

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE  
& BIOCHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA  
NATURE ET DE LA VIE  
FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE  
OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

N° :.....

Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique

Par :

HABOUCHE Hadjer & MIMOUNE Somia

Intitulé

**Etude *in vitro* de l'activité antioxydant et anti-  
inflammatoire de l'extrait éthanolique de  
*matricaria pubescens*.**

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. SELLOUM M	Université de M'sila	Président
Mme. BOUBEKEUR H	Université de M'sila	Rapporteur
Dr . BENKHALED A	Université de M'sila	Examineur

Année universitaire : 2018 /2019

# TABLE DES MATIERES

Résumé	
Liste des Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

## Partie I : Synthèse Bibliographique

I. Présentation de la plante d'étude.....	2
I.1. Habitat et répartition géographique .....	2
I.2. Classification .....	2
I.3. Systématique .....	2
I.4. Noms communs .....	3
I.5. Description botanique .....	3
I.6. Composition chimique .....	4
I.7. Utilisation de la plantes .....	4
I.8. Les produits naturels des plantes .....	5
I.8.1. Les métabolites primaires .....	5
I.8.2. Les métabolites secondaires .....	5
II. Activités biologiques .....	5
II.1 L'activité antioxydants .....	6
II.1.1. Stress oxydant .....	6
II.1.2. Les radicaux libres.....	6
II.1.3. Espèces Réactives de l'Oxygène .....	6
II.1.4. Les antioxydants.....	8
II.1.4.1. Les antioxydants primaire .....	8

II.1.4.2 Les antioxydants secondaires.....	8
II.1.5. les Antioxydants d'origine végétale.....	8
II.1.5.1.Modes d'action des polyphénols.....	8
II.2 L'activité anti-inflammatoire .....	8
II.2.1. Inflammation.....	8
II.2.1.1. Inflammation aiguë.....	9
II.2.1.2. Inflammation chronique.....	9
II.2.2. Anti-inflammatoires.....	11
II.2.2.1. Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens.....	11
II.2.2.1.1. Mode d'action .....	11
II.2.2.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS).....	11
II.2.2.2.1.Mode d'action.....	11
II.2.2 3.Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	11

## **Partie II : Expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

I. Matériel végétal.....	13
I.1.Méthode d'extraction.....	13
I.1.1 Extraction à froid.....	13
I.1.1.1Macération Ethanolique.....	13
I.1.2 Extraction à chaud.....	13
I.1.2 .1. Extraction par soxhlet.....	13
I.1.2 .2. Infusion.....	14
II. Etude phytochimique.....	14
II.1. Screening phytochimique.....	14
II.1.1.Polyphénol.....	15

II.1.2.Flavonoïdes .....	15
II.1.3.Les alcaloïdes.....	15
II.1.4.Tannins .....	15
II.1.5.Coumarin.....	15
II.1.6.Substance quinonique.....	15
II.1.7.Composés réducteurs .....	16
II.1.8.Les stérols et polyterpènes.....	16
II.1.9.Saponines.....	16
II.2. Séparation chromatographique de l'extrait sur couche mince CCM.....	16
II.3. Analyse quantitative d'extrait de la plante de <i>Matricaria pubescens</i> .....	18
II.3.1.dosage des polyphénols totaux.....	18
II.3.2.Dosage des flavonoïdes.....	18
III. Evaluation des activités biologiques.....	19
III.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	19
III.1.1.Test au DPPH.....	19
III.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	20

### **Partie III: Résultat et discussion**

I. Teneur en substances extractibles.....	21
II. Analyses qualitatives et quantitatives des extrait .....	22
II.1.1. Teste phytochimique .....	22
II.2. chromatographie sur couche mince .....	25
II.3. Analyse quantitative .....	26
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	26
II.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	28

III. Evaluation des activités biologiques .....	30
III.1. Activité antioxydantes .....	30
III.1.1. Test au DPPH .....	30
III.1.2. Corrélation entre les composés polyphénoliques, les flavonoïdes et les activités antioxydantes .....	32
III.2. Activité anti inflammatoire <i>in vitro</i> .....	33
Conclusion .....	36
Référence bibliographique	
Annexes	

# *Remerciement*

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

Toute mon estime et ma respectueuse gratitude vont à mon promotrice Mme Boubekeur Hafsa, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa conseils et la confiance qu'elle nous a accordée, nous a permis de réaliser ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Sellom. M qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Mes chaleureux remerciements vont également à Benkhaled .A qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier Dr Benkhaled .A chef de département de microbiologie et biochimie pour leur aide et encouragements.

Toute ma gratitude à tous les enseignants de science de la nature et de la vie, surtout ceux qui ont contribué à ma formation.

Nos plus sincères remerciements à l'ingénieur de labo de biochimie et microbiologie pour leur aide, faciliter nos travaux et pour sa gentillesse au quotidien et son soutien dans les moments difficiles.

Un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

J'exprime également toute mon amitié et ma reconnaissance aux nombreuses personnes rencontrées au cours de mes études, qui m'ont motivé, soutenu, corrigé.

**Hadjer \_ Somia**

## ***Dédicaces***

*Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité, la force d'y croire, la  
Patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Je dédié ce modeste travail*

*A*

*Mon Père Amer*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,  
L'estime, et le respect que j'ai toujours eu Pour vous.  
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et Nuit pour  
mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices, tes Consentis pour ma formation.*

*A ma très chère mère Magdoua*

*Pour leur amour, leur soutien Tu représentes pour moi*

*L'exemple*

*Du dévouement qui n'a pas cessé*

*De m'encourager et*

*De prier pour moi.*

*A ceux que j'aime beaucoup mes frères Rachid, Abd elkarime et Mouhamed, ma*

*belle sœur Sara, qui mon toujours soutenus et étaient toujours à mes coté.*

*A mon mari Saad qui me soutenait dans tous les moments de stress, de joie et  
de fatigue*

*A ma copine et ma Binôme Somia*

*A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée.*

***Hadjer***

## ***Dédicaces***

*Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A 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, qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour, que dieu te garde pour nous  
papa.*

*A ma très chère mère Meriem*

*Pour leur amour, leur soutien Tu représentes pour moi l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*A ceux que j'aime beaucoup mes frères Choayb et Aymen, mes belle sœurs Asma, Sara, Safa et Aya, zineb qui mon toujours soutenus et étaient toujours à mes coté.*

*A mes copines : Nawel, Wassila, Fatima, Djahida, Imen et safi.*

*A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée.*

*A ma copine et ma Binôme Hadjer*

*En témoignage de l'amitié que nous uni et de Tous les Moments de stress, de Joie et de fatigue que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail.*

***Somia***



## Résumé

Notre étude est basée sur l'évaluation de l'activité biologique de la partie aérienne de *Matricaria pubescens*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de la région Oued souf. Deux méthodes d'extraction le Soxhlet et la macération éthanolique. Les tests phytochimiques ont révélés la présence de principes actifs, en particulier les polyphénols et les flavonoïdes. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu et les trichlorures d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  respectivement. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de Soxhlet présente la plus grande teneur de  $59.25 \pm 0.27$   $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique /mg d'extrait et  $12.106 \pm 1.07$   $\mu\text{g}$  équivalent quercétine /mg d'extrait. Tandis que la faible teneur présente par la macération  $41.365 \pm 1.01$   $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique/mg d'extrait et  $5.380 \pm 0.085$   $\mu\text{g}$  équivalent quercétine /mg d'extrait. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode de piégeage des radicaux libre (DPPH), montré une forte activité anti-radicalaire par Soxhlet qui est inférieure à celle du BHT avec  $\text{IC}_{50}$  de  $99.861 \pm 2.364$  est  $16.415 \pm 2.461$  respectivement par rapport à la macération avec  $\text{IC}_{50}$ :  $106.340 \pm 2.407$ . L'activité anti-inflammatoire des extraits a été explorée *in vitro* par le test d'inhibition de dénaturation des protéines, les extraits ont montré une activité inhibitrice semblable au diclofénac sodique avec un pourcentage d'inhibition  $67.038 \pm 1.36$ ,  $58.038 \pm 2.551$  et  $72.435 \pm 1.022$  Respectivement.

**Mots clés :** *Matricaria pubescens*, étude phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, activité biologique.

## Abstract

Our study is based on the evaluation of the biological activities of the aerial part of *Matricaria pubescens*, a medicinal plant of the traditional pharmacopoeia of Oued souf region. Two methods of extracting soxhlet and maceration ethanolic. Phytochemical tests have revealed the presence of active ingredients, especially polyphenols and flavonoids. The Folin Ciocalteu method and  $\text{AlCl}_3$  aluminum trichloride, respectively determine total polyphenols and flavonoids. The results obtained indicate that the soxhlet extract has the highest content of  $59.25 \pm 0.27$  gallic acid equivalent / mg of extract and  $12.106 \pm 1.07$  equivalent quercetin / mg of extract. While the low content present by the maceration  $41.365 \pm 1.01$  ug equivalent of gallic acid / mg of extract and  $5.380 \pm 0.085$  ug equivalent quercetin / mg of extract. The evaluation of the anti-free radical activities by the free radical scavenging method (DPPH) has shown strong anti-free radical activities by soxhlet, which is lower than that of the BHT with  $\text{IC}_{50}$  of  $99.861 \pm 2.364$  and  $16.415 \pm 2.461$  respectively, compared to the maceration with  $\text{IC}_{50}$ :  $106.340 \pm 2.407$ . The anti-inflammatory activity of the extracts was explored *in vitro* by the protein denaturation inhibition the test extracts showed inhibitory activity similar to diclofenac sodium with a percentage inhibition  $67.038 \pm 1.36$ ,  $58.038 \pm 2.551$  and  $72.435 \pm 1.022$  respectively.

**Key words:** *Matricaria pubescens*, phytochemical study, determination of polyphenols and flavonoids, biological activities.

## المخلص

تعتمد دراستنا على تقييم الأنشطة البيولوجية للجزء الهوائي للقرطوفة (الوزوزة) وهي عشب يستخدم في الطب التقليدي في منطقة واد سوف. تم الاستخلاص بطريقتين مختلفتين طريقة النقع، وطريقة soxhlet باستعمال الايثانول. وقد كشفت الاختبارات phytochimique وجود المكونات النشطة، وخاصة متعدد الفينول و flavonoïdes يتم تحديد جرعة من اجمالي متعدد الفينول ومركبات الفلافينويد عن طريق Folin-Ciocalteu وكوريدات الالومينيوم (AlCl<sub>3</sub>) على التوالي. تشير النتائج التي تم الحصول عليها الى ان مستخلص soxhlet يحتوي على اعلى محتوى  $0.27 \pm 59.25$  ميكروغرام من حمض غالليك / ملغم من المستخلص و  $1.07 \pm 12.106$  ميكروغرام quercétine / ملغم من المستخلص، في حين المحتوى المنخفض موجود بواسطة مستخلص macération  $1.01 \pm 41.365$  ميكروغرام من حمض غالليك / ميلليغرام من المستخلص و  $0.085 \pm 5.380$  ميكروغرام quercétine / ملغم من المستخلص. تم تقييم النشاط المضادة للأكسدة باستعمال طريقة الجنور الحرة (DPPH) النشاط القوي لمستخلص soxhlet الذي هو أصغر من BHT مع  $106.340$  (IC<sub>50</sub>) و  $2.364 \pm 99.861$  (IC<sub>50</sub>) و  $2.461 \pm 16.415$  على التوالي مقارنة مع مستخلص macération مع  $106.340$  (IC<sub>50</sub>)  $\pm 2.407$ . اكتشف النشاط المضاد للالتهابات في المختبر عن طريق اختبار تثبيط تمسخ البروتين. أظهرت المستخلصات نشاط كايح بالمقارنة مع ديكلوفيناك الصوديوم  $1.36 \pm 67.038$ ,  $2.551 \pm 58.038$  و  $1.022 \pm 72.435$  على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Matricaria pubescens*، دراسة phytochimique، تقدير مادة polyphénols و flavonoïdes، الأنشطة البيولوجية.

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ❖ **Abs** Absorbance.
- ❖ **ADN** Acide Désoxy Ribonucléique
- ❖ **AG** Acide Gallique
- ❖ **AINS** Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens
- ❖ **AIS** Anti-inflammatoires stéroïdiens
- ❖ **AlCl<sub>3</sub>** Trichlorure d'aluminium
- ❖ **BHT** Butylated hydroxytoluene
- ❖ **CCM** Chromatographie sur couche mince
- ❖ **COX** Cyclo oxygénases
- ❖ **DPPH** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- ❖ **EAG** Equivalent en acide gallique
- ❖ **Eaq** Extrait aqueux
- ❖ **EQ** Equivalent en quercétine
- ❖ **ERO** Les Espèces Réactives de l'Oxygène
- ❖ **EtOH<sub>(M)</sub>** Extrait hydro-alcoolique par Macération
- ❖ **EtOH<sub>(S)</sub>** Extrait hydro-alcoolique par soxhelet
- ❖ **FeCl<sub>3</sub>** Chlorure de fer
- ❖ **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Peroxyde d'hydrogène
- ❖ **IC<sub>50</sub>** Inhibitory concentration
- ❖ **IL** Interleukine
- ❖ **n** nombre de répétition
- ❖ **NH<sub>4</sub>OH** Ammoniaque
- ❖ **O<sub>2</sub><sup>-</sup>** Anion superoxyde
- ❖ **OH<sup>•</sup>** Radical hydroxyle
- ❖ **Q** Quercétine
- ❖ **R** Rendement
- ❖ **R<sup>2</sup>** Coefficient de corrélation

- ❖ **RL** Radicaux libres
- ❖ **R<sub>F</sub>** Rapport frontal
- ❖ **SD** Ecart type
- ❖ **TNF $\alpha$**  Facteur de nécrose tumorale (Tumornecrosis factor)
- ❖ **UV** Ultraviolet
- ❖  **$\mu$ g** microgramme
- ❖  **$\mu$ l** microlitre.
- ❖ **V** Volume

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : <i>Matricaria pubescens</i>	4
<b>Figure 02</b> : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactive de L'oxygène impliqué en biologie	7
<b>Figure 03</b> : Réaction inflammatoire	10
<b>Figure 04</b> : Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique	27
<b>Figure 05</b> : Courbe d'étalonnage de la Quercétine	29
<b>Figure 06</b> : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT, EtOH <sub>(S)</sub> et EtOH <sub>(M)</sub>	31
<b>Figure 07</b> : Effet des extraits éthanolique de <i>Matricaria pubescens</i> et le diclofenac sodique sur la dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf).	34

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Composés phénoliques identifiés par CCM	17
<b>Tableau 02</b> : Rendement en extractibles de la partie aérienne de <i>Matricaria pubescens</i> .	22
<b>Tableau 03</b> : Criblage phytochimique <i>Matricaria pubescens</i>	24
<b>Tableau 04</b> : La chromatographie sur couche mince de l'extrait ethanologique (EtOH <sub>(S)</sub> , EtOH <sub>(M)</sub> ).	25
<b>Tableau 05</b> : Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits hydro-alcoolique de Soxhlet et de la macération	30
<b>Tableau 06</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> , des extraits <i>Matricaria pubescens</i> et du BHT	31
<b>Tableau 07</b> : Corrélation entre polyphénols, flavonoïdes, des extraits et leur activité antioxydante.	32
<b>Tableau 08</b> : Activité anti- dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf) des extraits de <i>Matricaria pubescens</i> et le Diclofénac sodique.	33

L'inflammation est une réponse de protection naturelle de l'organisme aux lésions tissulaires provoquées par des traumatismes physiques, agents chimiques ou infectieux. Elle est caractérisée par des douleurs, rougeur, chaleur, enflure et perturbations des fonctions physiologiques. Dans la plupart des cas cette réaction est bénéfique pour l'hôte agressé, mais une activation excessive de celle-ci, peut provoquer des altérations importantes incluant la dénaturation de certaines protéines. Ces dernières ayant perdu, de ce fait, leur structure tridimensionnelle, peuvent provoquer l'apparition d'auto-antigènes transformant ainsi une réaction inflammatoire en une réaction auto-immune (**Chandra et al., 2012**). Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes.

D'autre part, la production non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote provoquent ou maintiennent les processus inflammatoires, conduisant à plusieurs maladies tels que le cancer, le diabète, l'asthme, le vieillissement précoce, les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives et inflammatoires. La neutralisation de ces espèces par les antioxydants, surtout d'origine naturelle, peut limiter l'endommagement des biomolécules (ADN, protéines, lipides et sucres).

De nombreuses recherches à travers le monde se sont orientées vers la valorisation des substances naturelles douées d'activités biologiques afin d'établir des règles scientifiques pour leur usage. Et c'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail qui a pour objectif principal d'évaluer les propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes des extraits éthanolique de la plante médicinales *Matricaria pubescens* couramment utilisées en médecine traditionnelle pour ses diverses vertus.

Dans cette étude trois volets sont étudiés : Le premier consiste en une synthèse bibliographique sur la plante et les propriétés pharmacologiques des plantes médicinales en général. Le deuxième est une étude expérimentale comporte les méthodes d'extractions et les tests biologiques à savoir : criblage phytochimique, dosage des polyphénols, des flavonoïdes, l'évaluation de l'activité antioxydante, et anti inflammatoire *in vitro* des extraits éthanoliques. Le troisième représente les résultats et discussion suivie d'une conclusion générale et perspective.



*Synthèse*

*Bibliographique*

## I. Présentation de la plante d'étude

*Matricaria pubescens* est une petite plante aromatique, Spontanée qui pousse en abondance dans les régions Saharienne. C'est une espèce endémique avec une odeur très agréable. En Algérie, il existe 109 genres et 408 espèces.

### I.1. Habitat et répartition géographique

Selon les critères d'Union Internationale pour la Conservation de la Nature. Cette plante est endémique en Afrique du Nord. Au niveau local ( Sahara Algérien), cette plante est commune dans tout le Sahara septentrional correspondant au régions de : Biskra, Figui, El oued , Touggourt , Béchar , Ghardaïa , El Goléa, Ouargla , Beni Abbes et dans le Sahara central qui comprend les régions de : Adrar , Tamanghasset ,Djanet , Timimoune , In Salah.

*Matricaria pubescens* prospère en conditions de désert avec 100 mm au moyen des précipitations de Pluit par année. On trouve toujours dans les Oued non-saline dans les sols sablé et de temps en temps sur les sols caillouteux (**Ozenda, 2004**).

### I.2. Classification

Parmi les milliers de plantes médicinales recensées à ce jour, la famille des Astéracées dont fait partie *Matricaria pubescens*, est l'une des plus grandes familles des angiospermes, avec environ 1100 genres et 25000 espèces qui sont réparties dans pratiquement toutes les régions du globe ; Le genre *Matricaria*, compte environ 700 espèces principalement des régions tempérées d'Europe, d'Amérique, d'Asie et d'Afrique, dont quelques espèces en Australie (**Hammoud , 2009**).

### I.3. Systématique

La classification botanique de *Matricaria pubescens* est décrite comme suit (**Ozenda, 2004**).

---

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Monocotylédones
<b>Sous-classe</b>	Compositae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Astéracées
<b>Genre</b>	<i>Matricaria</i>
<b>Espèces</b>	<i>Matricaria Pubescens</i>

---

#### I.4. Noms communs

Le nom scientifique du Matricaire, *Matricaria pubescens* dérive du latin, *Matricaria* désignant matrice ; *Pubescens* signifiant velu.

- ❖ En arabe : Guertoufa, Ouazouza
- ❖ En targui : Ainesnis

Elle possède plusieurs noms vernaculaires tels que En anglais : Hairy camomille ; En français : Pubescente de camomille (**Maiza et al ., 2011**)

#### I.5. Description botanique

Le *Matricaria pubescens* c'est une plante de 10 à 20 cm de hauteur à racines pivotantes de 5-15 cm, à tiges nombreuses couchées puis redressées et sous forme de touffes. Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre, Involucre à bractées et ayant une marge membraneuse large, les fleurs toutes en tubes, de coloration jaune, sont groupées en capitules dont le diamètre est de 5 à 7 mm et des pédoncules non épaissis au sommet, les fruits de petits akènes linéolés blanc (**Quezel et Santa., 1963 ; Ozenda, 2004**). Floraison : avril-mai (**Chahma et Djebbar, 2008**).



**Figure 01 :** *Matricaria pubescens* (Djellouli *et al.*, 2013).

## **I.6. Composition chimique**

Les matricaires sont des plantes aromatiques présentant globalement les mêmes substances curatives à des proportions différentes. Un grand nombre de plantes du genre *Matricaria* ont fait à ce jour l'objet de plusieurs études, telles que des études chimiques et isolement de nombreux métabolites secondaires, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires tels que : les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, saponines, terpénoïdes, stéroïdes et cardénolides, des coumarines et les huiles essentielles (Benhammou *et al.*, 2013 ; Metrouh *et al.*, 2015). Cette diversité de composés pourrait justifier l'utilisation traditionnelle de *M. pubescens*.

## **I.7. Utilisation de la plantes**

*Matricaria pubescens* est une plante médicinale bien connue utilisée dans le sud d'Algérie elle n'est pas rapportée en tant que toxique par les nomades. Très utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter l'estomac douloureux, la constipation, le syndrome d'intestin irritable, les calculs biliaires et les problèmes respiratoire (asthme), anti-stress et les maladies gynécologiques (cherif *et al.*, 2017). Elle peut être ajoutée au thé et pour aromatiser les soupes (chorba) (Bellakhdar *et al.*, 1991). les recherches précliniques sur les animaux montrent que le genre *Matricaria* a démontré des propriétés anti-inflammatoire, antimicrobiennes, antioxydants et cytotoxiques en plus d'un effet baissant le cholestérol et un cicatrisant des plaies (Nayak *et al.*, 2007)

## **I.8. Les produits naturels des plantes**

Les plantes produisent un grand nombre de composés, Ils ont des intérêts multiples dans l'industrie, en alimentation et en cosmétologie. Ils se sont surtout illustrés en thérapeutique et dépassent actuellement 100 000 substances identifiées. Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Collins, 2007**)

### **I.8.1 Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont les composés qui ont des rôles essentiels liés à la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement. Il s'agit notamment des phytostérols, des lipides acylés, des nucléotides, des acides aminés et des acides organiques (**Ghazghazi et al., 2013**).

### **I.8.2. Les métabolites secondaires**

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes. Ils ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques, microorganismes pathogènes...etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre. Ils sont différents dans les différentes espèces, Parmi eux : les terpènes, les flavonoïdes, les tannins, les alcaloïdes et les coumarines (**Collin, 2007**).

## **II. Activités biologiques**

L'inflammation d'origine microbienne initiée par les agents microbiens joue un rôle essentiel dans l'efficacité de la réponse de l'hôte contre l'infection. Cette inflammation conduit à la production excessive des radicaux libres (RL) responsable de la génération du stress oxydant et la libération des facteurs inflammatoires générant des complications telles que les maladies cardiovasculaires, l'anémie. (**Belaïch et al., 2015**).

## II.1. L'activité antioxydants

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept celui des antioxydants. Le terme " antioxydant " recouvre un ensemble d'activités diverses ou plusieurs espèces sont habiles à ralentir ou à empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ces molécules, occupent du point de vue biologique une place impressionnante parmi plusieurs recherches menées depuis une dizaine d'années (**Athamena et al., 2010**).

### II.1.1. Stress oxydant

L'équilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et leur neutralisation est lié à la présence de nombreux systèmes antioxydants. Le stress oxydant est reconnu comme une altération de l'homéostasie redox cellulaire (**Favier, 2003**). Il s'agit d'une perturbation de l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur des pro-oxydants, conduisant à des dommages cellulaires potentiels.

### II.1.2. Les radicaux libres

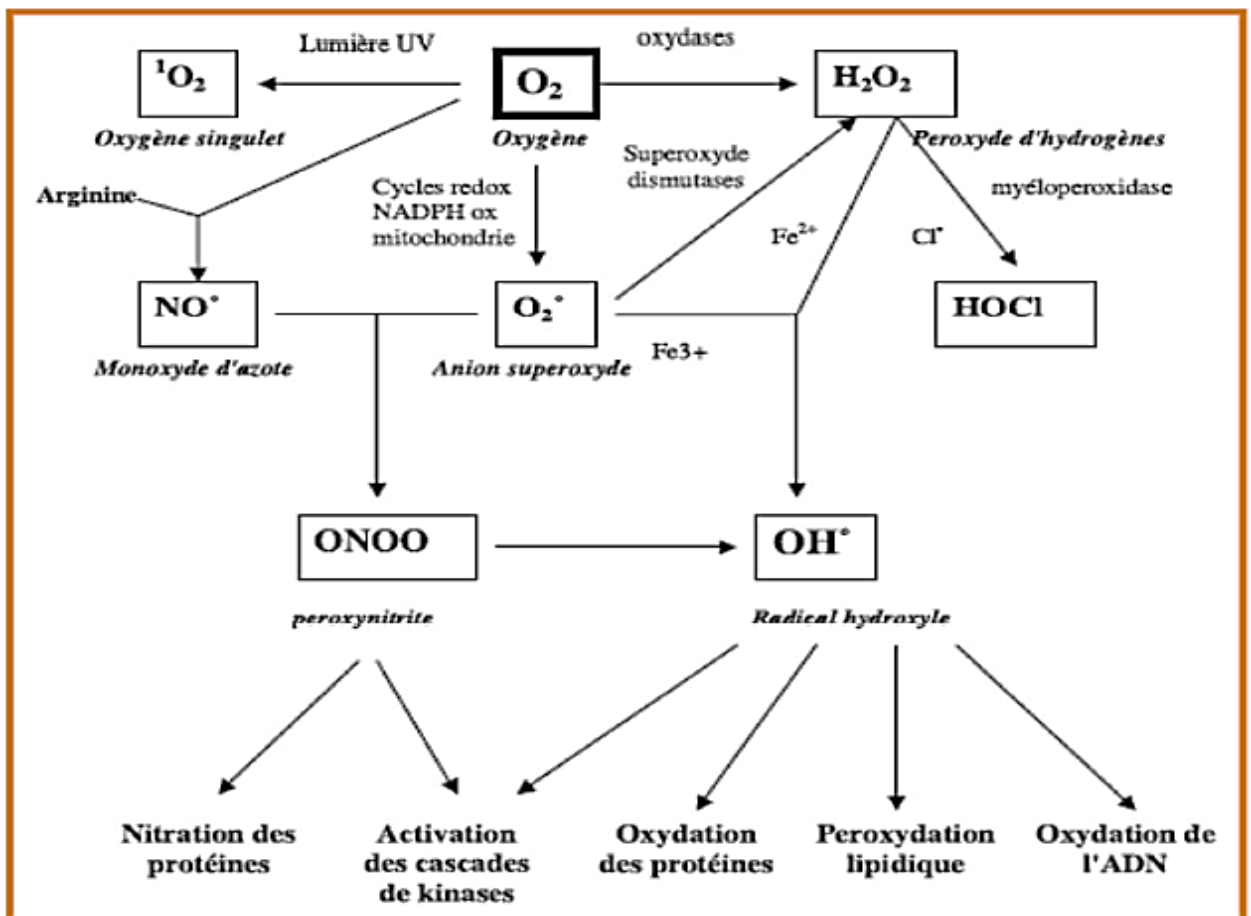
Un radical libre est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) qui possède un ou plusieurs électrons non appariés ou célibataires au niveau de ses orbitales externes .Il réagit spontanément avec d'autres atomes ou molécules pour former un nouveau radical provoquant ainsi une réaction en chaine. Les RL sont des espèces instables, très réactives et qui possèdent un temps de demie de vie extrêmement court de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$  secondes.

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides...) (**Favier, 2003 ; Gardés et al ., 2003**).

### II.1.3. Espèces Réactives de l'Oxygène

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'énergie .l'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant. il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèce réactive de l'oxygène (**Ichai et al., 2012**).

Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) sont produits à partir de l'oxygène moléculaire lors du métabolisme cellulaire normal. Ces dernières sont cependant inhibées par les antioxydants. Les ERO peuvent être divisés en deux groupes : radicaux libres et dérivés oxygénés réactifs non radicalaires (**Birben, 2012**). Les ERO majeurs ayant une signification physiologique sont l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ces espèces, et en particulier les espèces radicalaires, créent des dommages oxydatifs sur les macromolécules biologiques (ADN, lipides, protéines), qui peuvent perturber considérablement la machinerie cellulaire (**Gardès et al., 2003**).



**Figure 02 :** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactive de

L'oxygène impliqué en biologie (**Favier, 2003**).

#### **II.1.4. Les antioxydants**

Un antioxydant est défini comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente à faibles Concentrations par rapport au substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat (**Kamal-eldin et al., 2000**). Les antioxydants sont divisés en :

##### ***II.1.4.1. Les antioxydants primaire***

Ils sont fabriqués par notre organisme, il s'agit de facteurs spécifiques comme le glutathion, l'acide alpha-lipoïque, l'acide urique ; c'est aussi des enzymes (catalase, glutathion réductase, superoxyde dismutase) qui ont besoin pour être activées de la présence de minéraux issus des aliments : fer, zinc, cuivre, sélénium (**Causse, 1994**).

##### ***II.1.4.2 Les antioxydants secondaires***

Ce sont des molécules exogènes, c'est des substances qui peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo parmi lesquelles on trouve la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques.

#### **II.1.5. les Antioxydants d'origine végétale**

L'organisme utilise de nombreuses stratégies antioxydants dont les antioxydants apporté par l'alimentation comme la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les polyphénols.

##### ***II.1.5.1. Modes d'action des polyphénols***

D'après **Halliwell (1994)**, les polyphénols exercent leur pouvoir antioxydant selon divers mécanismes dont les principaux sont : le piégeage direct des ROS, la chélation des ions métalliques initiateurs de la production des ROS et l'inhibition directe des enzymes impliquées dans le stress oxydant ou sur leur transcription.

## **II.2 L'activité anti-inflammatoire**

### **II.2.1. Inflammation**

La réaction inflammatoire est une réaction de défense non spécifique de l'organisme à une agression bactérienne ou virale, un traumatisme, une brûlure, une irradiation ou une réaction immunitaire (**Henrotin et al., 2001**). La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée (aiguë) est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui vise à restaurer son



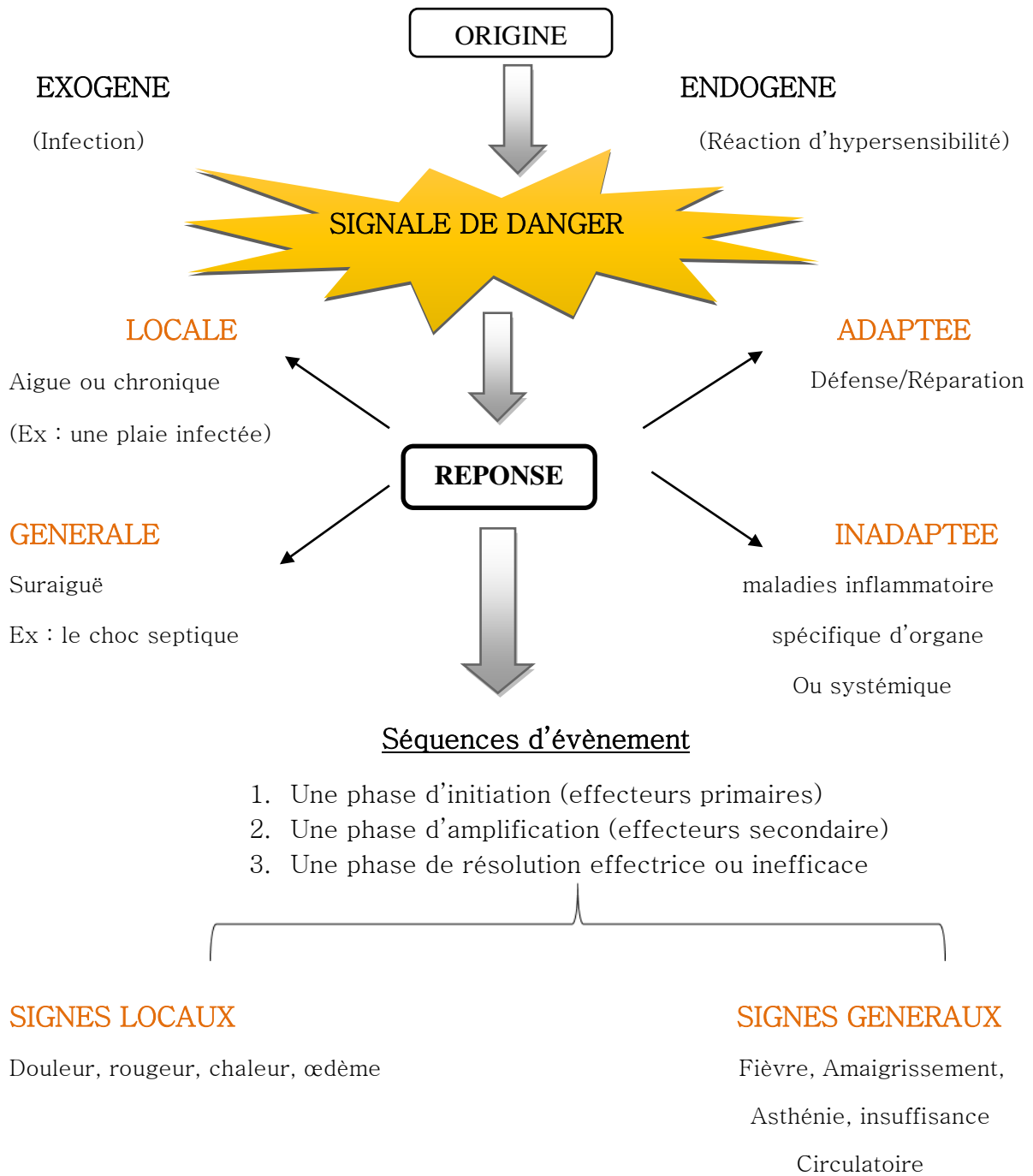
intégrité physiologique. Alors que l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient chronique (**Weill et al., 2003**).

#### ***II.2.1.1. Inflammation aiguë***

L'inflammation aiguë est caractérisée par quatre signes cliniques cardinaux qui sont la tuméfaction, l'hyperhémie, l'hyperthermie et la douleur. Elle dure de quelques jours à quelques semaines. L'inflammation aiguë se déroule en plusieurs phases, une phase vasculaire immédiate caractérisée par des modifications de la microcirculation locale, une phase cellulaire caractérisée par la mobilisation de nombreuses cellules immunitaires qui permettra l'élimination des microorganismes pathogènes et des tissus lésés, et une phase de résolution et de cicatrisation qui conduit à la restauration des tissus (**Weill et al., 2003**).

#### ***II.2.1.2. Inflammation chronique***

L'inflammation chronique est caractérisée par une durée étalée sur des mois ou des années et qui peut se prolonger tout au long de la vie de l'individu (**Fauve et Hevin, 1998**). A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (**Weill et al., 2003**). Les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire. Tandis que la présence des polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (**Dombrowicz et Capron, 2001**).



**Figure 03 : Réaction inflammatoire (Prin et al ., 2009)**

## II.2.2. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires ciblent les molécules clés dans la physiopathologie de la réaction : la PLA<sub>2</sub>, la lipoxygénase, la cyclooxygénase et les cytokines.

### II.2.2.1. Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens

Les Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques ainsi que des effets secondaires gastro-intestinaux et rénaux.

*II.2.2.1.1. Mode d'action*

L'action des AINS s'explique essentiellement par l'inhibition non spécifique de l'activité des cyclo oxygénases (COX 1 et COX 2) (**Ouédraogo et al., 2012**), qui forment la voie principale du métabolisme de l'acide arachidonique en prostaglandine, une molécule instable qui est, à son tour, est convertie en de nombreux autres composés inflammatoires.

*II.2.2.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens*

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste Famille de médicaments dérivés du cortisol synthétisé par les glandes surrénales. Les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation (**Baud et Gressens, 2009**).

*II.2.2.2.1. Mode d'action*

Les glucocorticoïdes traversent la membrane cytoplasmique par diffusion simple et se lient à un récepteur spécifique. Ce complexe récepteur-GC va traverser la membrane nucléaire et, par interaction avec un site receveur nucléaire, agit sur l'ADN et modifie l'expression du gène (**Muster, 2005**) ; En particulier, inhibent la synthèse de l'IL1 ; Celle-ci inhibe la phospholipase A2, laquelle fait libérer de l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires. Ils ont des actions suppressives sur la sécrétion d'autres cytokines pro-inflammatoires, dont le TNF $\alpha$  (**Bonnetblanc, 2002**).

*II.2.2 3. Anti-inflammatoires d'origine végétale*

Les plantes sont très utilisées en médecine traditionnelle pour soulager les malades atteints de certaines affections inflammatoires telles que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères gastriques et duodénaux (**Setty et Sigal., 2005 ; Wiart, 2006**).

L'activité anti-inflammatoire des plantes revient à leur contenu en métabolites secondaires bioactifs tels que les polyphénols, les stérols, les alcaloïdes, les saponines, les coumarines, les terpènes...etc. Ces substances actives peuvent agir à plusieurs étapes de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les mécanisme de transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules

inflammatoires, la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion, et la production des espèces oxygénées réactives (**Duwiejua et Zeitlin, 1993**).

*Matériels*  
&  
*Méthodes*

## I. Matériel végétal

La plante *Matricaria pubescens* a été récoltée pendant l'étape de floraison en avril 2017 dans la région d'El Meghaier (wilaya d'Oued souf), au sud-est de l'Algérie.

Les parties aériennes (tiges feuilletées et fleurs) ont été nettoyées et séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Elles ont été ensuite réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et récupérées dans des sacs de papier propres jusqu'à son utilisation.

### I.1.Méthode d'extraction

Les différents types d'extraits ont été préparés à partir de parties aériennes de *Matricaria pubescens*.

#### I.1.1. Extraction à froid

##### I.1.1.1.Macération Ethanolique

L'extrait hydro-alcoolique des parties aériennes de la plante de *Matricaria pubescens* ont été préparés selon la méthode décrite par **Coulibaly et al. (2011)**. 20 g du matériel végétal broyé est mise à macérer dans 200 ml d'un mélange éthanol/eau (80/20 : V/V) sous agitation magnétique et à une température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois successivement avec renouvellement du solvant chaque 24 heure. Le macérât hydro-alcoolique obtenus est soumis à la double filtration sur papier filtre. Les filtrats sont concentrés à l'évaporateur rotatif de type (Büchi R 114) à la température de 45°C, l'extrait obtenu a été nommé EtOH<sub>(M)</sub> et utilisé pour les tests phytochimiques et biologiques.

#### I.1.2 Extraction à chaud

##### I.1.2 .1. Extraction par soxhlet

L'extraction au soxhlet est une méthode d'extraction en continue ; l'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute (Annexe 02).

Un échantillon de 20 g de la partie aérienne de la plante de *Matricaria pubescens* est introduit dans une cartouche en cellulose et soumis à l'extraction par 500 ml d'un mélange éthanol/eau (80/20 : V/V) au Soxhlet, pendant 6 heures. Les extraits hydro-alcooliques sont évaporés sous vide à une température de 45°C (**Feknous et al.,2013**).

L'extrait obtenu a été nommé EtOH<sub>(s)</sub> et utilisé pour les tests phytochimiques et biologiques.

Le rendement est calculé selon la formule suivante : (Bimkr *et al.*,2011).

$$R = \frac{pEX}{pMS} \times 100$$

Où :

- ✓ R= rendement.
- ✓ pEX= poids de l'Extrait Sec.
- ✓ pMS= poids de la Matière Sèche

### ***1.1.2 .2. Infusion***

L'extrait aqueux de la plante de *Matricaria pubescens* est préparé par l'infusion de 20g dans 200 ml de l'eau distillée bouillante pendant 15 min, et laisser refroidir, puis filtré sous pression réduite et conservé au réfrigérateur à 4°C (Guimarães *et al.*, 2013). L'extrait aqueux a été utilisé pour les tests chimiques préliminaires.

## **II. Etude phytochimique**

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes des métabolites secondaires dans la plante.

### **II.1. Screening phytochimique**

L'analyse phytochimique a été réalisée sur l'extrait obtenu par l'infusion, soxhlet et macération en utilisant des procédures chimiques pour identifier les différents constituants comme décrit par (Sheikh *et al.*, 2013).

La révélation de certaines familles chimiques de la plante a été réalisée grâce aux tests de détection chimique telle que : les alcaloïdes (test de Mayer et Wagner), les composés phénoliques et les tanins (réaction au chlorure ferrique), les flavonoïdes (réaction à la cyanidine), les saponines (indice de mousse), les stérols et triterpènes (réaction de Liebermann Buchard), coumarines (test de confirmation). L'analyse qualitative de l'extrait est basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

### II.1.1. Polyphénol

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 02 goutte de  $FeCl_3$  à 2% .L'apparition de coloration bleu-noirâtre ou vert ou noir foncée fut le signe de la présence de polyphénol (**Yap et al., 2009**).

### II.1.2. Flavonoïdes

Quelque goutte d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0.5 ml d'extrait. La coloration rose-rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Hadouchi et al., 2016**).

### II.1.3. Les alcaloïdes

Pour s'assurer de la fiabilité des résultats, deux types de réactifs de test d'alcaloïdes ont été utilisés en parallèle Mayer et Wagner. Pour le premier test, un volume de 0, 5 ml du réactif de Mayer a été mis en contact avec 0, 5 ml de chaque extrait. Pour le deuxième test un volume de 0, 5 ml de chaque extrait a été mélangé avec 0.5 ml de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun, dans les deux essais, indique la présence des alcaloïdes (**Paris et Moyse, 1969**).

### II.1.4. Tannins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de  $FeCl_3$  diluée à 1%. L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins.

L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques. L'apparition d'une coloration bleue verte indique la présence des tanins galliques (**Hadouchi et al., 2016**).

### II.1.5. Coumarines

Dans un tube 5 ml d'extrait, puis 2 ml d'eau chaude est ajoutée au résidu. La solution est partagée entre 2 tubes à essais. Au contenu de l'un des tubes, 0,5 ml est ajouté de  $NH_4OH$  à 25%. La fluorescence est observée sous U.V à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines (**Niare ,2006**).

### II.1.6. Substance quinoniques

Les substances quinoniques libres ou combinées sont mises en évidence en utilisant le réactif de Borntraegen. Pratiquement 2 ml de l'infusât sont évaporés à sec. Le résidu est trituré sans 5 ml d'acide chlorhydrique à la 1/5 puis placé dans un bain marie pendant



30min .Après refroidissement, les quinones sont extraites par 20 ml de chloroforme. Un volume de 0.5 ml d'ammoniaque dilué au demi est ajouté à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette est un signe positif de la présence des quinones (**Békro et al., 2007**).

### **II.1.7.Composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bentab et Lasгаа, 2015**).

### **II.1.8.Les stérols et polyterpènes**

Les stérols et les polyterpènes ont été mis en évidence par la réaction de Liebermann-Buchard. 1ml d'infusé est mélangé à chaud avec 1ml de chloroforme, dans un tube à essai dans lequel sont coulés lentement 0,5 ml une solution concentrée de l'acide sulfurique pour former une couche. L'apparition d'anneau rouge indique une réaction positive.(**Joshi et al., 2011**).

### **II.1.9.Saponines**

La mise en évidence des saponines dans un extrait végétal est basée sur la capacité d'une solution aqueuse de l'extrait à donner une mousse, après agitation. Cette propriété est à la base de la méthode permettant d'apprécier la richesse d'un extrait en saponosides : mesure de l'indice de mousse.

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml d'extrait aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité quelques secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (**Tamilselvi et al., 2012**).

## **II.2. Séparation chromatographique de l'extrait sur couche mince CCM**

Les différents composés chimiques dans les extraits s'est faite par chromatographie sur couche mince (CCM) selon la méthode utilisée par **Kouadio et al (2015)**. Cette méthode permet la mise en évidence de plusieurs groupes de métabolites secondaires par des colorations spécifiques, soit dans le visible ou à une longueur d'onde donnée (**N'gaman et al., 2009**).

Le principe de la CCM consiste en une séparation des substances chimiques en fonction de leur affinité par rapport à deux phases : une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide (éluant) constituée par un mélange de solvants (**Djeridane et al.,2006**). Sur une même plaque chromatographique sont appliqués des dépotes : de l'extrait, des étalons (Quercétine « Q », Acide Gallique « AG »). Les plaques sont séchées à l'air ambiant et placées dans les cuves de migration saturées par la phases mobile en testant chaque fois un système solvant (**Mansar-Benhamza et al., 2013**) :

- Acétate d'éthyl / Méthanol / Eau. Acétate « AME » ; (35/7.5/7.5)
- Acétate d'ethyl /AC acétique / Eau. « AAE » ;( 40/5/5)
- Acétate d'éthyl /Acide formique / Eau « AFE » ;( 40/5/5)

Après migration, les plaques sont observées sous lampe UV à 254 nm et 366 nm. Les substances phénoliques sont des molécules UV actives et absorbent UV à 366 nm. Le rapport frontal ( $R_F$ ) pour chaque tâche a été calculé selon la formule suivante (**Djeridane et al.,2006**).

$$R_F = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

**Tableau 01** : Composés phénoliques identifiés par CCM (**Markham, 1982**)

Couleurs sous UV 366 nm	Classes de polyphénols possible
Mauve	Anthocyanidine-3-glycosides
Violet	Flavones
Bleu	Ac Phénolique
Bleu vif	Ac Phénolique
Bleu jaunâtre	/
Bleu blanc fluorescent	Flavonols, Flavones, Isoflavones et
Bleu pale	Flavanones
Vert	Ac Phénolique
Jaune	Flavonols, Flavonones et Aurones
Jaune grisâtre	Flavonols
Jaune pale	/
Orange	Flavonols
Rouge	Anthocyanidine-3-glycoside
Gris	Anthocyanidine-3-glycoside
Gris sombre	/
Bleu sombre	/

## II.3. Analyse quantitative d'extrait de la plante de *Matricaria pubescens*

### II.3.1. dosage des polyphénols totaux

#### *Principe :*

Le contenu des phénols totaux a été déterminé à l'aide de réactif Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique et phosphomolibdique du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements des composés phénoliques conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu qui présentent un maximum d'absorption à 760 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans l'échantillon. (Hadouchi *et al.*, 2016).

#### *Mode opératoire :*

100 µl de l'extrait est mélangé avec 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10%), après 04 min, 400 µl de carbonate de sodium (7,5%) est ajouté, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 02 heures. Toutes les expériences ont été réalisées en triple.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Hadouchi *et al.*, 2016).

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

#### *Principe :*

Les flavonoïdes contenus dans l'extrait sont estimés par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde – aluminium. La quantification des flavonoïdes a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard (la quercétine) à différentes concentrations (0-25 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en µg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Talbi *et al.*, 2015).

### Mode opératoire

1ml d'AlCl<sub>3</sub> (2%) est ajouté à 1ml de l'échantillon contenant différentes concentration. Le mélange est laissé réagir pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. Toutes les expériences ont été réalisées en triple. La lecture est faite à 430 nm (Talbi *et al.*, 2015).

## III. Evaluation des activités biologiques

Présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits éthanolique de *Matricaria pubescens*.

### III.1. Evaluation de l'activité antioxydante

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé le test chimique à savoir : l'effet (scavenger) d'un antioxydant sur le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

#### III.1.1. Test au DPPH

##### Principe :

La méthode au DPPH• (diphénylpicryl-hydrazyl) est basée sur la réduction de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH.H (diphényl Picryl-hydrazine). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH• de couleur violette se réduit en DPPH.H de couleur jaune. La réduction du radical libre DPPH peut être suivie par spectrométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Athamena *et al.*, 2010).

##### Mode opératoire :

Un volume de 750 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 250µl de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le BHT (butylated hydroxytoluene) est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires (Bouhlali *et al.*, 2016). Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) \times 100.$$

Où :

- **Ac** : absorbance du contrôle négatif.
- **At** : absorbance du test effectué.

L'IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. IC<sub>50</sub> est calculé graphiquement par les régressions linéaires de l'activité de piégeage (en %) tracé en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Mahmoudi *et al.*, 2009).

### III.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

Méthode de dénaturation de l'albumine

Le test a été réalisé en adoptant la méthode décrite par Kumari *et al.* (2015). Un récipient de réaction pour chaque mélange a été préparé constitué de 200 ul d'albumine d'œuf, de 1400 ul de solution saline tamponnée au phosphate et de 1000 ul de l'extrait d'essai (à différents concentrations : (100, 300,1000 mg/ml). De l'eau distillée au lieu d'extrait a été utilisée comme témoin négatif. Ensuite, les mélanges ont été incubés à 37 ° C pendant 15 minutes puis chauffés à 70 ° C pendant 5 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurées à 660 nm (Nurullzzati *et al.*, 2016).

Le diclofénac sodique est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires. L'expérience a été réalisée en triple. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ Inhibition de la dénaturation} = \left(1 - \frac{D}{C}\right) \times 100$$

Où :

- ✓ D : Est la lecture de l'absorbance de l'échantillon d'essai
- ✓ C : Est la lecture de l'absorbance sans échantillon d'essai (contrôle négatif).

#### Analyses statistique

Toutes les déterminations ont été réalisées en triple exemplaire et les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey, tester les différences significatives en utilisant graph pad. Les valeurs ont été considérées significatives à  $p \leq 0,05$ .

*Résultats*

*&*

*Discussion*

## I. Teneur en substances extractibles

Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux, de flavonoïdes ont a utilisé deux méthodes d'extraction des parties aériennes de plante, *Matricaria pubescens* à s'avoir la macération de la poudre végétale à froid et le soxhlet à chaude avec un solvant hydro-alcoolique (éthanol/eau).

L'extraction est l'étape principale dans la récupération et l'isolement des composés phytochimiques bioactifs. Elle est influencée par le procédé d'extraction utilisé, la taille des particules l'échantillon, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2007**).

Les extraits éthanolique (EtOH<sub>(S)</sub>; EtOH<sub>(M)</sub>) obtenus ont l'aspect visqueux de couleur marron et vert foncé. L'utilisation combinée d'eau et de l'éthanol peut faciliter l'extraction des substances solubles dans l'eau et / ou l'éthanol.

En fait, l'utilisation d'un matériel sec pour l'extraction des polyphénols est recommandée car les flavonoïdes peuvent subir une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché (**Marston et Hostettmann, 2006**). Les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent aussi être la cause de cette dégradation (**Seidel, 2005**). Le séchage à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations UV de la lumière solaire (**Jones et Kinghorn, 2005**). L'utilisation de la poudre améliore l'extraction car la surface de contact entre l'échantillon et le solvant est plus grande, et la pénétration à l'intérieur des cellules non détruites après le broyage est plus facile.

Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la macération soit une moyenne de 24.38 % par rapport au 15.160% pour soxhlet. (Tableau 02).

Le rendement calculé par **Metrouh et al., (2015)** ; **Bouziane et al., (2016)** à partir d'un extrait hydro-alcoolique de *Matricaria pubescens* récolté de Ouargla est de 23.22% et 34.68% respectivement. Ces rendements sont supérieurs par rapport à ceux que nous avant trouvés. Cette variabilité de rendement dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le PH, la température, le temps et la méthode d'extraction ainsi que le lieu et la période de la récolte de l'échantillon.

Les extraits méthanoliques de 4 plantes originaires de la chine et appartenant à la famille Astéracées (*Artimisia annua.L*, *Artimisia argyi*, *Artimisia capillary* et *Arctium lappa.L*) étudiés par **Yishong et ces collaborateurs (2003)** ont donné des rendements qui varient entre le 1.94 à 3.74% .Cette variations des rendements peuvent être liées à l'origine géographique de la plante, aux conditions et à la durée de stockage et de la récolte (**Athamena, 2010**).

**Tableau 02** : Rendement en extractibles de la partie aérienne de *Matricaria pubescens*.

Paramètre	Type d'extraction	Masse (g)	Durée	Teneur %
<b>Substance extractibles Par solvant organique</b>	Soxhlet	3.032 ± 1.70	6h	15.160 ± 1,38
	Macération	4,876 ± 1.35	24h	24.38±1.68

## II. Analyses qualitatives et quantitatives des extraits

### II.1. Tests phytochimiques

Après obtention des extractibles, nous avons réalisé un criblage phytochimique de l'extrait afin d'identifier qualitativement les différentes familles de composés présentes. Selon la famille de molécules recherchée, le test a été réalisé directement soit par l'extrait soit après infusion. Les résultats de ce screening permettent d'avoir une idée sur les activités biologiques probables. Ces tests colorimétriques sont basés sur l'interaction de certaines fonctions avec les réactifs utilisés.

Les résultats ont permis de mettre en évidence la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins cathéchique, de saponines, de polyterpènes, de coumarines et des alcaloïdes. (Tableau 3).

Le test de mise en évidence des polyphénols a donné une coloration bleu noirâtre intense montrant la richesse de la partie aérienne de la plante en polyphénols. De sa part, le test des flavonoïdes s'est révélé positif avec l'apparition de la coloration jaune. L'apparition d'une coloration vert foncé intense indique la présence des tanins cathéchiques.



La formation de mousse après agitation de l'infusât et sa persistance après 15 min de repos avec une hauteur de 2 cm montre la richesse relative de la partie aérienne en saponines. Par ailleurs, les tests de révélation des tanins gallique, et des composés réducteurs s'est avéré négatif.

La présence des terpènes et des coumarines a été aussi démontrée mais ils sont moins abondants que les autres familles chimiques révélées. La réaction de mises en évidence des substances quinoniques a donné un résultat négatif. Ceci en accord avec les résultats de **Makhloufi, (2008) ; cherif et al., (2017)**.

Les résultats de cette caractérisation phytochimiques primaire typiquement qualitative montrent que les parties aériennes de *M.pubescens* possèdent une quantité appréciable de polyphénols, de tanin et de flavonoïdes (Annexe 03).

Les travaux de **Mohammed et al., (2013)** sur les parties aériennes de *Matricaria pubescens* récoltée de la région du sud-ouest de l'Algérie, ont montré la présence des mêmes familles de composés, exception faite pour les alcaloïdes et les terpènes qui étaient plus abondants par rapport au notre. En plus, il a noté la présence des cardénolides, les stéroïdes. Nos résultats vont en concordance avec ceux de **Djellouli et al (2013) ; Metrouh et al., (2015)**. Qui ont constaté l'absence de tanins galliques et la présence de tanins cathéchiques les trapénoïdes, stéroïde.

Tableau 03 : Résultats des tests phytochimiques

Composés recherchés	Réactifs d'identification	Partie utilisée	Indicateur	Résultat
<b>Polyphénols</b>	Chlorure ferrique FeCl <sub>3</sub> (2%)	Extrait	Coloration bleu noirâtre ou vert ou noir foncée	+++
<b>Flavonoïdes</b>	d'acide chlorhydrique, tournures de magnésium	Extrait	La coloration rose-rouge ou jaune	++
<b>Alcaloïde</b>	Mayer	Infusât		+
	Wagner	Infusât	précipité blanc ou brun	+ -
<b>Tanin</b>	solution de FeCl <sub>3</sub> diluée à 1%	Extrait	vert foncée (tanins catéchiques)	++
			bleu-vert (tanins galliques)	-
<b>Coumarine</b>	NH <sub>4</sub> OH à 25%.	Extrait	fluoresces	+
<b>Substance quinoniques</b>	Réactif de Borntraegen	Infusât	Coloration rouge ou violette	-
<b>Composés réducteurs</b>	liqueur de Fehling	Extrait	précipite rouge brique	-
<b>Stérol et Polyterpènes</b>	Réactif de Liebermann	Extrait		+
<b>Saponoside</b>	Indice de mousse	Infusât	Anneau rouge	++
			Mousse persistante	

+++ : réaction fortement positive et ++ : réaction moyennement positive, + : une réaction faiblement positive et - : une réaction négative

## II.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode qualitative qui nous a permis de confirmer les résultats des réactions de caractérisations en tubes. Les extraits ont été séparés en utilisant plusieurs systèmes de solvant spécifiques. L'identification des composés a été basée sur l'observation de la couleur des spots résultants de la séparation après la révélation par le réactif de Godin sous lampe UV à 366 nm d'une part, et par la comparaison des  $R_f$  des échantillons à ceux des étalons utilisés d'une autre part (Quercétine et acide gallique). L'ensemble des résultats de cette analyse sont consignés dans le tableau 4.

**Tableau 04** : la chromatographie sur couche mince de l'extrait éthanolique ( $\text{EtOH}_{(S)}$ ,  $\text{EtOH}_{(M)}$ ).

Extrait/ Témoin	Système	Nombre des taches	UV à 366 nm	$R_f$
Quercétine Ac gallique  $\text{EtOH}_{(S)}$	AME (35/7.5/7.5)	Deux taches	Jaune	0.85
			Bleu	0.71
	AAE (50/5/5)	Quatre taches	Jaune pale (avec Q)	0.85
			Marron	0.33
			Jaune pale (avec Q)	0.87
			Bleue (avec AG)	0.71
AFE (50/5/5)	Deux taches	Gris	0.48	
		Vert	0.22	
$\text{EtOH}_{(M)}$	AME (35/7.5/7.5)	Trois taches	Jaune pale (avec Q)	0.80
			Bleu (avec AG)	0.57
			Jaune pale (avec Q)	0.88
			Bleu (avec AG)	0.76
			Jaune grisâtre	0.38

La tâche de couleur grise nous orientent vers la présence de tanin. Les couleurs jaunes obtenue au  $R_f$ : 0.85, 0.87, 0.80, 0.88 peuvent être celle des flavonoïdes (**Mamyrbekova Bekro et al., 2012**). Par calcul des rapports frontaux des extraits et leur comparaison avec ceux des témoins, les composés suivant ont été identifiés : l'acide gallique et la quercétine dans les deux extraits ( $\text{EtOH}_{(S)}$  ;  $\text{EtOH}_{(M)}$ ).

L'observation de plaque CCM sous UV à 366 nm a donnée des taches de différentes couleurs (jaune pâle, bleu, jaune grisâtre, gris, marron, vert), qui correspondent à différentes classes de métabolites secondaires telle que : Flavonols et l'acide phénolique (tableau 1)

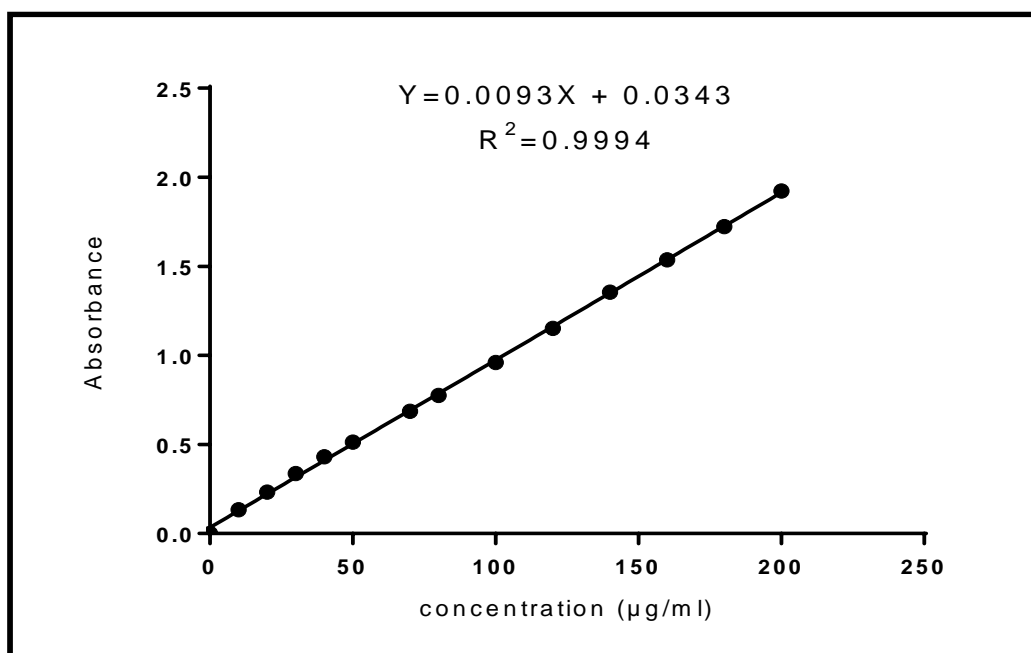
Cette séparation par les trois systèmes de l'éluant est obtenue grâce à la présence de l'eau qui augmente la solubilité des flavonoïdes. Cette solubilité est en fonction de nombre de groupement hydroxyle, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonée. La majorité des polyphénols ne sont pas hydrosolubles et l'ajout des solvants organique (méthanol, d'Acétate d'éthyl, Acide formique et acide acétique) a favorisé la séparation des polyphénols (Cowan, 1999 ; Macheix *et al.*, 2005).

### **II.3. Analyse quantitative**

#### **II.3.1. Dosage des polyphénols totaux**

L'éthanol et l'eau ainsi que leur mélange sont les plus utilisés pour une bonne récupération de composés phénoliques de certaines plantes de la famille des astéracées (Yizhong *et al.*, 2003) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (Barros *et al.*, 2010).

Le contenu phénolique total des extraits exprimés en équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (EAG/mg E). Après l'addition de la solution de monohydrate carbonate de sodium et le réactif Folin-Ciocalteu a l'extrait de *Matricaria pubescens* une couleur bleu a été obtenue, cette coloration varie en fonction de la concentration de deux extraits. Une courbe d'étalonnage a été tracée avec l'acide gallique à différents concentration (0-200ug/ml) ; des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 760 nm. Les teneurs en polyphénols ont été déterminées selon l'équation  $y = 0.0093x + 0.0343$  et  $R^2 = 0.9994$ .



**Figure 04 :** Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.

L'étude statistique des teneurs en polyphénols totaux obtenus par les différentes méthodes d'extraction (Fig.4, Tab.5), révèle une différence non significative ( $p < 0,05$ ) pour les deux extraits éthanolique qui équivaut à  $59.25 \pm 0.27 \mu\text{gEAG} / \text{mg}$  d'extrait par soxhlet par rapport  $41.365 \pm 1.01 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$  d'extrait par macération.

L'étude réalisée par **Metrouh-Amir et al. (2015)**, concernant l'effet de solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques de *Matricaria pubescens*, montre que la meilleure teneur en polyphénols est obtenue en utilisant les solvants organiques dilués à savoir ; le méthanol aqueux, l'éthanol aqueux et l'acétone aqueux.

Selon les résultats de **khacheba et al., (2014)** les teneurs en polyphénols des extraits méthanolique est  $3.16 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$  d'extrait. Cependant **Harbourne et al., (2009)** ont trouvé dans une plante de même genre une valeur de  $13 \mu\text{gEAG} / \text{mg}$  d'extrait. Ces valeurs sont largement inférieures à la nôtre.

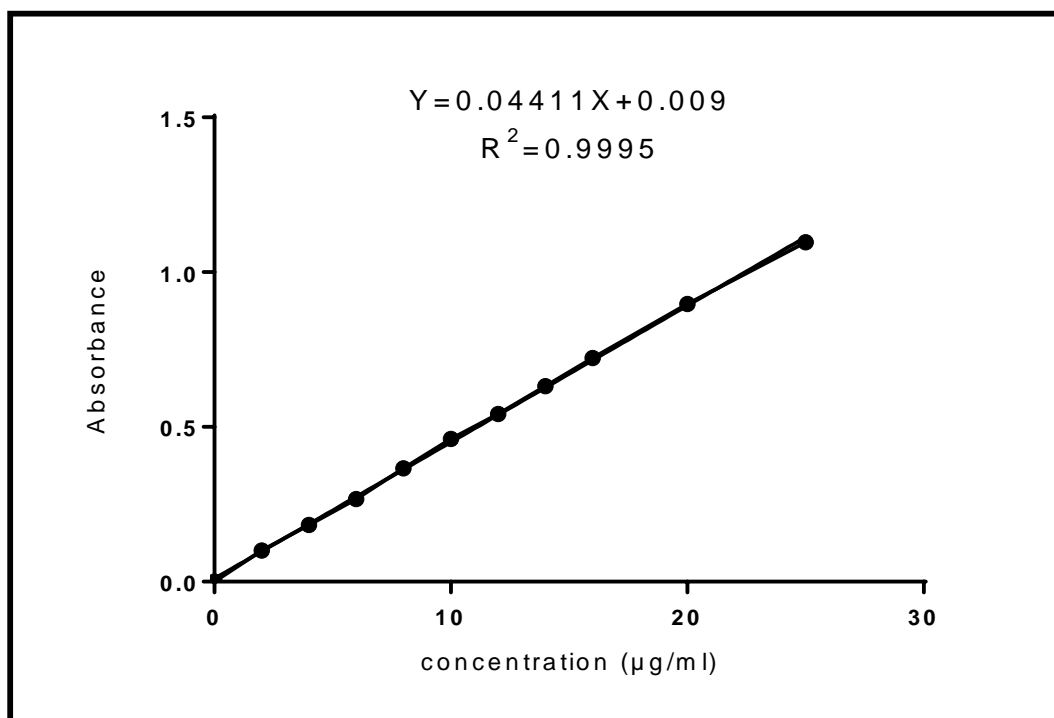
Plusieurs auteurs signalent qu'il y a une différence significative des teneurs phénoliques au sein d'une même espèce en fonction de son origine et son habitat, ceci a été confirmé par **Sanchez-Rodriguez et al., (2011)**.

Cette variabilité est probablement liée aux conditions environnementales sévères telles que, le type du sol, la salinité, les faibles précipitations et le stress hydrique ce qui peut induire la synthèse de composés phénoliques comme une réponse au stress oxydatif générée par la formation d'espèces réactives de l'oxygène.

L'ors de études réalisé par **Djeridane et al., (2006)** sur des plantes algériennes de la même famille ; *Artemisia herba-hara*, *Artemisia campestris* et *Anthemisa arvensis*, des teneurs en polyphénols et inférieur à celles trouvées dans *M. pubescens* ont été obtenues en utilisant l'éthanol aqueux (70%) pour l'extraction, cependant les teneurs obtenues sont comprise entre 1,31 et 3,23g EAG/100g d'extrait.

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandue dans le règne végétal. Ils constituent la classe polyphénoliques la plus importante qui compte à elle seule plusieurs milliers de molécules réparties entre plus de 10 classes avec plus de 5000 composés (**Gomez-Caravaca et al., 2006**). Dans ce travail les flavonoïdes en été déterminés par la méthode de trichlorure d'aluminium. Après l'addition d' $\text{AlCl}_3$  et après incubation une couleur jaunâtre a été obtenue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des deux l'extrait, ce qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'extrait de la partie aérienne de *Matricaria pubescens*. Une courbe d'étalonnage a été tracée avec un extrait de quercétine à différentes concentrations ; des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 430 nm. Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées par l'équation :  $Y=0.04411x + 0.009$  avec  $R^2 = 0.9995$ .



**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

L'étude statistique des teneurs en flavonoïdes totaux obtenus par les différentes méthodes d'extraction (Fig.5, Tab.5), révèle une différence non significative ( $p < 0,05$ ) pour les deux extraits éthanolique qui équivaut à  $12.106 \pm 0.27$  ug EQ/mg d'extrait par soxhlet par rapport  $5.380 \pm 0.085$  ugEQ/mg d'extrait par macération.

Au vu des données de la littérature, nous notons que la teneur en flavonoïdes totaux varie pour la même plante en fonction de la région de provenance, du solvant et de la méthode d'extraction utilisée. Dans ce contexte, **Khechba et al., (2014)** ; **Laouini et al., (2016)** ont constaté que l'extrait aqueux et méthanolique trouvé par soxhlet et par macération de la partie aérienne de *M. pubescens* récolté de la région d'El oued et de Laghouat, renferment des proportions différentes en flavonoïdes et qui sont respectivement 9.76 et 1.04 mg EQ/g MS. De même **Bouziane, (2016)** a montré la richesse remarquable de l'extrait hydro-acétonique de la plante récolté de la région de Biskra en flavonoïdes 526.3 mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont plus supérieurs à ceux obtenue par nos extraits.

Cette variabilité est aussi constaté pour les espèces de même genre, en effet **Harbourne et al .,(2009)** ont montré la richesse de *matricaria camomilla* (24.5 mg EQ/mg EX) en flavonoïdes par rapport aux plantes de mémé famille telle que : *Artimisia hera alba*, *Artimisia compastiris* et *Artimisia arvensis* qui contient entre 0.75 et 1.31 g ER/100G Ms utilisant éthanol aqueux (70%) comme solvant (**Djeridane et al.,2006**).

**Tableau 05** : Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits hydro-alcoolique de soxhlet et de la macération.

Extrait	Polyphénols (ug d'équivalent d'AC gallique /mg d'extrait)	Flavonoïdes (ug d'équivalent de quercétine /mg d'extrait)
EtOH <sub>(S)</sub>	59.25 ± 0.27	12.106 ± 1.07
EtOH <sub>(M)</sub>	41.365 ± 1.01	5.380 ± 0.085

Les valeurs représentent la moyenne de 3 à 4 essais ± SD

Les valeurs de probabilité  $P < 0,05$  ont été considérées comme peu significatives. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SD ( $n = 3$ ).

Les résultats obtenus montrent que les composés polyphénoliques sont abondants dans la partie aérienne de cette plante, cette abondance selon **Djeridane et al., (2006)** est une caractéristique de la famille des astéracées. Cela pourrait être lié aux conditions climatiques des endroits où elles poussent qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols (**Falleh et al., 2008**).

### III. Evaluation des activités biologiques

#### III.1. Activité antioxydante

##### III.1.1. Test au DPPH

Les profils de l'activité anti radicalaire obtenus ont été testés par la méthode du DPPH, c'est un radical organique stable réagit avec le polyphénol par transfert d'électrons et d'atome d'hydrogène. Les antioxydants réagissent avec le DPPH et neutralisent le radical. La couleur du mélange réactionnel change du violet au jaune. L'intensité de la décoloration mesure la potentialité d'activité du piégeage des antioxydants (**Vladimir-Knežević et al., 2011**). Les valeurs  $IC_{50}$  a été obtenues à partir du graphe tracé en fonction de pourcentage de l'inhibition de piégeage de DPPH et la concentration d'échantillon, cette valeur est nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. La majorité des extraits de la plante présentent des activités anti radicalaire nettement inférieure à celle du produit de référence (BHT). Les résultats sont reportés dans le tableau 06 et la figure 06.

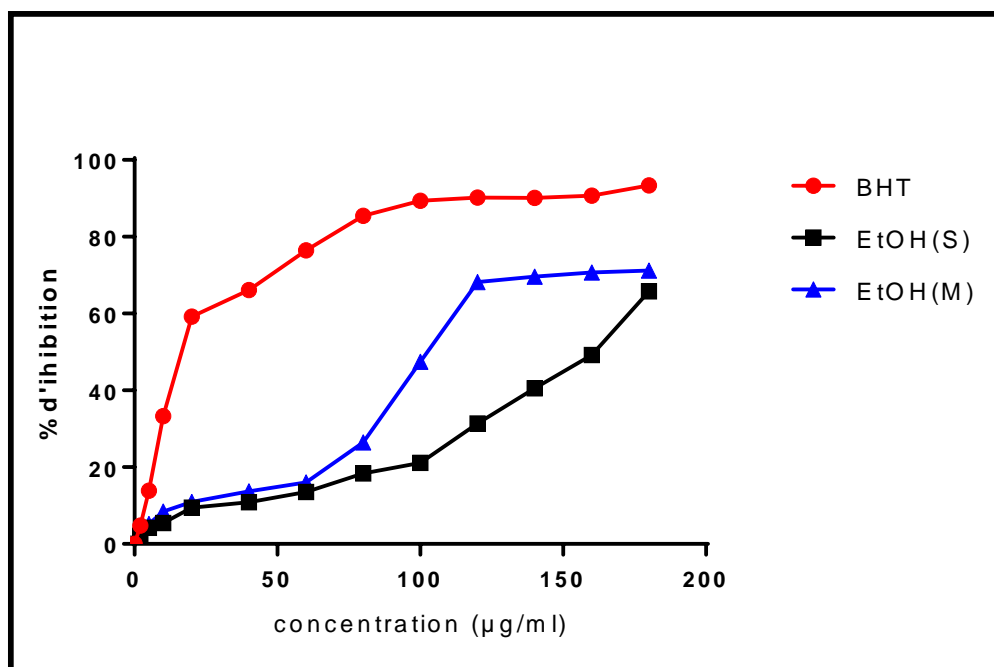


**Tableau 06** : Valeurs des IC<sub>50</sub>, des extraits *Matricaria pubescens* et du BHT

Echantillon	EtOH <sub>(S)</sub>	EtOH <sub>(M)</sub>	BHT
IC <sub>50</sub> ug/ml	99.861±2.364	106.340 ± 2.407	16.415±2.461

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD

Valeur IC<sub>50</sub>: Concentration qui inhibe 50% des radicaux DPPH et OH ;Les valeurs de probabilité  $P < 0,05$  ont été considérées comme significatives. ns : non significative(EtOH<sub>(S)</sub> et EtOH<sub>(M)</sub>), peu significative(EtOH<sub>(M)</sub> et BHT) , significative(EtOH<sub>(S)</sub> et BHT).Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SD(n = 3)



**Figure 06** : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT, EtOH<sub>(S)</sub> et EtOH<sub>(M)</sub>.

Les extraits hydro-éthanolique obtenus par les deux méthodes d'extraction (soxhlet/macération) de la partie aérienne de *Matricaria pubescens* ont une activité anti-radicalaire concentration dépendant ces extrait possèdent des effets piègeurs remarquable vis-à-vis du radical DPPH (Figure 06).

En effet les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenus avec ces extraits sont faibles de l'ordre de 99.861 et 106.340 ug/ml respectivement comparant aux BHT utilisé comme antioxydant de référence qui a un IC<sub>50</sub> de 16.415 ug/ml. L'activité des deux extraits est probablement due à la

présence des composés phénoliques qui sont connue comme des substances ayant la capacité de piéger des espèces radicalaire et les formes réactives de l'oxygène (**Hannebelle et al., 2004**).

Puisque l'extrait soxhlet est plus riche en polyphénols que l'extrait de macération, sa capacité de piéger de radical DPPH est plus élevé. **Makhloufi, (2008)**, ont trouvé que l'extrait éthanolique de *Matricaria pubescens* ont des effets piégeurs de radical DPPH de 81.45 ug/ml. D'après des études réalisée par **Bouziane et al., (2016)**, l'extrait hydro-acétonique et méthanolique de la plante possède une pouvoir d'inhibition équivalent à 43.95% et 75% respectivement.

### III.1.2. Corrélation entre les composés polyphénoliques, les flavonoïdes et les activités antioxydantes

Les corrélations ont été analysées par le test de Pearson. Plusieurs études ont rapporté sur la relation entre les composés phytochimiques et activité antioxydante. Certains auteurs ont trouvés une forte corrélation entre contenu phénolique et l'activité antioxydante (**Selles et al., 2012.; Kumar et al., 2014; Bensghaier et al., 2018**). D'autres n'ont rien trouvé (**Ghasemi et al., 2009**). Dans cette étude, les résultats de corrélation positive ont été trouvés entre les valeurs de polyphénols, les flavonoïdes et IC<sub>50</sub> de DPPH, (tableau 07).

**Tableau.07 :** Corrélation entre polyphénols, flavonoïdes, des extraits et leur activité antioxydante.

Essais	Correlation R <sup>2</sup>	
	Polyphénols	Flavonoïdes
DPPH	1	1

L'activité antioxydante des différents extraits testés pourrait être attribuée à leur richesse en molécules à haut potentiel anti-radical telles que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins. Cette hypothèse est confirmée par plusieurs auteurs qui attribuent l'activité anti-radicalaire des extraits de plantes à ces molécules. (**El Hajaji et al., 2011**).

### III.2. Activité anti inflammatoire *in vitro*

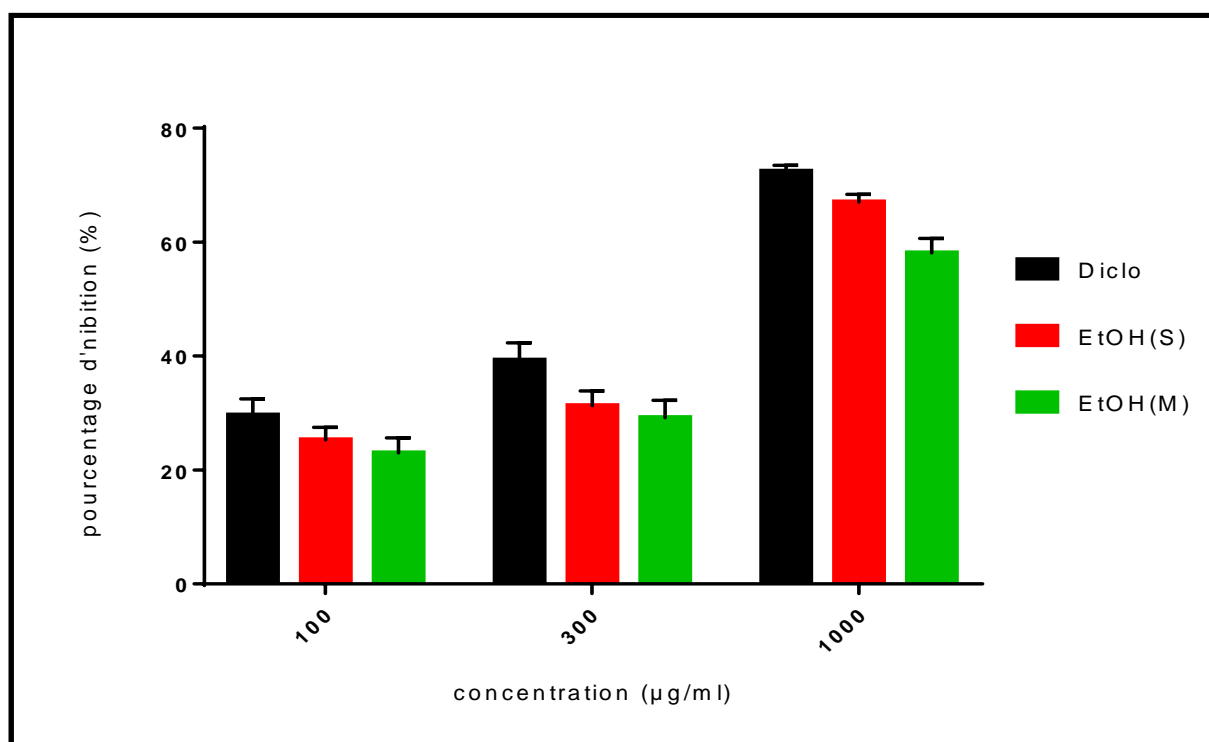
Lors de notre étude, l'action anti-inflammatoire de la plante a été évaluée *in vitro* par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf) induite par un traitement thermique. Ce test a été fait comme un essai préliminaire pour vérifier la

présence de propriétés anti-inflammatoires. Les pourcentages maximaux d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait (EtOM<sub>(S)</sub>) et EtOH<sub>(M)</sub>) et le contrôle positif (diclofénac sodique) sont présentés dans le tableau 08 et la figure 07.

**Tableau 08** : Activité anti- dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf) des extraits de *M. pubescens* et le Diclofénac sodique.

Les inhibiteurs	% d'inhibition		
	100 ug/ml	300 ug/ml	1000 ug/ml
Diclofénac sodique	29.621 ± 2.878	39.261 ± 3.038	72.435 ± 1.022
EtOM <sub>(S)</sub>	25.269 ± 2.24	31.276 ± 2.616	67.038 ± 1.36
EtOH <sub>(M)</sub>	23.005 ± 2.658	29.207 ± 3.037	58.105 ± 2.551

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD



**Figure 07** : Effet des extraits éthanolique de *Matricaria pubescens* et le diclofénac sodique sur la dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf).

Les différentes concentrations de l'extrait hydro-alcoolique (EtOH<sub>(S)</sub>) et EtOH<sub>(M)</sub>) de la plante de *Matricaria pubescens* ont données des pourcentages d'inhibition de la

dénaturation des protéines non significative ( $p < 0.05$ ) allant de : 25.26 % et 67.04 % pour EtOM<sub>(S)</sub> et 23%, 58.105 % pour EtOH<sub>(M)</sub>.

Le diclofénac a été utilisé comme standard pour comparer son activité anti inflammatoire à notre extrait, il a été trouvé un pourcentage 72.43 % proche à l'extrait a étudié.

La production d'auto-antigène dans certaines maladies arthritiques peut être due à la dénaturation protéines, à la lyse membranaire et à l'action de la protéinase (**Al Noman et al., 2016**).

L'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques de *Matricaria pubescens* peut être due à un constituant ou à l'effet synergique de plusieurs constituants phytochimiques tels que les flavonoïdes et les tanins qui y sont présents. Certains flavonoïdes possèdent une activité inhibitrice puissante contre une variété d'enzymes telles que la protéine kinase C, la protéine tyrosine kinase et la phospholipase A2 (**Parvin et al., 2015**).

L'enzyme phospholipase A2 est connue pour être responsable de la formation des médiateurs inflammatoires comme les prostaglandines et les leucotriènes qui, en attirant des leucocytes au site d'inflammation entraînerait des dommages aux tissus probablement par la libération de radicaux libres. La phospholipase A2 hydrolyse les phospholipides dans la membrane cellulaire en acide arachidonique, qui est très rapidement métabolisé par la cyclo-oxygénase en prostaglandines qui sont des composants majeurs responsables de l'inflammation de la douleur (**Shirwaikar et al., 2011; Ramadevi et al., 2014**). D'après la littérature les radicaux libres peuvent nuire aux tissus environnants, initiant une peroxydation lipidique qui entraîne la destruction de la membrane. Les tissus endommagés provoquent une réponse inflammatoire par la production de médiateurs. Les agents piègeurs des radicaux libres peuvent être bénéfiques dans le traitement des troubles inflammatoires (**Sen et al., 2010**).

La dénaturation est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application d'un stress externe ou d'un composé chimique comme un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou de la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes des maladies inflammatoires. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération électrostatique d'hydrogène et du pont disulfure (**Mishra et al., 2011**). Le diclofénac sodique (médicament anti- inflammatoire) et l'extrait hydro alcoolique ont

montré une capacité dépendant de la dose pour inhiber la dénaturation protéique induite thermiquement.

Ces résultats expérimentaux soutiennent l'utilisation traditionnelle de cette plante pour le traitement de diverses affections, en particulier contre l'inflammation.

A notre connaissance, aucun résultat sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines n'a été rapporté par d'autres auteurs sur *Matricaria pubescens* pour pouvoir comparer nos résultats, mais de nombreuses études ont signalé l'effet anti-inflammatoire et antalgiques des alcaloïdes et des huiles essentielles de *Matricaria pubescens* (**Metrouh-Amir, Amir 2018 ; Boutaghane et al ., 2011**).

# *Conclusion*

L'objectif de ce travail était d'adopter des bases scientifiques pour la validation de certaines propriétés biologiques attribuées à cette plante, choisie sur la base de son usage traditionnel.

Le mélange hydro-éthanolique s'est avéré comme solvant idéal d'extraction des composés phénoliques, grâce à sa capacité d'extraire les molécules polaires et apolaires ce qui s'est traduit par les bons rendements obtenues avec ce solvant.

L'analyse phytochimique a montré que les extraits éthanoliques sont riches en polyphénols et flavonoïdes. D'autre part, tous les extraits possèdent une activité antioxydante en piégeant les radicaux libres, et protégeant les macromolécules contre l'oxydation.

Nos différents extraits ont révélé une inhibition efficace de la dénaturation thermique de l'albumine comparant au diclofénac ils sont donc dotés d'une activité anti-inflammatoire.

La plante médicinale est une source prometteuse d'agents antioxydants et anti-inflammatoire ce qui est expliqué par la nature des composés présents dans cette plante Notre étude a montré que la plante présente une bonne activité antioxydante et anti-inflammatoire, ce qui justifie son utilisation dans la médecine complémentaire (traditionnelle).

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie pour :

- Isoler, purifier et identifier les molécules responsables des activités précédentes
- Évaluer leurs activités anti-inflammatoires *in vivo* en étudiant la toxicité.
- Étudier les mécanismes d'action sur les médiateurs inflammatoires, les enzymes impliquées dans la production des ROS et sur les systèmes antioxydants *in vivo*.

# *Bibliographie*



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Al Noman<sup>1</sup>, M. A., Zaheed, F., Hasanat, A., Arman, M .S I., Afroze, S., Hossain, M. S., Tuly, F. A., Hossain, M., Uddin, M. N., Kabir, M. S. H., (2016).** *In vitro* anti-inflammatory activity of methanol extract of *hopea odorata* (roxb.) leaves. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(6): 153-159. DOI: 10.20959/wjpr20166-6318.
- Athamena, S., Chalghem<sup>1</sup>, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S., (2010).** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* l. *Lebanese Science Journal*, 11(1) :69-81.
- Barros, I., Heleno, S.A., Carvalho, A.M., Ferreira.I.C.F.I., (2010).** Lamiaceae often used in portuguese folk medicine as a source of powerful antioxydants : Vitamins and phenolics. *Food Science and Technoligy*, 43(3) :544-550.DOI :10.1016.lwt.2009.09.024.
- Baud, O., Gressens, P., (2009).**, Voie de signalisation Sonic Hedgehog et impact des glucocorticoïdes sur le cerveau en développement. *Medecine/sciences*, 25 : 713-7.
- Békro,Y.A., Mamyrbekova-Békro,J.A., Boua,B.B., Tra,B.F.H., Ehile,E.E., (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill) *Herend*, et *Zarucchi* (Caesaliniaceae). *Science and Nature*, 4(2) :217-225.DOI : org/10.4314/scinat.v4i2.42146.
- Belaich,M., Boudjeraf, M., Benzagmout ,M ., (2015).** Impact du stress oxydatif et de l'inflammation sur les patients hémodialysés. *African journal online (AJOL)*,3(2),p: 95-103.
- Bellakhdar,J.,Claisse,R., Fleurentin,J., Younos,C., (1991).** Repertory of standard herbal drugs in the moroccan pharmacopoeia.*Journal of Ethnopharmacology*.35:123
- Benhammou ,N., Ghambaza, N., Benabdelkader ,S., Atik Benkkara ,F and Kadif Kova Lanovska,T ., (2013).** Phytochemicals antioxydant properties of extrats from the root and stems of *Anaasis Articulata*. *international onal food reaserch journal*, 20(5), 2057-2063.
- Bentab., Lasgaa, N., (2015).** Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien.de doctorat, P : 20-21.
- Ben Sghaier,M., Louhichi, T., Hakem, A., Ammari, Y., (2018).** Chemical investigation of polar extracts from *Ruta chalpensis* L. growing in Tunisia: Correlation with their antioxydant activities. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 49(4): 2971-2978.

- Bimakr, M., Abdul Rahman, R., Taip, F., Ganjloo, A., Salleh, L., Selamat, J., Hamid, A., Zaidu, I., (2011).** «Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves». *Food and Bioproducts processing*, 67–72.
- Birben, E., Sahiner ,U.M., Sackesen,C., Serpil,E., Kalayci,o. (2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*, 5, 9-19.
- Bouhlali, E.T., Sellam, K.H., Bammou, M., Alem, C.H., Filali-Zehzouti, Y., (2016).** *In vitro* Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(05):156-162. DOI:10.7324/JAPS.2016.60525.
- Boutaghane,N., Kabouche,A., Touzani,R.,Maklad,Y.A.,Al-Azzouny,A., Bruneau,C.,Kabouche,Z., (2010).**GC/MS analysis and Analgesic Effect of th Essential Oil of *Matricaria pubescens* from Algeria. *Natural product Communications*,6(2):251-252.
- Bouziane, M., Mahfoud, H.M., Dehak, K., Oussameur, N., Ksikis, C., Benzaoui, F and Houari, A., (2016),** Antioxidant and antibacterial properties of *Brocchia cinerea* (Vis.) and *Matricaria pubescens* (Desf.) ethyl acetate extracts and their fractions. *Der Pharma Chemica*, 8(17) :232-239.
- Bonnetblanc, J.M.,Chosidow ,O.,Grosshans,O., (2002).** Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Ann Dermatol Venoriol*, 12(2): 157-161.
- Causse, C., (1994).** Les secrètes de santé des antioxydants : les antioxydants faits maison. 7éd. Monaco, 16-18.
- Chahma ,A., Djebar ,M.R ., (2008).** Les espèces médicinales spontanées du saharseptentrional Algérien: distriution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revus synthèse*,(17),36-45.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P et Bhattacharya, S., (2012).** Evaluation of in vitro anti inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,178-180.
- Cherif, H. S., Ferrah, R., Bennacer, A., Tail, G., Saidi, F., (2017).** Traditional use of *Matricaria pubescens*.Schultz in two regiois of southern Algeria and contribution to study the antioxidant activity. *Indian Joutnal of traditional Knowledge*,16(4): 562-567.
- Collin, F., (2007).** Identifier les fleurs du Maroc Atlantique par leurs couleurs, 59. 6-Achill R., 1980. Botanique médicale, 4ème Ed. Paris : l'imprimerie de Rignoux, 321.

- Coulibaly, B., N'guessan ,K.R., Aka, N., Ekaza ,E., N'golo ,D.C., Trébissou,N., Ouattara, L., Bahi, C., Coulibaly ,A ., Assandé ,J.M ., Mohui ,P., Yao, H., Djaman ,A.J., Dosso, M., (2011).** Activité anti- mycobactérienne *in vitro* des extraits de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) sur les souches de *Mycobacterium ulcerans* en Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80 : 759-771.
- Cowan, M.M., (1999),** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4):564 – 582.
- Djellouli, M., Moussaoui, A., Benmehdi , H., Ziane , L., Belabbes, A., Badraoui, M., Slimani ,N., Hamidi ,N ., (2013).** Ethnopharmacological study and phytochemical screening of the threeplants (Asteraceae family) from the region of south west Algeria. *Asian Journal of Natural Applied Sciences*, 2(2), 159-165.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., (2006).** «Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds». *Food Chemistry*, 654-660 doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.028.
- Dombrowicz, D., Capron, M., (2001).** Eosinophils, allergy and parasites . *Curr Opin Immunol*, 13, 716-720.
- Duwiejua, M., Zeitlin, I.J., (1993).** Plants as source of anti-inflammatory substances. In: *Drugs from Natural Products: Pharmaceuticals and Agrochemicals*. Eds, Taylor. Francis (Royaume-Uni) : 153.
- El Hajaji.H., Lachkar. N., Alaoui. K., Cherrah. Y., Farah. A., Ennabili. A., El Bali. B., Lachkar. M., (2011).** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of *Carob* tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*, 4: 321–324.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui ,N.,Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C R Biol*, 331, 372-379.
- Fauve, R.M., Hevin, M., (1998).** Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. In: *inflammation*. Russo-Marie F, Peltier A, Polla B S. Eds, John Libbey Eurotext (France), pp : 10-19.
- Favier, A., (2003).** Le stress oxydant, interet conceptuel et experimental dans la comprehension des mecanismes des maladies et potentiel therapeutique. *L'actualité Chimique*, 11, 108-115.

- Feknous, S., Saidi, F., Mohamed Said, R., (2013).**Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L). *Nature & Technologie*, 11 : 07- 13.
- Gardès-Albert, M., Abedinzadeh, Z., Jore, D., (2003).** espèces réactives de l'oxygène:comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *le journal de la société chimique en France*(L'actualité chimique),(270), 91-96.
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., zadeh,M.A.E., (2009).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22(3): 277-281.
- Ghazghazi, H., Aouadhi ,C.H., Sebei ,H.,Hasnoui ,B., (2013).** Etude comparative de la teneur et de l'activité antioxydante des carotinoïdes de deux espèces tunisiennes: Rosa canina et Rose sepervirens. *Journal of Essenti Oil Research*, 24(5) ,76 - 85 DOI:10.1080/10412905.2013. 703509.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A., (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(4), 1220-1234.
- Guimarães, R., Barros, L., Dueñas ,M., Calhella, R.C., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Queiroz ,M.J., Ferreira , I.C. , (2013).** Infusion and decoction of wild German chamomile: bioactivity and characterization of organic acids and phenolic compounds. *Food Chemistry*, 136(2):947-954 DOI 10.1016/j.foodchem.2012.09.007.
- Hadouchie, J., T.M., Halla, N., (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- Halliwell, B., Cross-, C. E., (1994).** Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environmental health perspectives*, 102(Suppl 10), 5.
- Hammoud, L., (2009).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires *Centaurea nicaeensis* all.Var.Walliana.M (Asteracea) : étude de la phase acétate éthylel'extrait hydro alcoolique .travail réalisé en vue de l'obtention du diplôme magister en chimie organique, université Mentouri Constantine, 1.
- Harbourne, N., Jacquier, J.C., O'Riordan, D., (2009).** Optimisation of the extraction and processing conditions of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) for incorporation into a beverage. *Food Chemistry*. 115:15–19. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.044.

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1:3-6. DOI: 10.1007/s10298-004-0003-8.
- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., Reginster, J.Y., (2001).** Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Rev Med Liege*, **56**, 433-442.
- Ichai ,C.,Quintard, H.,Orban ,J.C., (2012).** *Désordres métaboliques en réanimation: de la physiopathologie au traitement* .Edition Springer, Vol.2,p.508. DOI 10.1007/s13341-011- 0146-9.
- Jones, W.P., Kinghorn,A.D., (2005).** Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker S D, Latif Z and Gray AI. *Natural products isolation*. Eds, Humana Press (Totowa): 323-411.
- Joshi, B., Sah, G.P., Basnet, B., Bhatt, M.R., Sharma, D., Subedi, K., Pandey, J., Malla, R., (2011).** Phytochemical extraction and antimicrobial properties of different medicinal plants: *Ocimum sanctum* (Tulsi), *Eugenia caryophyllata* (Clove), *Achyranthes bidentata* (Datiwan) and *Azadirachta indica* (Neem). *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3(1): 1-7.
- Kamal-Eldin,A., Pouru, A., Eliasson, CH., Aman, P., (2000).** Alkylresorcinols as antioxidants: hydrogen donation and peroxy radical-scavenging effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:353-356.
- Khacheba, I., Djeridane , A., Yousfi , M., (2014).** Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of  $\alpha$ -Amylase Activity. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*. ID 287281, 12. Doi: org/10.1155/2014/287281.
- Kouadio, N.J., Guessennd, N.K., Bakayoko, A., Trabi, H.F. Dosso, M., (2015).** Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (*Euphorbiaceae*) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(3): 1252-1262.
- Kumar, S., Sandhir,R., Ojha ,S., (2014).** Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. *BMC Research Notes* 7:560. <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/560:1-9>.
- Kumari, S., Yasmin, N., Hussain, M.R, Babuselvam, M., (2015).** In vitro anti-inflammatory and anti-arthritic property of *Rhizoporamucronata* leaves. *IJPSR*, 6:482–5.
- Laouini, S.E., Berra, D., Ouahrani, M.R., (2016).** Solvent PH extraction effect on phytochemical composition and antioxidant properties of Algerian *Matricaria pubescens*. *Journal of pharmacy reaserch*, 10(2):106-112.ISSN: 0972-6943.

- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition : Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes 192 p. (Collection Biologie) ISBN : 2 88074 625 6 47 /b.
- Maiza, K., Hammiche, V., Maiza-Benabdesselam, F., (2011).** Traditional medicine in North Sahara *the Deffi. Life Sciences Leaf lets.* **16**:551-560.
- Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M. A., Ansaroudi, F., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., (2009).** Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24) :7170-7175. DOI : 10.5897/AJB09.753.
- Makhloufi, A., (2008).** 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 doctorat. Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments, Faculté des sciences.université Aboubakeur belkaid.Tlemsen, Alegie.
- Mamyrbekova-Bekro, J.A., Boua, B.B., Diaby, A., Bekro, Y.A., (2012).** Screening phytochimique bio guidé et évaluation in vitro des propriétés purgatives d'*Anchomanes difformis* (Blume) Engl., une plante utilisée en Côte d' Ivoire dans le traitement folklorique de la constipation. *Nature & Technologie*, (9) :20-26.
- Mansar-Benhamza, L., Djerrou, Z., Hamdi Pacha, Y., (2013).** «Evaluation of antihyperglycemic activity and side effects of *Erythraea centaurium* (L.) Pers. in rats». *Academic Journals*, 12: 6980-6985.
- Markham, K.R., (1982).** «Techniques of flavonoid identification», Academic Press, London.
- Marston, A., Hostettmann,K., (2006).** Separation and Quantification of Flavonoids. In: Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. CRC Taylor & Francis (London): 1-32.
- Metrouh-Amir, H., Duarte, C.M., Maiza, F., (2015).** Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops and Products*, 67: 249-256. DOI: org/10.1016/j.indcrop.2015.01.049.
- Metrouh-Amir,H ., Amir,N., (2018).** Evaluation in vitro of anti-inflammatory and analgesic properties of *Matricaria punensens* alkaloids.South African Journal of Botany, 116: 168-174.
- Mishra, N.K., Bstia, S., Mishra, G., Chowdary, K.A., Patra, S., (2011).** Anti-arthritis activity of *Glycyrrhiza glabra*, *Boswellia serrata* and their synergistic activity in combined

formulation studied in Freund's adjuvant induced arthritic rats. *J Pharm Educ Res.* 2(2):92-98.

**Mohammed, D., Abdellah, M., Houcine, B., Laid, Z., Abdelghani, B., Messaouda, B., Nawel, S., Nourddine, H., (2013).** Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of southwest Algeria. ISSN: 2186-8468 Print Vol. 2 No. 2.

**Muster, D., (2005).** Médicaments de l'inflammation. Anti-inflammatory drugs. *EMC-Stomatologie I*: 21–29. DOI: 10.1016/j.emcsto.2005.01.005.

**N'gaman Kohué Christelle Chantal., Békro Yves-Alain., Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna., Bénié Anoubilé., Gooré Bi Stéphane., (2009).** Sur la Composition en Métabolites Secondaires et l'activité anti-oxydante d'extraits bruts de *Gmelina Arborea Roxb.* (Verbanaceae) de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest : Analyse par Chromatographie en Couche Mince. *European Journal of Scientific Research*, 36 (2): 161-171.

**Nayak, B.S., Raju, S.S., Rao, A.V., (2007).** Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. *Journal of Wound Care.* 16(7): 298-302.

**Niare, A., (2006).** Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *Syzygium guineense Willd (Myrtaceae)*. Thèse de doctorat en pharmacie : 43-47.

**NurulIzzati, O., NorrizahJaafar, S., Asmah, A., NurulAthirah, M. A., NurInani, R.,(2016).** *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *J Intercult Ethnopharmacol*, 5(4):343–349. DOI: 10.5455/jice.20160731025522.

**Ouédraogo, N., Lompo1, M., Sawadogo1, R.W., Tibiri1, A., Hay, A.E., Koudou, J., Dijoux, M.G., Guissou1, I.P., (2012).** Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus Erinaceus Poir (Fabaceae)*. *Phytothérapie*, 10,286-292. DOI 10.1007/s10298-012-0732-z.

**Ozenda, P., (2004).** Flore et végétation du Sahara. Paris : CNRS édition (3). 92, 438,662.

**Paris, R., Moysse, H., (1969).** «Précis de matière médicale», Paris, Masson.

**Parvin, M.S., Das, N., Jahan, N., Akhter, M.A., Nahar, L., Ekramul Islam, M., (2015).** Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* Leaves and stem bark. *BMC Research Notes*, (8) :412. DOI : 10.1186/s13104-015-1384-5.

**Quezel, P., Santa, S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. 1<sup>ère</sup> éd. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), 982 p.

- Ramadevi, M., Sivasubramanian, N., Tamil Selvan, A., Sree Giri Prasad, B., Anbazhagan, S., (2014).** Screening of *in vitro* anti-inflammatory activity of *ficus virens* bark. *JGTPS*, 5(4): 2034–2036.
- Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., Del Mar Rubio-Wilhelmi, M., Ruiz, J. M., (2011).** Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, 72(8), 723-729.
- Selles, C., Dib, M.A., Allali, H and Tabti, B., (2012).** Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of *Anacyclus pyrethrum* L., from Algeria. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(2): 408-415. Doi: org/10.13171/mjc.2.2.2012.01.11.22.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy YSR, D. B., (2010).** Free radicals, antioxidants, Diseases and phytomedicines: status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 3(1): 91-100.
- Setty, A.R and Sigal, L.H., (2005).** Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Semin Arthritis Rheum*, 34, 773-784.
- Sheikh, N., Kumar, Y., Misra, A.K., Pfoze, L., (2013).** Phytochemical screening to validate the ET hobotanical importance of root tubers of *Dioscorea species* of Meghalaya, North East India. *Journal of Medicinal Plants Studies* 1(6): 62- 69.
- Shirwaikar, A., Devi, S., Siju, E. N., (2011).** Anti-Inflammatory activity of *Thespesia populnea* fruits by Membrane Stabilization. *Int .J. Pharm Tech Res*, 3(4): 2060-2063.
- Seidel, V., (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. *Natural products isolation*. Ed, Humana Press (Totowa): 27-37.
- Stalikas, C. D., (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18): 3268-3295.
- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A., (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L .Sci, 6(4) :1111-1117.
- Tamilselvi, N., Krishnamoorthy, P., Dhamocharan, R., Sagadevan, E., (2012).** Analysis of total phenols, total tannins and screening of phytocomponents in *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) Vahl EX DC. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 4(6): 3259-3262.



**Yap, C.F., Ho, C.W., Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y., Leong, Y.S., (2009).** Optimization of extraction condition of total phenolic compounds from star fruit (*Averrhoacarambola*L) residues. *Sains Malaysiana*, 38 (4): 511-520.

**Yizhong, C., Qiong, L., Mei, S., Harold, C., (2003).** Antioxidant activity and phenolic compound of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*. 74:2160-2161.

**Vladimir-Knežević, S., lažeković, B.B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kószegi, T., Petrik J., (2011).** Antioxidant Activities and Polyphenolic Contents of Three Selected Micromeria Species from Croatia. *Molecules* 16:1454-1470. Doi: 10.3390/molecules16021454.

**Wiert, C., (2006).** Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific. Eds, Humana Press (Totowa): 1-20.

**Weill, B., Batteux, F (2003).** Immunopathologie et réaction inflammatoires. 1re Édition, De Boeck et Larcier ISBN : 2- 8041- 4177-2 Université Bruxelles : 12-23.

# *Annexes*

## **Annexe 01 : Matérielles et Verrerie utilisées**

### **❖ Matérielles utilisées :**

- Balance de précision
- Balance de paille
- Chauffe ballon 1L
- Cryostat
- Cuve CCM
- Bain marie
- Etuve.
- Lampe UV
- Micropipettes 100 $\mu$ l, 1000 $\mu$ l
- Plaque chauffante
- Rotavapor (Buchi461)
- Soxhlet
- Spectrophotomètre UV-1601
- Vortex

### **❖ Verreries utilisées :**

- Ballon à fond rend 1L
- Béchers : 50 ml, 100 ml, 500 ml
- Boites de pétri en verre.
- Cartouches

- Epprouvettes 5 ml, 10 ml, 100 ml ,1000 ml
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml, 1000 ml
- Pincettes
- Pipettes Pasteurs
- Spatule inox
- Tubes à essai en verre 5ml, 25ml
- Verres de montre

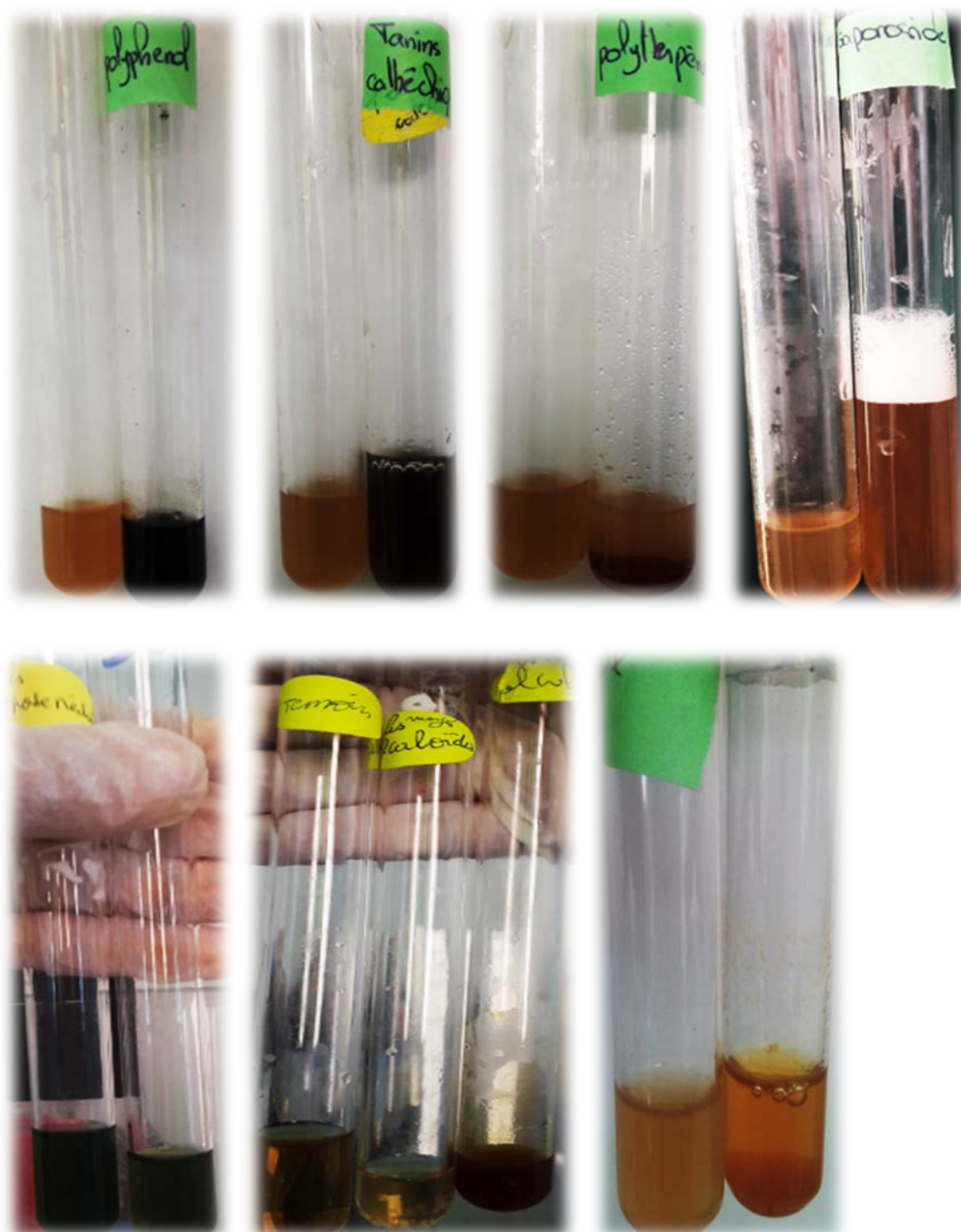
## **Annexe 02 : Appareil d'extraction**



**Dispositif Soxhlet**

## Annexe 03 : Tests préliminaires

### ❖ Screening phytochimique :



## المخلص

تعتمد دراستنا على تقييم الأنشطة البيولوجية للجزء الهوائي للقرطوفة (الوزوزة) وهي عشب يستخدم في الطب التقليدي في منطقة واد سوف. تم الاستخلاص بطريقتين مختلفتين طريقة النقع، وطريقة soxhlet باستعمال الإيثانول. وقد كشفت الاختبارات phytochimique وجود المكونات النشطة، وخاصة البوليفينول و flavonoïdes. يتم تحديد جرعة من اجمالي البوليفينول ومركبات الفلافونويد عن طريق Folin-Ciocalteu وكلوريدات الالومينيوم (AlCl<sub>3</sub>) على التوالي. تشير النتائج التي تم الحصول عليها الى ان مستخلص soxhlet يحتوي على اعلى محتوى 59.25 ± 0.27 ميكروغرام من حمض غالليك / ملغم من المستخلص و 12.106 ± 1.07 ميكروغرام / quercétine / ملغم من المستخلص، في حين المحتوى المنخفض موجود بواسطة مستخلص macération 41.365 ± 1.01 ميكروغرام من حمض غالليك / ميليغرام من المستخلص و 5.380 ± 0.085 ميكروغرام quercétine / ملغم من المستخلص. تم تقييم النشاط المضادة للأكسدة باستعمال طريقة الجذور الحرة (DPPH) النشاط القوي لمستخلص soxhlet الذي هو أصغر من BHT مع (IC<sub>50</sub>) 16.415 ± 2.461 و 99.861 ± 2.364. على التوالي مقارنة مع مستخلص macération مع (IC<sub>50</sub>) 106.340 ± 2.407. اكتشاف النشاط المضاد للالتهابات في المختبر عن طريق اختبار تثبيط تمسخ البروتين. أظهرت المستخلصات نشاط كايح بالمقارنة مع ديكلوفيناك الصوديوم 67.038 ± 1.36، 58.038 ± 2.551 و 72.435 ± 1.022 على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** *Matricaria pubescens*، دراسة phytochimique، تقدير مادة polyphénols و flavonoïdes، الأنشطة البيولوجية.

## Résumé

Notre étude est basée sur l'évaluation de l'activité biologique de la partie aérienne de *Matricaria pubescens*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de la région Oued souf. Deux méthode d'extraction le soxhlet et la macération éthanolique. Les tests phytochimiques ont révélés la présence de principes actifs, en particulier les polyphénols et les flavonoïdes. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes est réalisé par la méthode de Folin Ciocalteu et les chlorures d'aluminium AlCl<sub>3</sub> respectivement. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de soxhlet présente la plus grande teneur de 59.25 ± 0.27 ug équivalent d'acide gallique /mg d'extrait et 12.106 ± 1.07 ug équivalent quercétine /mg d'extrait. Tandis que le faible teneur présent par la macération 41.365 ± 1.01 ug équivalent d'acide gallique/mg d'extrait et 5.380 ± 0.085 ug équivalent quercétine/mg d'extrait. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode de piégeage des radicaux libre (DPPH) a montré une forte activité anti-radicalaire par soxhlet qui est inférieur à celle du BHT avec IC<sub>50</sub> de 99.861 ± 2.364 Est 16.415 ± 2.461 respectivement par rapport à la macération avec IC<sub>50</sub> 106.340 ± 2.407. L'activité anti-inflammatoire des extraits a été explorée *in vitro* par le test d'inhibition de dénaturation des protéines les extraits a montré une activité inhibitrice semblable au diclofénac sodique avec un pourcentage d'inhibition 67.038 ± 1.36, 58.038 ± 2.551 et 72.435 ± 1.022 Respectivement.

**Mots clés :** *Matricaria pubescens*, étude phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, activité biologique.

## Abstract

Our study is based on the evaluation of the biological activities of the aerial part of *Matricaria pubescens*, a medicinal plant of the traditional pharmacopoeia of Oued souf region. Two method of extracting soxhlet and maceration ethanolic. Phytochemical tests have revealed the presence of active ingredients, especially polyphenols and flavonoids. Total polyphenols and flavonoids are determined by the Folin Ciocalteu method and AlCl<sub>3</sub> aluminum trichlorides, respectively. The results obtained indicate that the soxhlet extract has the highest content of 59.25 ± 0.27 gallic acid equivalent / mg of extract and 12.106 ± 1.07 equivalent quercetin / mg of extract. While the low content present by the maceration 41.365 ± 1.01ug equivalent of gallic acid / mg of extract and 5.380 ± 0.085 ug equivalent quercetin / mg of extract. The evaluation of the anti-free radical activities by the free radical scavenging method (DPPH) has shown a strong anti-free radical activity by soxhlet, which is lower than that of the BHT with IC<sub>50</sub> of 99.861 ± 2.364 And 16.415 ± 2.461 respectively compared to the maceration with IC<sub>50</sub> 106.340 ± 2.407. The anti-inflammatory activity of the extracts was explored *in vitro* by the protein denaturation inhibition test the extracts showed a inhibitory activity similar to sodium diclofenac with a percentage inhibition 67.038 ± 1.36, 58.038 ± 2.551 And 72.435 ± 1.022 Respectively.

**Key words:** *Matricaria pubescens*, phytochemical study, determination of polyphenols and flavonoïds, biological activities.