .2003).

D'une manière générale, l'action se déroule en trois phases :

- ✓ Attaque de la paroi bactérienne qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- ✓ Acidification de l'intérieur de la cellule, Arrêté la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

- ✓ Destruction de matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. (Burt.2004)

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité . Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des microorganismes .Les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols .(Cowan *et al* .1999).

Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. Ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique . Ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques. (Ulanowska *et al* . 2008)

II.3.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini. (Fleuriet A.*et al* .(2005).

Chapitre II

Plante étudiée : *Matricaria Chamomilla L*

I. Généralité sur la famille des Astéracées

Le mot aster du grec signifie «l'étoile» en référence à la forme des fleurs . La famille des Astéracées ou Composées est la famille la plus large des plantes à fleurs, famille de plantes dicotylédones, elle comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde . Les astéracées sont principalement des plantes herbacées, des arbustes ou des arbres. Elles sont constituées d'oligosaccharides, entre autre l'inuline avec présence générale de poly acétylènes et d'huiles essentielles. Les principes amers, les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, les terpènes.., principaux constituants chimiques des Astéracées expliquent la diversité de leurs activités pharmacologique .(Gaussen et *al* .1982)

II. Description de la plante *Matricaria chamomilla* L.

Matricaria vient de matrix, Femelle, « matrice, la plante facilite et soulage les douleurs des règles: le nom *chamomilla* vient du grec chamaimelon, chamai >>> signifiant à terre », et melon », signifiant pomme» (Pierre et *al* . 2007).

II.1. Botanique

La *Matricaria chamomilla* L. est une plante herbacée annuelle, aromatique . Elle dégage une odeur douce et agréable et à une saveur légèrement amère et herbacée. Elle mesure généralement de 10 à 60 centimètres de hauteur. Ces feuilles, alternés, épaisses, sont très divisés (bi ou tri pennées), en lanières. Ces fleurs sont regroupées en capitules solitaires à l'extrémité des tiges ressemblent à de petites marguerites avec un centre jaune entouré de pétales blancs, dont leurs racines sont fibreuses et peu profonde. (Heywood et *al* . 2007)



Figure 02: Différents parties de *Matricaria Chamomilla* (Hamad , S et *al* . 2016)

II.2. Géographique

Espèce sauvage et cultivée. On la sème au printemps ou à l'automne et on récolte les capitules floraux en été, en pleine floraison. 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. 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. (Andrew, ch .2001).

III. Position systématique de la plante

Matricaria Chamomilla L., également connue sous le nom de camomille allemande ou camomille vraie, Elle appartient à la famille des Astéracées (Asteraceae), qui regroupe de nombreuses plantes médicinales et ornementales. Sa classification botanique est la suivante :

Règne : Plantae (Plantes)

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae (Astéracées)

Genre : *Matricaria*

Espèce : *Matricaria Chamomilla L.* (Benedi. et al .2019)

Cette classification est reconnue par les principales bases de données botaniques mondiales, telles que **Plants of the World Online (POWO)**, hébergée par le Royal Botanic Gardens, Kew. Elle repose sur des critères morphologiques, anatomiques, et phylogénétiques rigoureux, validés par des experts en taxonomie végétale'

Nom arabe : نوار الربيع , بابونج .(Dr, Ahmed Issa, dictionnaire)

Synonymes de la plante : *Chamomilla chamomilla L*, *Chamomilla recutita L.*; *Matricaria chamomilla L.* (Goetz et al .2012).

IV. Composition chimique de *Matricaria Chamomilla L*

L'une des espèces végétales qui se caractérise par une large variété de composition chimique. Le tableau ci-dessous résume quelques constituants chimiques de la plante.

Tableau 03: Quelques constituants chimique de la camomille (John, Wiley. 2008) .

Compositions	Exemples	Partie
Huiles essentielles	Esters, angélate d'isobutyle, angélate de 2-méthylbutyle.	Les fleurs
Flavonoïde	Apigétrine, apiine, apigénine, apigénine-7-O-glucoside, lutéoline, lutéoline-7-O-glucoside, matricine, quercétine, rutine.	Fleurons blanc, Jaunes
Huiles volatiles	α -bisadole, azulène, chamazulène.	Les glandes à huile des fleurs
Hydrocarbures tri terpéniques	α -pinène, camphène, myrcène.	Les fleurs
Autres composés	Acides aminés, polysaccharides de choline, acides végétaux et gras, tanin.	Les fleurs
Coumarine		Les fleurs

V. Activités biologiques

Matricaria Chamomilla L, est une plante herbacée annuelle largement utilisée en phytothérapie pour ses propriétés anti-inflammatoires qui sont bien documentée dans la littérature scientifique.. Les flavonoïdes (apigénine, lutéoline, quercétine) présents dans les fleurs de camomille confèrent à la plante un fort potentiel antioxydant . Les extraits de *Matricaria Chamomilla* exercent une action antimicrobienne notable contre plusieurs souches bactériennes et fongiques. L'apigénine, un flavonoïde majeur de la camomille, se fixe sur les récepteurs GABA-A dans le cerveau, exerçant un effet sédatif et anxiolytique sans induire de dépendance . Traditionnellement utilisée pour soulager les troubles digestifs, la camomille exerce un effet relaxant sur les muscles lisses intestinaux. L' α -bisabolol et la spiroéther sont responsables de cette action antispasmodique, en réduisant l'excitabilité des fibres musculaires. Elle est notamment efficace contre les coliques, ballonnements, et dyspepsies. (Srivastava et al. 2010)

Le tableau 04 résume certaines activités biologiques de la plante *Matricaria Chamomilla L*.

Tableau 04 : Certaines activités biologiques de *Matricaria chamomilla L*. (Ghedira et al, 2009)

Activités	Mode d'activité
Anti-inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Effet sur l'œdème induit par l'huile de croton. ❖ Inflammations rhinopharyngées, bronchiques et stomatologiques. ❖ Inhibition des prostaglandines, leucotriènes, bradykinine, histamine, sérotonine. ❖ Inhibition des superoxydes, fixateur des radicaux libres.
Anti-oxydant	<ul style="list-style-type: none"> ❖ . Piégeage des radicaux libres: Les extraits de camomille neutralisent les radicaux libres comme le DPPH et le superoxyde, réduisant ainsi le stress oxydatif. ❖ Protection cellulaire: Elle protège les cellules contre les dommages oxydatifs, notamment ceux causés à l'ADN, aux lipides et aux protéines. ❖ Activité enzymatique: La camomille stimule l'activité d'enzymes antioxydants endogènes comme la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase.
Antibactérienne	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bactériostatique: en empêchant la multiplication des bactéries par altération de leur Métabolisme ou inhibition enzymatique. ❖ Bactéricide : lorsqu'elle provoque la lyse cellulaire ou la désintégration de la membrane bactérienne.

Partie pratique

Matériel et Méthodes

Ce modeste travail consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante ainsi que antibactérienne des polyphénols extraits des fleurs de la plante médicinale *Matricaria chamomil*.

En effet, notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de hall de technologie, Faculté des sciences, université 20 aout 1955 Skikda ; il a été partagé entre deux laboratoires :

- Laboratoire de biochimie où on a fait l'extraction des polyphénols à partir des fleurs sèches de la camomille et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux ainsi que l'évaluation de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire.
- Laboratoire de Microbiologie au niveau du quels une évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait polyphénolique a été effectuée.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Notre travail a porté sur les fleurs sèches de la plante médicinale *Matricaria chamomilla* qui a été récoltée d'une région préservée de la pollution, située à proximité du lac de Fetzara, dans la commune de Berrahal (wilaya d'Annaba). Immédiatement après la récolte, uniquement les fleurs saines sont soigneusement rincées à l'eau, puis soumises à un processus de dessiccation dans un environnement protégé de toute exposition lumineuse. Afin de préserver l'intégrité optimale des molécules, la plante est ensuite broyée de manière rudimentaire à l'aide d'un moulin électrique.



Plante fraîche



fleurs sèches



poudre

Figure 03: préparation du matériel végétal (Original)



Figure 04: Carte géographique montre la région de récolte (Google Map)

I .2. Souches bactériennes à tester

L'activité antibactérienne de nos échantillons a été testée sur cinq souches bactériennes : quatre à Gram négatif à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC 25922 , *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883 et *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et une souche à Gram positif ; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie faculté des sciences université Badji Mokhtar Annaba où elles ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10ml de gélose nutritive incliné.

1.3. Matériel du laboratoire

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

II. Méthodes

II.1. Extraction des composés phénoliques à partir de la plante

L'extraction des polyphénols totaux a été effectuée par macération de la matière végétale (50g) dans le méthanol pendant 72h sous agitation permanente, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les trois filtrats sont regroupés ensuite et soumis à l'évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits secs des rhizomes de *Matricaria Chamomilla* obtenus sont récupérés dans des boîtes de pétri jusqu'à leur utilisation.

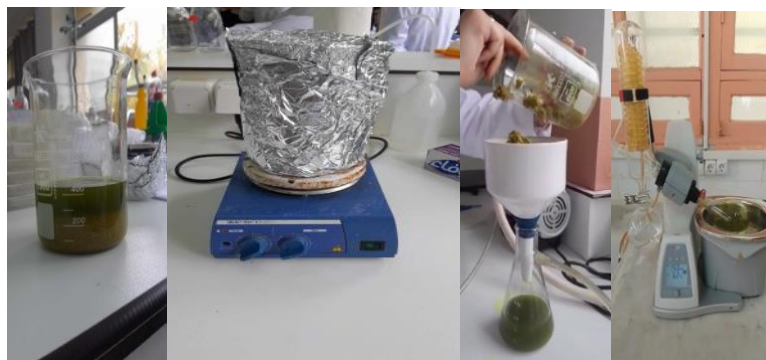


Figure 05: Etapes d'extraction des composés phénoliques (Original)

II.2. Calcul du rendement en extrait sec

Pour déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

- $Rdt (\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100$
- P1 : poids du ballon après évaporation.
- P2 : poids du ballon vide avant évaporation.
- P3 : poids de la matière végétale de départ en poudre (50 g).

II.3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Wong et al. (2006).

➤ Principe de la réaction

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide Phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu

basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Robbins.2003). La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ **Mode opératoire**

Il consiste à mélanger 200 µl de l'échantillon (0.5 mg dilué dans 1ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé). Les solutions ont été mélangées et Incubées pendant 4minutes. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Après incubation, l'absorbance est mesuré par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de l'échantillon est réalisé comme le point 0 en µg/ml. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique et est exprimée en microgramme (µg) équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg d'EAG/mg d'extrait)

II.4. Dosage des Flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par (Djeridane et al., 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ **Principe de la réaction**

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

➤ **Mode opératoire**

Brièvement, 1 ml de chaque échantillon (0.5 mg dissous dans 1ml de Méthanol) a été ajouté a 1ml de solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation. Le control négatif contient tout le mélange réactionnel sauf échantillon.

Les résultats sont calculés à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine et exprimés en (µg) équivalent de la quercétine par mg d'extrait.

II.4. Evaluation des activités biologiques

III.4.1. Test de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des polyphénols de la plante médicinale *Matricaria Chamomilla In Vitro* a été testée par deux méthodes :

- ❖ La méthode de diffusion en puits.
- ❖ La méthode de micro dilution en milieu liquide (microplaque).

a. Méthode de diffusion en puits

Il consiste à réaliser des puits dans la gélose, qui sont par la suite remplis d'extrait à tester. Un gradient de concentration de l'extrait se forme par diffusion à partir du puit. La croissance de l'organisme d'essai est inhibée à une distance du puit qui est liée à sa sensibilité.

- **Préparation de l'inoculum**

- ✓ **Préparation de pré culture**

Les souches bactériennes à tester sont cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) et incubées pendant 18h à 24h à une température de 37°C, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées.

- ✓ **Préparation de la suspension bactérienne**

À partir d'une culture jeune, prélever à l'aide d'un écouvillon 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'écouvillon dans 5 ml d'eau physiologique stérile, agiter manuellement pour bien homogénéiser la suspension bactérienne. La standardisation de la suspension est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625nm. La densité optique (DO), comprise entre 0.08 et 0.1 (CA-SFM.2013).

- **Ensemencement**

- ✓ La gélose Mueller Hinton (MH) est coulée dans des boîtes de pétri. Après refroidissement et solidification de la gélose, la suspension bactérienne à tester est étalée à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un écouvillon.

- ✓ Un puits de 8mm de diamètre a été creusé dans la gélose MH puis rempli par l'extrait (1mg d'extrait dissous dans 1ml de DMSO)
- ✓ Un autre puits témoin dans la même boîte est rempli par le DMSO.
- ✓ Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et laissées que l'extrait diffusé à T° ambiante pendant 15min, puis incubées à 37°C pendant 24h (Ngameni et al. 2009).

• Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle.

N.B : On a opté pour le DMSO pour son innocuité vis-à-vis de microorganisme, et pour l'absence d'interférence avec l'extrait.

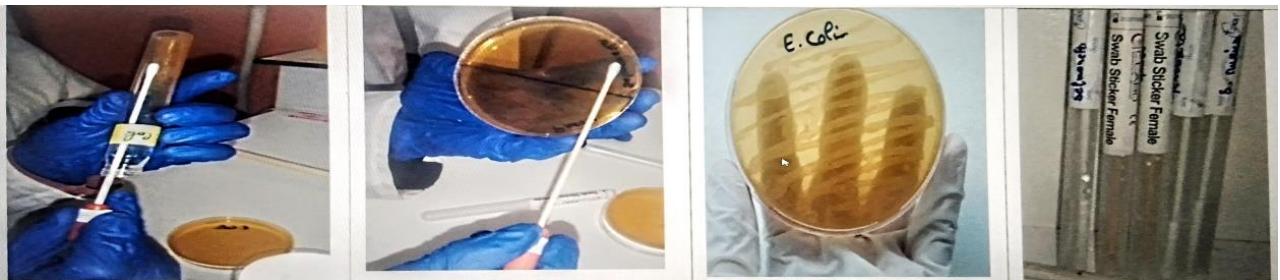


Figure06 : Préparation de l'inoculum d'*Escherichia coli*



Figure07: Application des puits sur géloseensemencée par la souches *E.coli*

b. Méthode de micro-dilution en milieu liquide

La détermination de la plus petite concentration inhibitrice de la croissance bactérienne (CMI) est réalisée par la technique de micro dilution en milieu liquide, à l'aide d'une microplaque stérile de 96 puits (8×12 puits) et une gamme de concentration d'extrait allant de 1 mg/ml à 10^{-10} mg/ml.

- ✓ Déposer 5 μ l de l'extrait et 95 μ l du Bouillon Mueller Hinton (BMH) stérile dans le puits 1, ensuite déposer 50 μ l de BMH stérile dans les puits 2 à 10.
- ✓ Une série de dilution au facteur $\frac{1}{2}$ a été réalisée dans le BMH à partir de la solution mère du puits 1, par le transfert de 50 μ l de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 50 μ l du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu des puits.
- ✓ Enfin, déposer 50 μ l de l'inoculum préalablement préparé dans chaque puits.
- ✓ La 11ème colonne qui contient 92 μ l de l'inoculum et 8 μ l DMSO sert de témoin positif. La 12ème colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu BMH (100 μ l) sert de témoin négatif.
- ✓ La micro plaque est incubée à 37 °C pendant 24h.
- ✓ La lecture est effectuée à l'œil nu et la dont la CMI est la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune trouble n'est observé. (Eloff. 1998).

Chaque deux différent échantillon de bactéries ont été espacés par deux lignes de puits vides.



Figure08 : Méthode de micro dilution en milieu liquide (Original)

III.3.2. Test de l'activité anti-oxydante

➤ Principe

La mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait polyphénolique de la plante médicinale *Matricaria Chamomilla* a été réalisée par une technique chimique en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH•(2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) (Zeghad, 2009). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine en acceptant un atome avec une transformation de sa couleur violette foncée en jaune lors de sa réduction, la décoloration sera proportionnelle au nombre de protons captés peut être suivie par une lecture d'absorbance à 517nm, elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH, et fournit un moyen pour mesurer antioxydant de l'extrait étudié. (Gulçin et al. 2010)

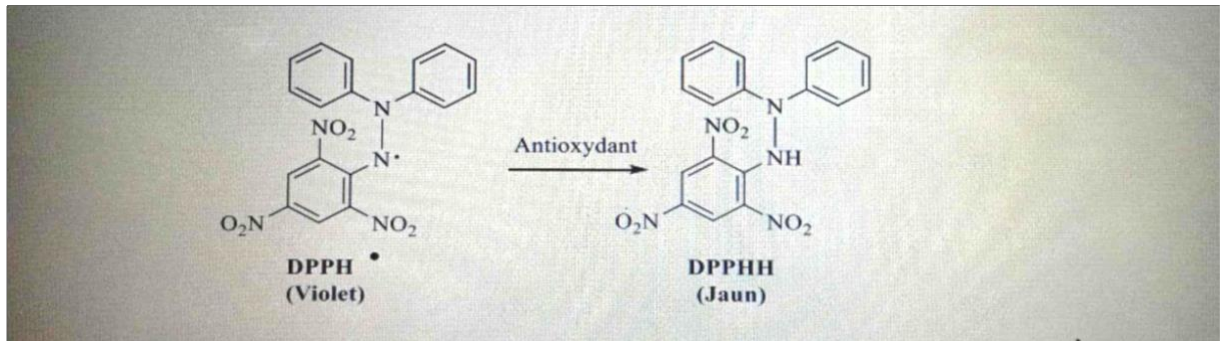


Figure 09: mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) (Michel. 2011)

➤ Mise en œuvre pratique

- La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 10 mg de DPPH dans 250 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5C° et à l'obscurité).
- Un volume de 400µl de l'échantillon (à différentes concentrations) a été ajouté à 1600 ul de la solution de DPPH.
- Le mélange réactionnel a été agité et incubé 30 min à l'obscurité.
- Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le blanc (solution DPPH/méthanol).

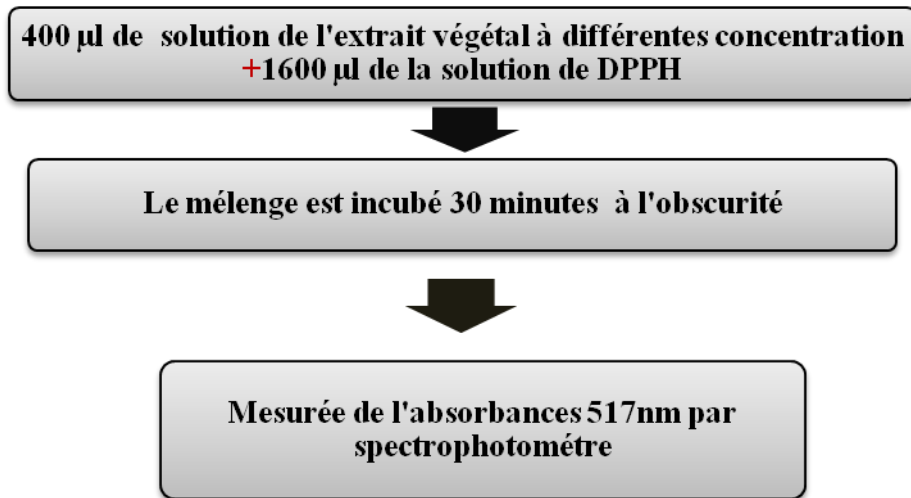


Figure 10: Teste de piégeage du radical libre DPPH.

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence. La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Le pourcentage d'activité antioxydante a été déterminé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ Activité antioxydant} = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \right] * 100$$

Abs: Absorbance à la longueur d'onde de 517nm.

Le paramètre EC50 (concentration équivalente à 50% DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur).

III.3.3. Test de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait végétal a été réalisée *in vitro* en utilisant deux méthodes :

- Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).
- Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.

a. Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)**➤ Principe**

Cette méthode repose sur l'inhibition de la dénaturation des protéines, processus souvent associé à l'inflammation aiguë. Elle est largement utilisée comme modèle de criblage pour tester le potentiel anti-inflammatoire de substances naturelles. (Mizushima et Kobayashi, 1968)

➤ Protocol

- ✓ Une gamme de concentration de nos échantillons ainsi que du contrôle positif (diclofénac 100mg) a été préparé à partir d'une solution mère de 1mg/ml dans le DMSO suite à des dilutions successives à raison de ½.
- ✓ 1ml de chaque dilution correspondante est ajouté à 1ml d'une solution aqueuse à 1% de BSA.
- ✓ Le mélange a été incubé pendant 15 minutes à une température ambiante à l'obscurité.
- ✓ Le mélange a été chauffé pendant 10 minutes à une température de 70°C.
- ✓ Laisser refroidir à l'air libre.
- ✓ L'absorbance a été mesurée à 660 nm.
- ✓ Un blanc (DMSO + eau distillée) et un contrôle négatif (BSA + eau distillée) ont été préparés.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine BSA a été déterminé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ d'activité anti inflammatoire} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} * 100$$

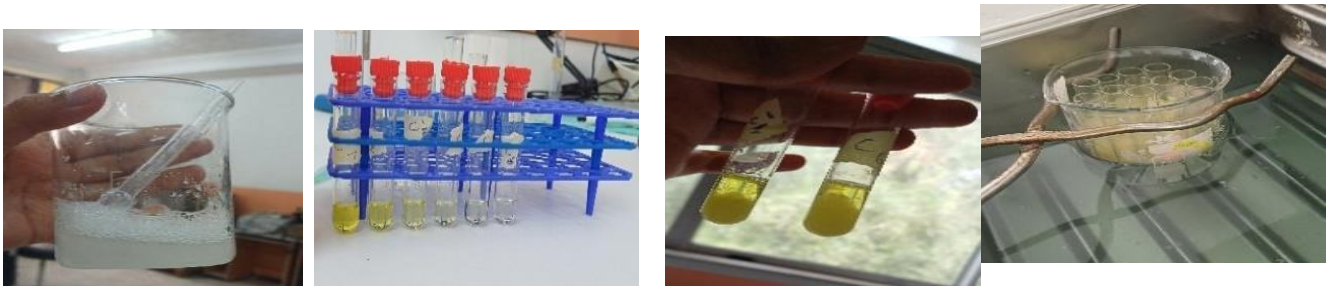


Figure 11: Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

b. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges**➤ Principe**

Cette méthode repose sur le principe selon lequel l'inflammation est associée à la lyse des membranes cellulaires, et qu'un agent anti-inflammatoire efficace peut inhiber cette lyse, en particulier celle des érythrocytes exposés à des conditions stressantes (chaleur, hypotonicité).

➤ **Protocole**

- ✓ Du sang humain a été prélevé sur un tube hépariné pour éviter la coagulation, puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes pour séparer le plasma. (Shinde et al. 1999.)
- ✓ Les globules rouges ont été lavés trois fois (2500 tr pendant 3 min) à l'aide d'une solution saline isotonique (NaCl 0,9 %) afin d'éliminer les résidus plasmatiques. (Oyedapo et al. 1995)
- ✓ Une solution de 10 % d'hématies dans NaCl(0,9 %) a été préparée et utilisée comme suspension de base.
- ✓ Préparation du mélange réactionnel qui contient :
 - 0,5 ml de la suspension de globule rouge (10%),
 - 0,5 ml de chaque dilution de l'échantillon (extrait et diclofénac) dont la gamme de concentration a été préparée de la même manière que la méthode précédente)
 - 0,5 ml d'eau distillée
- ✓ Ce mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 minutes, puis centrifugé 5 min à 2500 tours.
- ✓ L'absorbance de surnageant a été mesurée à 560 nm
- ✓ Un blanc (DMSO + eau distillée) et un contrôle négatif (solution saline de globule rouge à 10% + eau distillée) ont été préparés.

Le pourcentage d'inhibition de la lyse de la membrane des globules rouges a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti inflammatoire} = \frac{[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}]}{\text{Abs contrôle}} * 100$$



Figure 12: Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.

III.4. Etude statistique


Les résultats des tests effectués sont exprimés en Moyenne \pm SEM par un logiciel (Graph Pad. Prism. V 7.03). Les comparaisons multiples et le taux de signification est déterminée par le test one way ANOVA. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).

Résultats et discussion

I. Rendement en extrait sec

Le rendement de l'extrait polyphénolique brut obtenu par macération des fleurs de la plante médicinale *Matricaria Chamomilla* est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Caractéristiques de l'extrait polyphénolique

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement (%)
	Jaune foncé	Gel visqueux	19.37 %

Après l'extraction par macération l'extrait méthanolique obtenu à partir des fleurs de *Matricaria chamomilla* est un gel visqueux jaune foncé, avec un rendement important de 19,37 %. Ce rendement indique une richesse en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes.

Ce résultat est supérieur à d'autres études utilisant des méthodes similaires, comme celle de Al-Dabbas (2012) qui a obtenu un rendement de 15 %, ce qui peut être attribué à l'optimisation des paramètres d'extraction (type de solvant, température, durée). Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de l'espèce végétale étudiée, la partie utilisée dans l'extraction, les conditions de séchage et d'entreposage, le contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement, sa polarité ainsi que la méthode d'extraction elle-même ((McKay . et al . 2006).

II. Teneurs en composés phénoliques

L'étude quantitative de l'extrait brut méthanolique de la plante *Matricaria cammomilla* au moyen des dosages spectrophotométriques permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

- Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de notre échantillon a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le taux total des polyphénols a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (figure ,,,,) et exprimé en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg GAE/mg). Le résultat obtenu est mentionné dans la figure 16

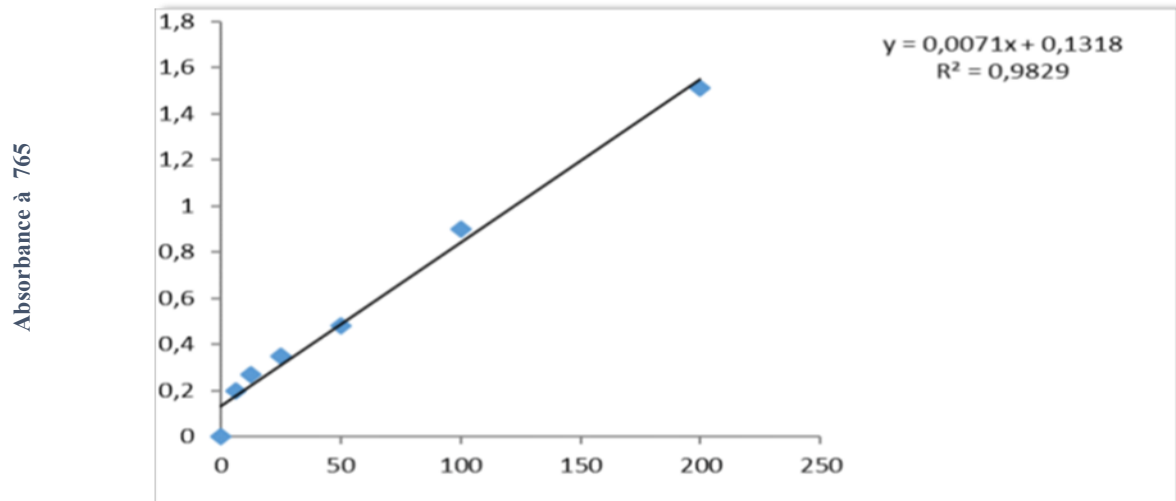


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

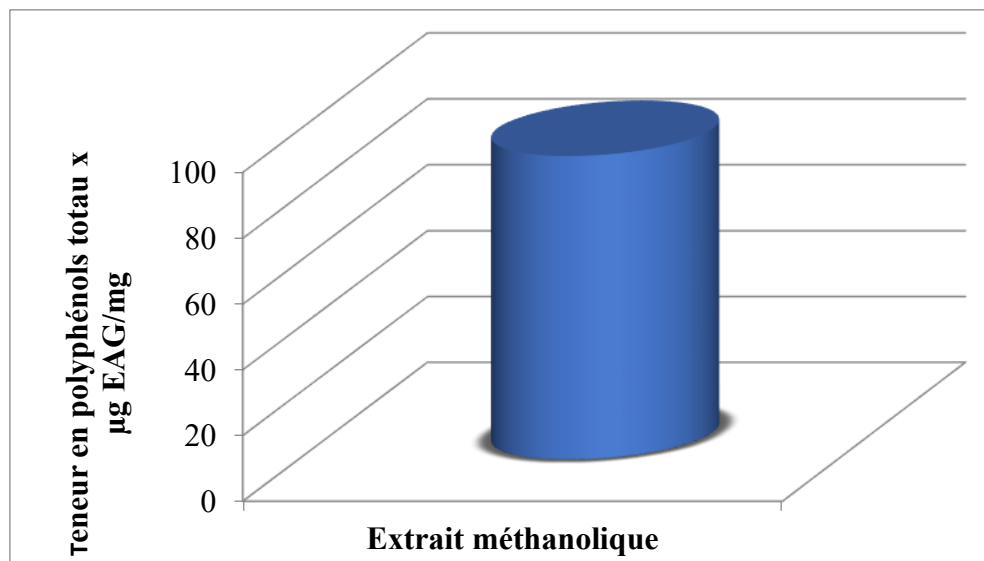


Figure 14: Teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de *Matricaria camomilla*.

D'après les résultats obtenus, les constituants phénoliques totaux de l'extrait ont été trouvés avec une valeur moyenne de l'ordre de $92,26 \pm 0,06$ μg EAG/mg d'extrait. La teneur phénolique

d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, les conditions de stockage, le solvant d'extraction qui emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique . (Djeridane *et al.* 2006)

- **Flavonoïdes totaux**

La quantité des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de Quercétine (figure ;;;;) et exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg QE/mg). Le résultat obtenu est représenté dans la figure15

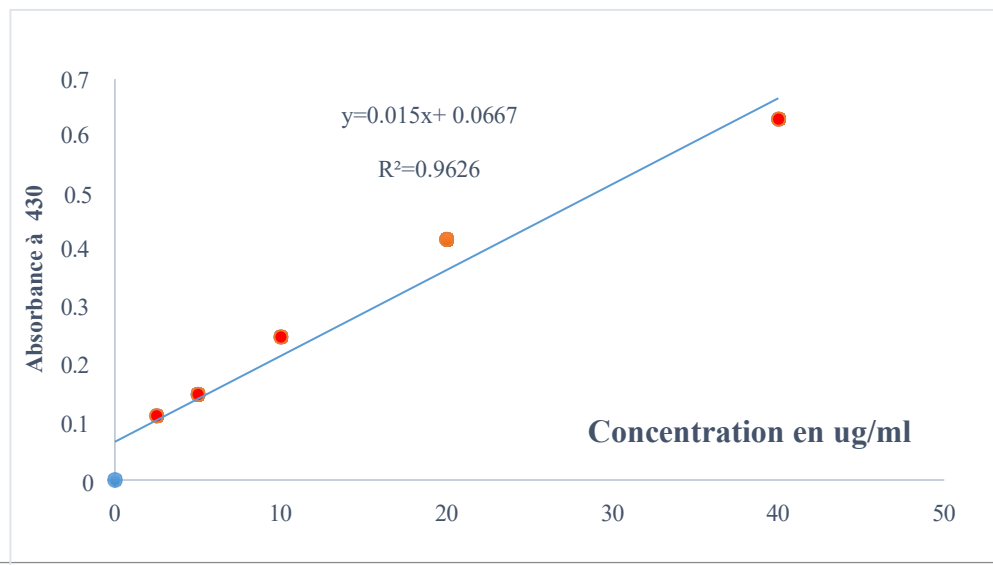


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine

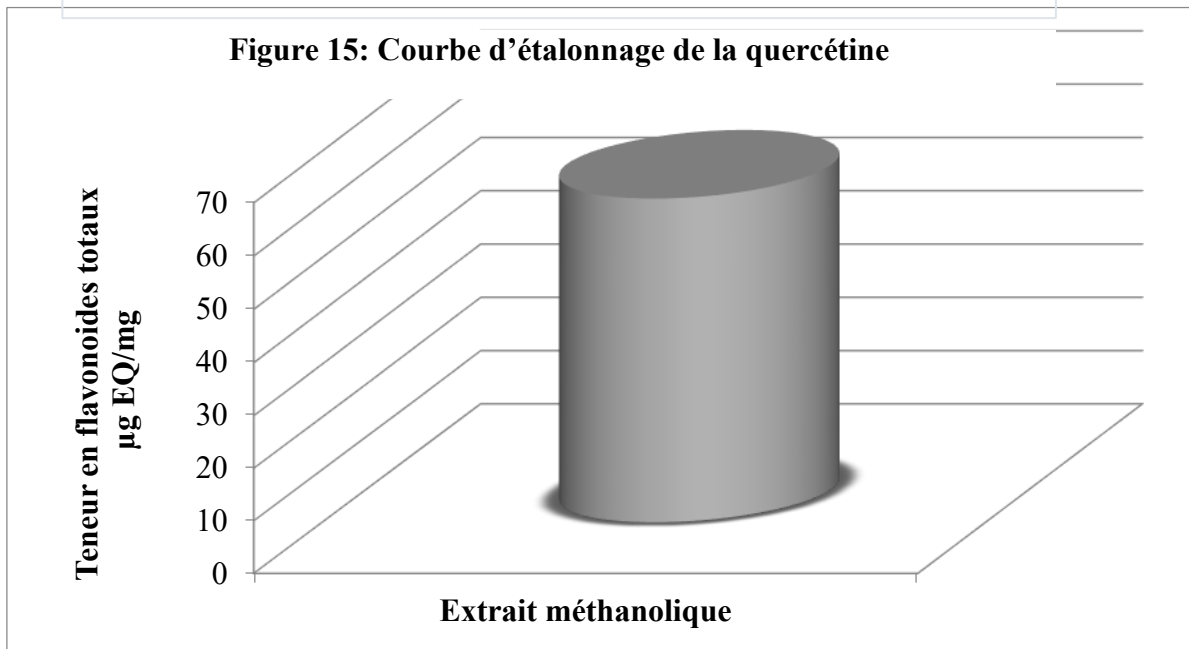


Figure16: Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique de *Matricaria cammomilla* .

La teneur en flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl₃), elle a été estimée à 61,11±0,5 µg EQ/mg. Une comparaison stricte de nos résultats avec ceux de la bibliographie ne peut-être représentative car plusieurs facteurs peuvent influencer la répartition qualitative et quantitative des flavonoïdes (Saidi, 2019).

III. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique

L'activité antibactérienne des polyphénols extraits de la plante médicinale *Matricaria camomilla L*, a été évalué sur cinq souches bactériennes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* , *Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae*, *Staphylococcies aureus* par deux méthode : la méthode de diffusion en puits et celle de micro dilution en milieu liquide (microplaque).

- **Méthode de diffusion en puits**

La sensibilité des souches bactérienne testées par cette méthode se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits. Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait polyphénolique brut de *Matricaria Chamomilla L*.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
	Extrait	DMSO
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	26±0.98	–
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC14023)	19±0.53	–
<i>Escherchia coli</i> (ATCC25922)	24±0.08	–

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC13883)	14±0.04	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	24±0.85	-

- : Absence d'inhibition.

D'après les valeurs enregistrés, l'extrait a montré une activité inhibitrice contre toutes les souches bactériennes testées à l'exception de *Klebsiella pneumoniae* qui s'est montrée résistante. Les trois espèces bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont montrées une meilleure sensibilité avec les plus larges zones d'inhibitions pour l'extrait polyphénolique, en effet, l'espèce bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont montré une zone d'inhibition de 24mm de diamètre, cependant, l'extrait a présenté une meilleure activité inhibitrice de croissance vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*, avec une zone de 26mm de diamètre.

Le DMSO n'a, cependant, produit aucun effet vis-à-vis de toutes les souches testées.

• **Détermination de CMI par micro dilution en milieu liquide**

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée également par la technique de micro dilution en milieu liquide sur microplaque stérile (96 puits). Après incubation des microplaques 24 heures, on observe un aspect clair dans certains puits, qui indiquant l'absence d'une croissance bactérienne, Soit un dépôt qui indique la présence d'une croissance bactérienne. Le tableau ci-dessous représente l'ensemble des concentrations minimales inhibitrices obtenues.

Tableau 07 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique de *Matricaria Chamomilla L.*

Souche bactérienne \ Puits	Puits											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 T+	12 T-
<i>E, Coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>P, Aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

<i>S, Aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>S, Typhimurium</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>K, Pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

○ CMI + : Présente de dépôt - : Absence de dépôt

T+ : Témoin positive T- : Témoin négative

Les souches *E, Coli*, *S, Aureusa* et *P, Aeruginosa* présentent la plus grande sensibilité, avec une CMI observée dès le puits 5 pour l'extrait suivi de *S, Typhimurium* avec une CMI détectée au puits 3, traduisant ainsi une forte efficacité antibactérienne. Alors que *K, Pneumoniae* s'est montré résistante à toutes les concentrations de l'extrait.

Les résultats obtenus confirment une fois de plus l'efficacité des extraits des plantes médicinales et leur pouvoir antibactérien notamment les extraits du genre *Matricaria* et viennent appuyer les résultats publiés par Mekhloufi (2013), Cependant, la variabilité des résultats de l'activité biologique des extraits végétaux peut dépendre du contenu en polyphénols, Rhayour (2002) a montré que les extraits bruts ou leurs composés majoritaires phénoliques seuls ou associés avec les antibiotiques attaquent directement la bactérie en se fixant sur son enveloppe cellulaire, entraînant un déséquilibre de la perméabilité membranaire et un blocage de la phosphorylation oxydative qui représente la source de la vie respiratoire. De plus, Les mécanismes d'action des composés naturels sont expliqués de différente manière selon les auteurs. (Selon BelRhliid et al. 2016), l'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactives. Les composés les moins polaires comme les flavonoïdes n'ayant pas de groupement OH sur leur cycle B sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant le groupement hydroxyle. Au contraire, Mori et al. (1987) ont suggéré que les flavonoïdes trihydroxylés 3',4',5' sur le cycle B et substitués 3-OH sont nécessaires pour l'activité antimicrobienne.

IV. Activité anti oxydante

L'efficacité de l'extrait méthanolique des fleurs de notre plante *matricaria camomilla* et de l'acide ascorbique à piéger le radical DPPH•, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de chaque échantillon, est illustrée dans la figure 17

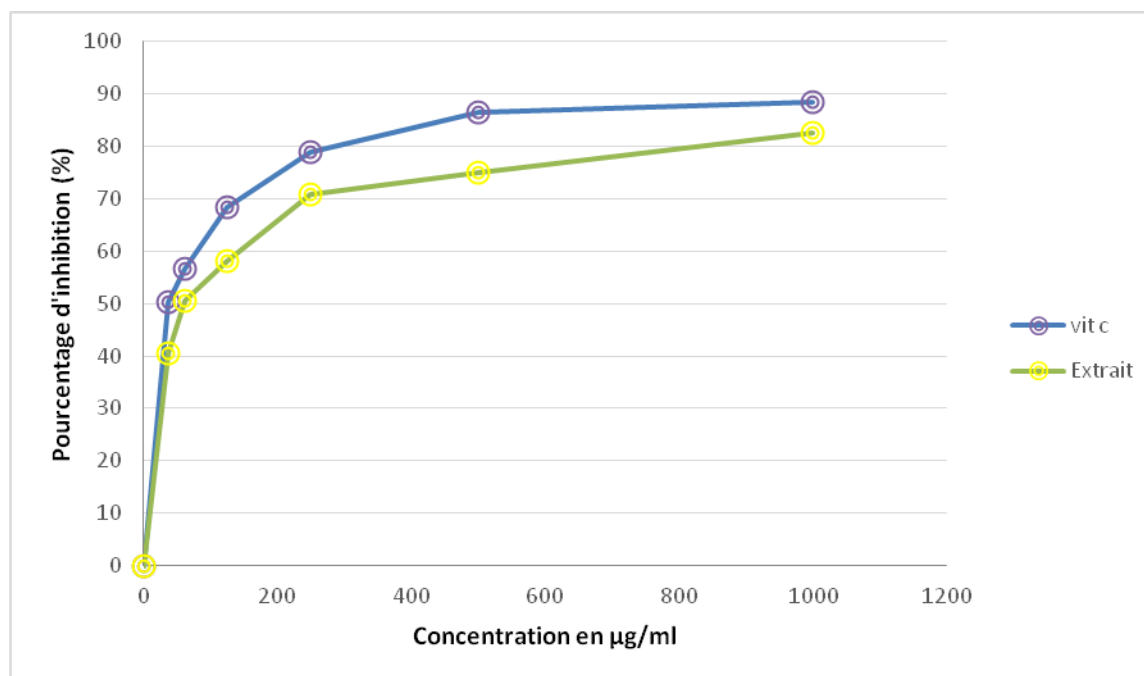


Figure 17 : Activité anti radicalaire du l'extrait de la plante *Matricaria Chamomilla* et l'antioxydant standard l'acide ascorbique.

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti radicalaire révèlent que 'l'activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH• de notre échantillon et aussi du standard , augmente progressivement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement presque totale du DPPH présent dans le milieu, en effet, l'acide ascorbique testé présente un pouvoir anti radicalaire meilleur que l'extrait avec un effet maximal de 88,45% envers le radical DPPH•à une concentration de 1000 µg/ml, alors que l'extrait présente un effet maximal de 82,67 % à la même concentration.

Un autre paramètre est introduit pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire ; la concentration effective à 50% (EC50 aussi appelée IC50) qui a été déterminée pour l'échantillon et le standard, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH•.

Tableau 08: Valeurs des IC50 de l'extraits de la plante *Matricaria Chamomilla L.* ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

Antioxydant	Valeur d'IC50 (µg/ml)
-------------	-----------------------

Extrait	62±1,02
Acide ascorbique	37±0,23

La valeur d'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante et le taux d'inhibition (I%) d'un composé. En effet, plus elle est faible, plus l'activité anti radicalaire d'un composé est appréciable. L'extrait polyphénolique et l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence ont montré une activité anti radicalaire très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par leur faible valeur d'IC50, cependant, l'acide ascorbique montre un pouvoir anti radicalaire significativement le plus élevé avec la plus basse IC50 obtenue expérimentalement qui est de 37±0,23 µg/ml par rapport à celle d'extrait qui est de l'ordre et 62±1.02 µg/ml.

Il est possible que l'activité antioxydante puisse être attribuée aux composés phénoliques présents dans *Matricaria camomilla*. Les chercheurs ont évalué la capacité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* et ont finalement conclu que ce sont les polyphénols qui étaient responsables de leurs propriétés antioxydantes. Les résultats de l'étude de Rached et al. (2010) ont montré que l'extrait méthanolique des *Matricaria Chamomilla L.* possède une forte activité antioxydante (9,14 ± 0,72 µg/ml) comparée au BHA utilisé comme contrôle positif (4,15 ± 0.25 µg/ml). En effet, Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose ou les maladies inflammatoires (Benammar *et al.*, 2010)

V. Activité anti inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait polyphénolique brut de la plante *Matricaria camomilla* a été évaluée par deux approches expérimentales complémentaires : la stabilisation de la membrane des globules rouges et l'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).

- **Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges**

L'effet protecteur de l'extrait poly phénolique étudié contre l'hémolyse des GR est illustré dans la figure ci-dessous :

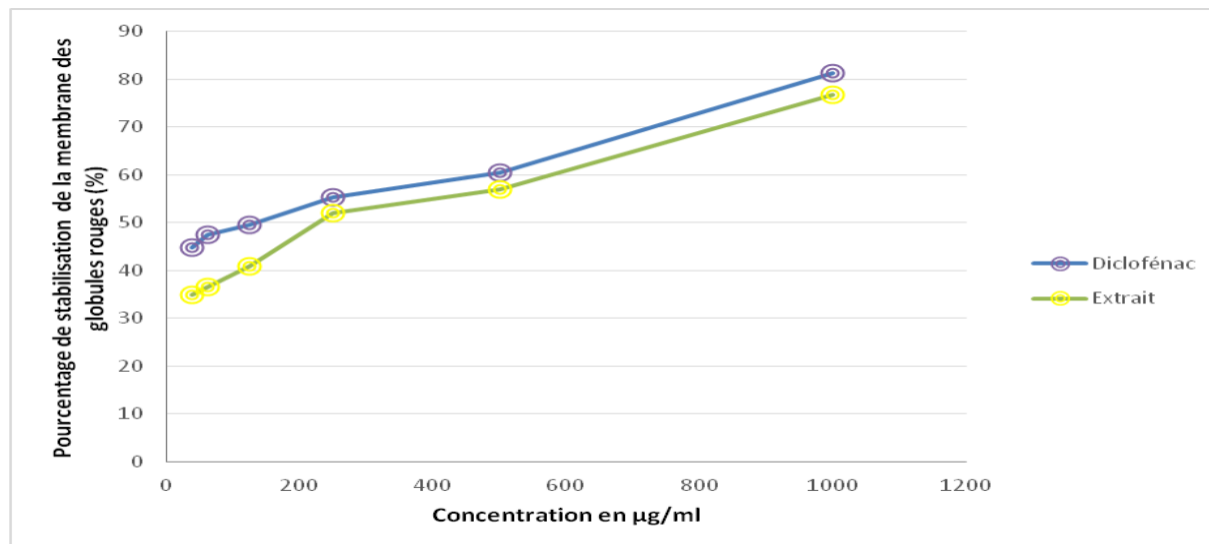


Figure 18 : pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges par

L'extrait poly phénolique brut de la plante *Matricaria camomilla L* et Diclofénac.

On observe une augmentation progressive du pourcentage de stabilisation de la membrane en fonction de la concentration de l'extrait polyphénolique brut de la plante *Matricaria camomilla*, cela traduit un effet dose-dépendant.

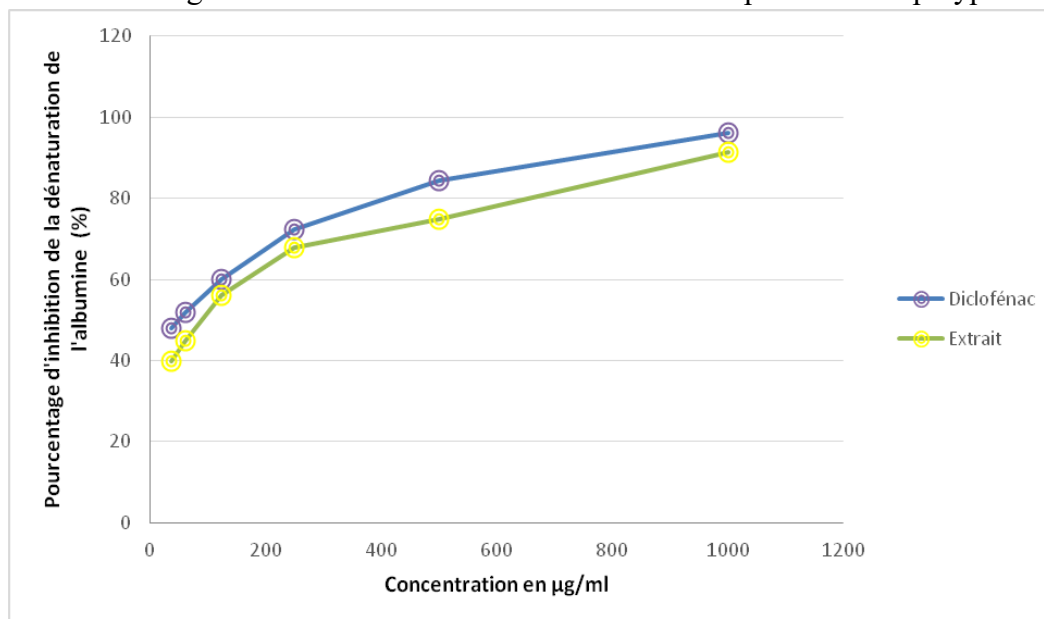
Les résultats que nous avons enregistrés montrent que le Diclofénac possède un effet anti-hémolytique élevé (stabilisation de la membrane des globules rouges), et aussi que l'extrait poly phénolique brut de la plante *Matricaria camomilla L* exerce un effet anti-inflammatoire comparable et significative (Atteint 76,76% à la concentration 1000 ug/ml) à celui de la molécule de référence (81,22% Atteint 79% à la concentration 1000 ug/ml) ce qui rend possible son utilisation comme un traitement alternatif dans les cas de l'inflammation. La proximité des courbes suggère une efficacité anti inflammatoire importante de l'extrait méthanolique qui pourrait s'expliquer par sa richesse en composés phénoliques et notamment en flavonoïdes.

(Hossain . et al . 2014)

- **Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)**

Les résultats de l'effet protecteur de l'extrait poly phénolique brut de la plante *Matricaria camomilla L* et diclofénac contre la dénaturation protéique sont représentés dans la figure suivante :

Figure 19: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA par L'extrait polyphénolique brut de



la plante *Matricaria Chamomilla L* et Diclofénac.

L'extrait polyphénolique brut de la plante *Matricaria Chamomilla L*. démontre une activité inhibitrice croissante avec l'augmentation des concentrations. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine atteint des niveaux significatifs à partir de 400 µg/ml Comparativement au diclofénac, bien que l'activité anti-dénaturante maximale de l'extrait soit importante (91,4% à la concentration 1000µg/ml), mais toujours le pourcentage d'inhibition maximum de la dénaturation du BSA pour l'extrait était significativement inférieur à celui du diclofénac (atteint 96,3 % à même).

Les deux méthodes expérimentales prouvent la relation entre l'augmentation de la concentration de l'extrait et l'intensification de son effet protecteur anti-inflammatoire Cette relation dose-dépendante constitue une preuve expérimentale solide et cohérente de l'efficacité potentielle de l'extrait. Bien que son activité demeure légèrement inférieure à celle du diclofénac, médicament de référence.

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent toujours une source fiable des molécules bioactives, Ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Cette Efficacité est due à des métabolites secondaires ou à ses principes actifs comme : les composés Phénoliques et les flavonoïdes. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de Composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles on attribue des capacités anti-oxydantes Et anti-inflammatoires. Antibactérienne.

Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, d'un extrait obtenu par macération dans le méthanol des fleurs sèches de la plante *Matricaria chamomilla*.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes par des méthodes spectrophotométriques révèlent que l'extrait de l'espèce étudiée est très riche en composés phénoliques.

L'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* a montré une forte activité antibactérienne, en particulier contre *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, avec des CMI faibles indiquant une bonne efficacité. En revanche, *K. pneumoniae* a résisté à toutes les concentrations testées. Cette efficacité serait liée à la richesse en polyphénols, qui perturbent la membrane bactérienne.

Les résultats ont montré aussi que notre extrait possède une forte activité antioxydante en comparaison avec l'acide ascorbique en tant que anti oxydant de référence. Cette propriété est principalement attribuée à sa richesse en composés phénoliques.

L'extrait a prouvé aussi une efficacité anti inflammatoire importante évaluée par deux méthodes ; méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) et celle de la stabilisation de la membrane des globules rouges. Bien que son activité demeure légèrement inférieure de façon significatif à celle du diclofénac, médicament de référence.

Références bibliographique

- **ADJANOHOUM. et al, 2016**, contribution aux études ethnobotanique et floristique en république populaire du Bénin, médecine traditionnelle et pharmacopée, ACCT
- **Ahmed, I. (1981)**. Dictionnaire des noms des plantes, nom latin, français, anglais et arabe. p 118
- **Alhakmani F, Kumar S and Khan S.A, 2013**. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxydant and anti-inflammatoire de fleurs de *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 3(8): 623–627.
- **Andrew, ch. (2001)**. La rousse Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soins. 2ème édition. P 20, 80
- **Bahorun T., 1997**. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food Agric. Res. N° special: 83-95.
- **Bel-Rhlid R., Chênevert R., Piché Y. (2016)**. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoïde compounds under CO₂-enriched conditions. New Phytologist; 122:461-467.
- **Benammar, T., Bekkara, F., & Lamri-Saad, Z. (2010)**. Profil phytochimique et activité antioxydante de *Matricaria chamomilla*. Revue de phytothérapie, 5(3), 112-120.
- **Bruneton J., 1999**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Tec & Doc/Lavoisier, Paris. Pp: 521-4.
- **Burt S. (2004)** Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments - un bilan. Journal international de microbiologie alimentaire, 94 (3), 223-253.
- **COWAN N. M., (1999)**. Plant products as anti-microbial agents. Clinical microbiology Reviews. Vol. 12(4): 564-582.
- **Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000)**. Natural Products (Secondary Metabolites). In: Buchanan, B., Grissem, W., & Jones, R. (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Éditeur : American Society of Plant Physiologists. Chapitre consacré aux terpènes et stéroïdes, expliquant leur rôle biologique et biosynthétique dans les végétaux.
- **Daglia, M. (2011)**. Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23, 1-8
- **Dewick, P. M. (2009)**. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (3^e édition). Éditeur : Wiley, Royaume-Uni. Cet ouvrage constitue une référence majeure en pharmacognosie et en biosynthèse des produits naturels, notamment des alcaloïdes

- **Djeridane, A.; Yous, M.;Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.etVidal, N. (2006)** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97: 654-660.
- **Donald G. Barceloux, 2008.**Medical toxicology of nature substances. P426
- **Dutertre J.M., 2011** - Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, 33 p
- **Edmond, J.-P. (2003).** Rôle des polyphénols dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif. *Cahiers de nutrition et diététique*, 38(4), 215-223.
- **El Amri J, Elbadaoui K, Zair T, Bouharb H, Chakir S, Alaoui T. I,2014.** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* : 82(1), 7481-92.
- **Fourasté, A. (2007).** Plantes médicinales : usages et propriétés. Toulouse
- **Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J.** Presses polytechniques et universitaires romandes. << Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique», p 121-216, 2005.
- **Franchomme et Pénoël ,2001.** L'aromathérapie exactement - Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R. Jollois.
- **Gaussen H. et Leroy H. F., 1982.** Précis de Botanique (végétaux supérieurs). 2ème ed. 426p.
- **Gayet C. Michel P.** Guide de poche de la phytothérapie. Paris : Quotidien Malin Editions ; 2013.
- **Goetz, P. & Ghedira, K. (2012).** Plantes médicinales : Dictionnaire des plantes utilisées en phytothérapie (2^e édition). Éditeur : Éditions Elsevier Masson, Paris. Donne les synonymes botaniques de *Matricaria chamomilla* L. et ses usages traditionnels.
- **Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, H. M., Bilsel, M., & Gören, A. C. (2010).** Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2227–2238.
- **Hamad S et Hamroun M. 2016.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales. antihypertensive auprès des herboristes et guérisseurs au niveau de la ville de Tizi-Ouzou et Fréha, mémoire de master- UMMTO
- **Heywood, V.H., Brummitt, R.K., Culham, A., & Seberg, O. (2007).** Flowering Plant Families of the World. Kew Publishing / Royal Botanic Gardens, Kew.

- **Hossain, M. A., Shah, M. D., & Gnanaraj, C. (2014).** Activité antioxydante et teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* L. *Journal of King Saud University – Science*, 26(4), 275–280.
- **ISERIN P., MASSON M (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de VUEF, Hong Kong:p.8.
- **KUNKELE U et LOBMEYER T.R., 2007.** Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol : 33 _ 318.
- **Lagnika, L. (2005).** Étude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.
- **Lalhminghlui, K., & Jagetia, G. C. (2018).** Evaluation of the free-radical scavenging and antioxidant activities of Chilauni, *Schima wallichii* Korth in vitro. *Future Science OA*, 4(2), FSO272. doi:10.4155/fsoa-2017-0086
- **Lamien-Meda, A., Lamien, C. E., Compaoré, M. M. Y., et al. (2008).** Polyphénols et activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla*. *Journal africain de biochimie*, 12(2), 98-105.
- **Macheix J.J., Fleuriet Annie et al., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques, presses polytechniques et universitaires romandes, 162p.
- **Mckay, D.L., Blumberg, J.B. (2006).** Étude de la bioactivité et des bienfaits potentiels de la tisane de camomille (*Matricaria recutita*). *Phytotherapy Research*. 20(7) : 519-530
- **Makhloufi, A. (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. p166.
- **MERAD, F., & MAHIOUT Tassadit, T. (2019).** Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines.
- **Mezache N., 2010.** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae: *Senecio giganteus* Desf, et *Chrysanthemum myconis* L. Thèse doctorat, Université Mentouri Constantine.
- **Michel S. (2011).** Les premiers groupes mésolithiques de la France atlantique : enquête sur l'industrie lithique

- **Mizushima, Y., & Kobayashi, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 20, n° 3, pp. 169–173. Article fondateur décrivant la méthode de dénaturation de l'albumine pour évaluer l'activité anti-inflammatoire.
- **Mohammed, K (2012).** Guide illustré de la Flore Algérienne. p 35,36,43,46,49,63
- **Mori, A., Nishino, C., Enoki, N., Tawata, S.(1987).** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*:26;2231-2234.
- **O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé), 2000.** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle.
- **OUMEDIU A. ADDOUN S. [THÈSE].** étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen .ALGÉRIE . (28/05/2017).
- **Oyedapo, O. A., & Famurewa, A. J. (1995).** Antiprotease and membrane stabilizing activities of extracts of *Fagara zanthoxyloides*, *Olax subscorpioidea* and *Tetrapleura tetraptera*. *International Journal of Pharmacognosy*, vol. 33, n° 1, pp. 65–69. Méthode de lavage des globules rouges et évaluation de la lyse membranaire.
- **Pierre M. et Lys M., 2007.** Secrets des plantes pour se soigner naturellement. Editions Artémis, Slovaquie. Pp: 89-198.
- **Pottier G., 1981.** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones-gamopétales. 1012p.
- **PRESCRIRE., 2007.** Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T. 27, n° 286.
- **Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf, A. (2010).** Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *J. Biological. Sciences*, 10(4): 316-324
- **Rhayour K.(2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 158 p.
- **Robbins, S.P. and Judje, T.(2003).** Essentials of Organizational Behavior (VOL.7). Prentice Hall, Upper Saddle River. 2
- **Saidi, I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives. [PhD Thesis).

- **Sanago R., 2006.**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université
- **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.
- **Shinde, U. A., Kulkarni, K. R., Phadke, A. S., Nair, A. M., Dikshit, V. J., Mungantiwar, A. A., & Saraf, M. N. (1999).** Membrane stabilizing activity – a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Indian Journal of Experimental Biology*, vol. 37, pp. 258–261. Référence pour la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges
- **Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G & Wegrzyn, G. (2008).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol*, 184 (5), 271-278.
- **Yadav N and Sharma S. (2016).** Reactive Oxygen Species, Oxidative stress and ROS scavenging system in plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(5):595-604.
- **ZEGGWAGH, Younes Lahlou, Yassin Bousliman 2013** ,enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste a fés , Maroc , the pan fraican Médical Journal P :14 .
- **Zeghad. (2009)** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister Université de Constantine. p 17-19-41-69.