



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة
كلية العلوم الطبيعية والحياة

Département : Biologie Animale.

قسم : بيولوجيا الحيوان.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

Etude phytochimique et activités biologiques des produits naturels

Présenté et soutenu par :

Le :04/09/2019

- *Bensalem Maissa*
- *Boursas Dounia*
- *Cherfia Hiba*

Jury d'évaluation :

- Président du jury : Mr .MENAD Ahmed (Pr -UFM Constantine).
- Rapporteur : Mr. KANDOULI Choueib (MCB- UFM Constantine).
- Examineurs : Mr. BENREBAI Mouad (MCA- UFM Constantine).
Mr. DEROUCHE Taha (Dr Constantine3).

*Année universitaire
2018- 2019*

Remerciement

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « *Dieu le tout Puissant* » le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la force, la patience, la volonté, la santé et le courage pour achever ce mémoire.

Nos sincères remerciements vont également à nos encadreurs:

Monsieur *Kandouli Chouaib* ;Maître de Conférence ,que nous remercions pour sa disponibilité et son aide tout au long de cette modeste recherche ainsi que pour ses encouragements et ses conseils judicieux.Qu'il trouve ici toute notre gratitude.

Un grand et respectueux remerciement va à **Prof. MENAD Ahmed** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Merci aux membres du jury **Dr. BENREBAI Mouad** et **Dr. DEROUCHE Taha** pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand et respectueux remerciement va à **M. Nabil, à M.Houssine et à Mme Madiha** membre du laboratoire de biochimie, pour avoir accepté de superviser ce travail; mais aussi pour la confiance qu'elle nous a témoignée. Qu'elle reçoive l'expression de notre vive gratitude.

Nous souhaitons remercier également **Dr Bensuici Chawki, Ouffroukh Karima ,Boutemena Ismaël et M.Mahdi** pour nous avoir accueilli au sein de son laboratoire, et d'avoir accepté l'invitation au centre de recherche en biotechnologie.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants de l'université des Frères Mentouri, Constantine 01, spécialité toxicologie, qui ont contribué à notre formation.

Notre respect et reconnaissance sont adressés à Mme Bioud Kenza et Zaoui Heyem pour leurs précieux conseils et leurs aides. Qu'elle trouve ici tout notre gratitude.

Nous ne saurions terminer sans remercier M.Siafa ayoub, pour leur sympathie, leur patience, leurs encouragements, et leurs soutiens multiformes.

Nous tenons à remercier de tout cœur, nos parents, nos frères et nos sœurs tous les membres de nos familles, pour leur amour et encouragement.

En définitive, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail, auquel nous nous sommes tant consacrées en y mettant aussi tout notre cœur.

Dédicaces

*Je tiens, en tout premier lieu à remercier le bon Dieu
qui m'a guidé tout au long de mon chemin.*

Je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes qui me sont chères: **Mon père Ali et Ma mère Bouba,**
qui sont la lumière de mes yeux, Pour votre amour, votre affection,
votre soutien constant, et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici.
Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.*

*À mon petit ange **Adam***

*À mes chères soeurs: **Amina, Rokia et Manel***

*À Mes amies : **Assma, Bassma et Khaoukha***

*Pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de
mes études et en dehors de celles-ci.*

*À mes binômes **Hiba et Dounia***

*Avec qui j'ai partagé des moments de joie mais aussi de difficultés au cours de
la réalisation de notre travail.*

*Enfin, à tous ceux qui savent donner sans recevoir, qui aident sans retour et
sans être égoïste.*

Majissa

Dédicace

A l'aide d'**Allah**, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À mes chers parents **Mohamed** et **Salih** je leur dédie avec fierté ce travail qui reflète les fruits de l'éducation et l'attention qu'ils m'ont tant donnée, et je suis très reconnaissant et adore partager avec eux la joie de ma réussite.

À ma très Chère sœur qui m'a supportée et m'a aidée dans les pires moments,
merci **Rayane** .

À mes très Chers frères qui ont été toujours mes côtés et encouragé :

Rabeh et djaber.

À mes cousines et cousin : **Amel, Malak** et **youcef.**

À toute ma grande famille (**Cherfia et Boubertekhe**) chacun par son nom .

À mes chères amies

À mon binôme, **Maissa** et **Dounia** *Avec qui j'ai partagé des moments de joie mais aussi de difficultés au cours de la réalisation de notre travail.*

À tous ceux qui m'ont soutenu de pré ou de loin.

Hiba

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
A dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé,
et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.*

*A mes chères parents ma mère Meriem et mon père Ismail qui
m'ont Toujours aidé, soutenue, encouragé et conseillé et pour
son sacrifice.*

A mes frères : Salah Eddine et Yacine

A mes sœurs : Chaima ayat erhamane, Esraa.

A mes grands-parents.

A toute ma famille (Boursas, Naidja, Saadi) pour leur soutien .

Mes cousines

Tous mes amis

Mes collègues Maissa et Hiba

*A toutes les personnes qu'on marquer leurs présences dans ma
vie et qui m'aiment.*

Dounia

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VII
Introduction générale	1

1ère Partie : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I : La phytothérapie	3	
1	Définition	3
2	différents types de la phytothérapie	3
2.1	Aromathérapie	3
2.2	Gemmothérapie	3
2.3	Herboristerie	3
2.4	Homéopathie	4
2.5	Phytothérapie pharmaceutique	4
3	Le mode de préparation d'un produit phyto-thérapeutique	4
3.1	Décoctions	4
3.2	Infusions	4
3.3	Tisanes	5
3.4	Macérations	5
3.5	Extrait	5
3.6	Teinture	5
3.7	Poudre	6
4	Historique : La phytothérapie dans les sociétés à travers le monde	6
5	La phytothérapie en Algérie	6
6	l'ethnopharmacologie	9
7	Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie	9

II : Les Métabolites secondaires		10
1	Les polyphénols	10
1.2	Classification des polyphénols	11
1.2.1	Polyphénols simple	11
1.2.1.1	Les acides phénoliques	11
	• Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	12
	• Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique	12
1.2.1.2	Les flavonoïdes	12
1.2.1.3	Les stilbènes	15
1.2.1.4	les coumarines	15
1.2.2	Polyphénols complexes	16
1.2.2.1	Les tannins	16
	• Les tannins hydrolysables	16
	• Les tannins condensés	17
2	Les alcaloïdes	17
3	Les terpénoïdes	20
III : Intérêt thérapeutique des polyphénols		22
1	Effet antioxydant	23
	• Polyphénols et stress oxydant	24
2	Effet anticancéreux	25
	• Polyphénols et cancer	26
3	Effet antibactérien	27
	• Les antibiotiques	27
	• Résistance des antibiotiques	27
	• Polyphénols et activité antibactérienne	27
4	Effet anti-inflammatoire	29
	• Polyphénols et activité inflammatoire	29
5	Effet antidiabétique	31
	• Polyphénols et antidiabétique	31
6	Effet cardiovasculaire	33
	• Polyphénol et cardiovasculaire	33

2^{ème} Partie : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétale	36
1.1 Description botanique de la plante	36
1.2 Domaines d'utilisation du <i>Matricaria sp</i>	36
1.2.1 Médicinal	36
1.2.2 Alimentation	36
2 Préparation des Extraits	36
2.1 Extrait aqueux lyophilisé	36
2.2 Extraction par les solvants	37
3 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes	39
3.1 Dosage des polyphénols totaux	39
3.2 Dosage des flavonoïdes	40
3.3 Analyse des composés phénoliques par HPLC-DAD	40
4 Evaluation des capacités antioxydantes	41
4.1 Test du DPPH	42
4.2 Test de l'ABTS	43
4.3 Test du GOR	44
4.4 Test de piégeage des radicaux hydroxyles	44
4.5 Capacité antioxydante totale (TAC)	45
4.6 Reducing power	45
4.7 Capacité antioxydante cuivrique réductrice (CUPRAC)	46
4.8 Test Métal Chelating (MCC)	47
5 Test d'inhibition de l'alpha-amylase	47
6 Analyse des données	48

3^{ème} Partie : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyses TPC, TFC et HPLC	49
1.1 Analyse TPC	49
1.2 Analyses TFC	50
1.3 Analyses HPLC-DAD	51
2. Les propriétés antioxydant <i>in vitro</i>	55

2.1	Test du DPPH	55
2.2	Piégeage de L'ABTS ^{•+}	57
2.3	Galvinoxyl radical (GOR)	59
2.4	Activité de piégeage des radicaux hydroxyles	61
2.5	Capacité antioxydante totale (TAC)	64
2.6	Test reducing power	66
2.7	Capacité antioxydante cuivrique réductrice (CUPRAC)	67
2.8	Capacité Métal Chelating (MCC)	68
3	Test d'inhibition de l'alpha-amylase	70

Conclusion générale	74
----------------------------	----

Références bibliographiques	76
------------------------------------	----

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

ActOH	Fractions acétate d'éthyle
µl	Microlitre
Ab	Absorbance
ABTS	2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
ADN	L'acide désoxyribonucléique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
ANOVA	Analyse de la variance
AQL	L'extrait aqueux lyophilisé
AqR	Fraction aqueuse résiduelle
ARN	L'acide ribonucléique
BHA	Hydroxyanisole butylé
BT-20	Les cellules du cancer du sein humain
CAE	équivalents d'acide caféique
CH₃COONH₄	Acétate d'ammonium
COX	Cyclooxygénase
CRP	Protéine C réactive
CuCl₂	Le chlorure de cuivre
CUPRAC	La capacité antioxydante par réduction de cuivre
DMAPP	Dimethyl allyldiphosphate
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EGCG	Le gallate d'épigallocatechine
eNOS	NO synthase endothéliale

EP	éther de pétrole
ET	Transfert d'électron
ETDA	Ethylénediaminet tétraacétique
FeCl₃	Chlorure de fer
FeSO₄	Sulfate de fer
GAD	Anti-glutamate décarboxylase
GAE	équivalent d'acide gallique
GIP	Polypeptide insulino-trope dépendant du glucose
GOR	Galvinoxyl radical
GPx	Glutation peroxydase
GSH	Glutathion réduit
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
H₂O	Eau
HAT	Transfert d'hydrogène
HCl	L'acide chlorhydrique
HDL	Lipoprotéines de haute densité
HE	Huile essentielle
He La	Humain épithélial carcinoma cell lines
HO[•]	Hydroxyle radicale
HPLC-DAD	Chromatographie liquide haute performance-Diode-array detector
HT-29	Cellules cancéreuses du côlon
I%	Inhibition percentage
IA₁ et IA₂	Anti-tyrosinephosphatase
IC₅₀	La concentration inhibitrice médiane
ICAM	Molécule d'adhérence intracellulaire-1

IKI	Iodine l'iodure de potassium
IPP	Isopentényldiphosphate
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
Kb	Cellules cancéreuses du larynx
LDL	Lipoprotéines de faible densité
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MCC	Metal chelating capacity
MCF	Michiganc cancer foundation -7 (Breaste cancer cells lines)
MDA	Malonaldéhyde
MeOH	Fraction méthanolique
MS	Matière sèche
<i>n</i>-BuOH	Fraction <i>n</i> -butanolique
NOSi	NO synthase inductible
OMS	Organisation Mondiale de Santé
ONOO⁻	Ion peroxytrite
PG	prostaglandines
pH	Potentiel Hydrogène
Phe	Phenylalaline
PKC	Protéine kinase C
QE	équivalent de quercetine
R³	Coefficient de corrélation de pearson
ROO[•]	Radicale peroxy
RUE	équivalents rutine
SOD	Superoxyde dismutase
TAC	Capacité antioxydant totale

TBA	Acide Thiobarbutirique
TCA	Acide trichloracétique
TFC	Total flavonoïde content
TNF-α	Tumor necrosis factor- α
TPC	Total Phénolique Content
TR	Temps de rétention
TXA2 et TXB2	Thromboxanes
Tyr	Tyrosine
UV	Ultra-Violet
VCAM	Molécule d'adhérence cellulaire vasculaire

LISTES DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1	Structure du noyau phénol	11
Figure 2	Structure générale des flavonoïdes	13
Figure 3	Structures chimique des stilbènes	15
Figure 4	Structure générale de base de coumarine	16
Figure 5	Structure de base des tanins hydrolysables	16
Figure 6	Structure des tanins condensés	17
Figure 7	Structure chimique des alcaloïdes	18
Figure 8	Effets biologiques des polyphénols	22
Figure 9	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	24
Figure 10	Schéma du protocole d'extraction de <i>Matricaria sp</i>	38
Figure 11	Les différents extraits de <i>Matricaria sp</i>	39
Figure 12	l'appareil de HPLC	41
Figure 13	Réaction de réduction du radical DPPH	42
Figure 14	Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme réduite ABTS, forme radical cation ABTS	43
Figure 15	Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc	46
Figure 16	Chromatogrammes HPLC-DAD des composés phénoliques de <i>Matricaria sp</i> détectés à 280 nm dans divers extraits	54
Figure 17	Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire(DPPH)	55
Figure 18	l'activité de piégeage des radicaux DPPH du <i>Matricaria sp</i>	56
Figure 19	profil microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS)	57
Figure 20	L'activité de piégeage des radicaux ABTS du <i>Matricaria sp</i>	59
Figure 21	profil de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (GOR)	60
Figure 22	L'activité de piégeage des radicaux Galvinoxyl de <i>Matricaria sp</i>	61
Figure 23	Profil de test piégeage HO·	62
Figure 24 A	L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles des extraits hydrosolubles de <i>Matricaria sp</i> dans des conditions radiomimétiques	63

Figure 24 B	L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles des extraits hydrosolubles de <i>Matricaria sp</i> dans des conditions spécifique au site	63
Figure 25	profil de test de la capacité (TAC)	64
Figure 26	La capacité antioxydant totale de différents extraits de <i>Matricaria sp</i>	65
Figure 27	Le pouvoir réducteur des différents extraits de <i>Matricaria sp</i> en fonction de leurs concentrations	67
Figure 28	profil de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (CUPRAC)	68
Figure 29	l'activité antioxydante de différents extraits de <i>Matricaria sp</i> en utilisant la méthode CUPRAC	69
Figure 30	le pouvoir chélateur des différents extraits de <i>Matricaria sp</i>	70
Figure 31	Profil de microplaque de L'activité inhibitrice de l' α - amylase	72
Figure 32	L'activité inhibitrice de l' α - amylase des différents extraits de <i>Matricaria sp</i>	74

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire Dans le monde	8
Tableau 2	Exemples de dérives de l'acide benzoïque identifiés chez des plantes halophytes	12
Tableau 3	Exemples de dérives de l'acide hydroxycinnamique rencontrés chez des plantes halophytes	12
Tableau 4	Principales classes des flavonoïdes	14
Tableau 5	Principales classes d'alcaloïdes	19
Tableau 6	Classification des terpénoïdes	21
Tableau 7	Teneur totale en phénol (PTC), teneur totale en flavonoïdes (TFC) et concentrations de composés phénoliques ^a dans les extraits <i>Matricaria sp</i> détectés par HPLC-DAD	52

INTRODUCTION

Les plantes ont toujours été utilisées par les humains pour soulager et guérir de nombreuses maladies (**Ramawat *et al.*, 2008**). Selon l'OMS 80% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner. La valeur médicinale des plantes est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue un argument de taille pour leur utilisation en médecine (**Segnou *et al.*, 1992; Aighewi *et al.*, 1998**). De nombreux agents pharmaceutiques ont été découverts en criblant des produits naturels à partir de plantes (**Saslis-Lagoudakis *et al.*, 2012**).

En Algérie, la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Les plantes jouent un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes. Mais peu d'études ont été effectuées sur les plantes endémiques au Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, possédant dans sa partie nord, le Sahara septentrional, une végétation diffuse et clairsemée (**Ozenda, 1991**).

En effet, la communauté scientifique a mené plusieurs travaux scientifiques pour étudier les plantes médicinales en recherchant les molécules actives dotées d'activités biologiques. Les différentes bases des données scientifiques en témoignent des centaines milliers d'articles scientifiques portants sur l'étude des plantes aromatiques et médicinales y sont répertoriées.

Les propriétés thérapeutiques des plantes sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : Les métabolites secondaires (**Akrout *et al.*, 2001**). Ces composés possèdent des activités biologiques diverses, notamment l'activité antioxydante envers les radicaux libres, l'activité anti-inflammatoire, antidiabétique et anticancéreuse... (**Bidie *et al.*, 2011**).

Les propriétés antioxydantes des extraits végétaux sont massivement étudiées. Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les oxydants et les

antioxydants en faveur des premiers (**Powers et al., 2010**). Ce phénomène est considéré comme un réel problème de santé qui est très fréquent dans notre vie moderne. De nombreuses maladies, les plus répandues de l'ère contemporaine, tels que l'hypertension, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les pathologies neurodégénératives, les cancers, ont été expliqués en partie comme l'une des conséquences du stress oxydatif (**Pisoschi et al., 2015**).

Plusieurs aspects sont traités par les chercheurs dans leurs études. Parmi ces aspects, la recherche des molécules antioxydantes a connu un essor spectaculaire ces deux dernières décennies. Très nombreux sont les brevets et les articles portant sur la recherche des antioxydants dans les plantes médicinales. Ceci dans le but de remplacer les antioxydants de synthèse qui se sont avérés dangereux pour la santé humaine (**Hazma, 2010**).

La plupart des plantes sahariennes se sont révélées efficaces dans le traitement de nombreuses maladies telles que le diabète et même certaines maladies associées au stress oxydatif. Dans ce contexte, nous nous intéressons à la valorisation de la flore saharienne, par des études phytochimiques et l'évaluation de l'activité biologique de *Matricaria sp* appartenant à la famille Asteraceae.

Le présent travail s'insère dans le cadre du programme destiné à la valorisation de la flore algérienne par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs. Cette mémoire est subdivisée en deux grandes parties, l'une bibliographique et l'autre expérimentale. La synthèse bibliographique comporte la phytothérapie, les métabolites secondaires et l'intérêt thérapeutique de polyphénols. Après la mise en place des procédures d'extraction de *Matricaria sp* et la partie expérimentale a permis la réalisation des études suivantes :

- Un fractionnement des composés phénoliques par entraînement avec différents solvants organiques.
- La quantification des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les différents extraits.
- La détermination de la composition chimique des extraits méthanoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC-DAD).
- L'identification et la caractérisation de la capacité antioxydante de différentes fractions en utilisant plusieurs méthodes différentes DPPH, ABTS, GOR, activité de piégeage des radicaux hydroxyles, capacité antioxydante total (TAC), reducing power, CUPRAC, MCC et L'évaluation pour la première fois, *in vitro*, l'activités inhibitrice de l' α -amylase des différents extraits de *Matricaria sp*.

I. La phytothérapie

1. Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Wichtl M ; Anton R, 2003**), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine. Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui, quant à elle, désigne l'ensemble des substances utilisées pour traiter les plantes, à savoir les pesticides, fongicides, herbicides, ou encore insecticides.

2. Différents types de la Phytothérapie

2.1. Aromathérapie

Aromathérapie est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

2.2. Gemmothérapie

Gemmothérapies fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.

2.3. Herboristerie

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

2.4. Homéopathie

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

2.5. Phytothérapie pharmaceutique

La phytothérapie pharmaceutique utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (**Strang C, 2006**).

3. Le mode de préparation d'un produit phyto-thérapeutique

3.1. Décoctions

Il s'agit d'une méthode d'extraction utilisant un solvant maintenu à sa température d'ébullition. Elle est utilisée pour des drogues très compactes qui cèdent difficilement leurs principes actifs (**J.M Aiache et al., 2001**).

On peut préparer une décoction de la façon suivante : placer la matière végétale dans de l'eau froide, puis porter à ébullition, maintenir cette ébullition à feu doux pendant environ quinze minutes ou plus (jusqu'à une heure), puis laisser reposer quinze minutes. L'extrait aqueux sera alors décanté ou filtré (**Abayomi, 1996**).

Du fait d'une action prolongée de la chaleur, ceci implique des principes actifs résistants à la chaleur, une extraction des substances inutiles et la perte des produits volatils. Le produit obtenu est appelé décocté (**J.M Aiache et al., 2001**).

3.2. Infusions

Cette méthode d'extraction utilise un solvant bouillant, en général l'eau, versé sur la substance, le tout est ensuite laissé à refroidir pendant un temps variable de dix à vingt minutes. Il s'agit d'un procédé simple et rapide qui permet une bonne extraction des principes actifs qui ne seront pas altérés par la chaleur, car la température qui atteint cent degrés Celsius au début baisse rapidement. On obtient un infusé, c'est un procédé semblable à la préparation d'un thé (**J.M Aiache et al., 2001**).

3.3. Tisanes

Les tisanes sont des préparations aqueuses de plantes médicinales entières ou de parties de celles-ci, divisées afin de permettre la pénétration de l'eau. Elles sont administrées à des fins thérapeutiques ou peuvent servir de boisson aux malades ou encore de véhicule pour l'administration de divers médicaments (J.M Aiache *et al.*, 2001).

3.4. Macérations

Lors d'une macération, il faut mettre en contact la drogue pulvérisée et le solvant pendant un temps déterminé et à température ambiante. Ce procédé est particulièrement intéressant pour les principes actifs très solubles à froid, thermolabiles ou lorsque certaines substances inintéressantes, par exemple inactives ou amères, sont entraînées par une extraction à chaud. Il s'agit d'un procédé lent qui peut être amélioré par un système d'agitation. On obtient un macéré (J.M Aiache *et al.*., 2001).

On peut préparer une macération en plaçant la matière végétale en contact avec le liquide d'extraction dans un récipient fermé, en le laissant reposer pendant plusieurs jours (en général sept), et en l'agitant de temps en temps. La préparation obtenue est alors clarifiée par précipitation ou filtration (Abayomi, 1996).

3.5. Extrait

Les extraits sont obtenus en traitant la plante dans une solution vaporisable (éther, eau, alcool,...) par divers procédés d'extraction (macération, décoction, infusion) puis, en évaporant ces solutions jusqu'à obtenir une consistance fluide, molle ou sèche. On les classe donc selon leurs consistances (Lori, L. et N. Devan, 2005).

3.6. Teinture

Elle est obtenue à partir des poudres végétales sèches et son titre alcoolique varie selon le type de la drogue. Il peut être à 60° (principes actifs très solubles), à 70°, à 80° ou à 90° (ex: produits résineux et huiles volatiles) (Lori, L. et N. Devan, 2005).

3.7. Poudre

Elle est préparée par pulvérisation de la plante ou partie de la plante, sèches, suivie d'un tamisage (**Lori, L. et N. Devan, 2005**).

4. Historique : La phytothérapie dans les sociétés à travers le monde

Depuis longtemps, les plantes aromatiques et médicinales ont été utilisées pour la préparation des remèdes thérapeutiques (**Meftah, 2003**). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (2002), en Chine, 40% environ de l'ensemble des soins de la santé relèvent de la médecine traditionnelle utilisée pour traiter ou prévenir les maladies chroniques.

Au 5^{ème} siècle, Hippocrate, père de la médecine occidentale, est connu par son utilisation de ces plantes pour les traitements thérapeutiques et l'explicitation de leurs performances multiples. Ses données ont été publiées en 280 avant J.-C. dans le Corpus Hippocrate qui traite d'environ 250 "simples" (**Meftah, 2003**).

Au 8^{ème} et 9^{ème} siècle, les arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie. `Ibn Sina' ou Avicenne fut l'un des grands médecins dans son époque qui a produit la première huile essentielle pure, une huile essentielle de roses. Avicenne écrit le `Canon de la médecine' et d'autres ouvrages médicaux dans lesquels il fait une large place aux huiles essentielles (**Mohammedi, 2006**).

Les plantes, au 18^{ème} siècle, acquièrent leurs identités telles qu'on les connaît aujourd'hui, à savoir un double nom latin indiquant le genre et l'espèce. A l'époque contemporaine (19^{ème} et 20^{ème} siècle), les plantes sont analysées chimiquement et leurs activités biologiques sont démontrées (**Mohammedi, 2006**).

5. La phytothérapie en Algérie

Chaque culture a une histoire concernant l'utilisation des plantes médicinales pour traiter leurs maux. En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années. Les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie et dans le Maghreb remontent au 9^{ème} siècle où Ishâ-Ben-Amran (docteur du prince de Kairouan, de la Tunisie) a laissé de divers traités sur la médecine et les drogues simples (**Baba aissa, 2000**).

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie était publié en 1942 par Fourment et Roques. Ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées pour la plupart d'elles dans le Nord d'Algérie et seulement 6 espèces du Sahara).

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle. Elles sont largement employées dans divers domaines de la santé. Dans les années dernières, la phytothérapie est très répandue pour traiter plusieurs maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables (**Benhouhou, 2005**).

Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants (**Aouadhi, 2010**). La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins (**Aouadhi, 2010**).

Tableau 1. Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire
Dans le monde (**Eddouks et al., 2007**).

Pays ou région	Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle.
Afrique	Utilisée par 80 % de la population locale pour les soins primaires.
Australie	Utilisée par 49 % d'adultes.
Chine	Intervient pour 30 à 50 % dans les systèmes de santé. Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 95 % des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle.
Inde	Largement utilisée. 2 860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle.
Indonésie	Utilisée par 40 % de la population totale et 70 % de la population rurale.
Japon	72 % des médecins pratiquent la médecine traditionnelle.
Thaïlande	Intégrée dans 1 120 centres hospitaliers.
Vietnam	Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 30 % de la population se soignent par la médecine traditionnelle.
Pays occidentaux	La médecine traditionnelle ou complémentaire n'est pas intégrée dans les systèmes de soin moderne. * France : 75 % de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois. * Allemagne : 77 % des cliniques pratiquent l'acupuncture. *Etats-Unis : de 29 à 42 % de la population utilisent la médecine complémentaire.

6. L'ethnopharmacologie

L'ethnopharmacologie est une discipline qui s'intéresse aux médecines traditionnelles et aux remèdes constituant les pharmacopées traditionnelles. Très schématiquement, un programme d'ethnopharmacologie mis en œuvre dans une région particulière se déroule en trois temps :

- un travail de terrain destiné à recenser les savoirs thérapeutiques.
- un travail en laboratoire visant à évaluer l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels.
- un programme de développement de médicaments traditionnels préparés avec des plantes cultivées ou récoltées localement.

Les objectifs sont clairement énoncés et codifiés par des méthodologies rigoureuses : recenser partout dans le monde les savoirs traditionnels, notamment là où la tradition est orale, car la transmission de la connaissance est entravée à la fois par la perte d'intérêt du métier de guérisseur et par la non reconnaissance du métier, voire son interdiction pour exercice illégal de la médecine (**Fleurentin, 2012**).

7. Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie

Les avantages de la phytothérapie tiennent à sa relative innocuité. Car celle-ci repose sur des remèdes naturels bien acceptés par l'organisme avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse.

Aussi rappelons que la phytothérapie était le seul moyen que l'homme possédait depuis l'antiquité à fin de se soigner plusieurs types de maladies simples ou bien pour prévenir les maladies les plus complexes.

Tout cela s'ajoute au fait que son coût est faible par rapport aux traitements standardisés et qu'elle est donc plus accessible aux pays du tiers monde (**Iserin, 2001**).

Ses inconvénients sont dominés par le fait que les nombreux essais thérapeutiques entrepris pour prouver son efficacité ont peiné à le faire, soit du fait d'une méthodologie non-conforme, soit du fait de l'absence de supériorité par rapport à un placebo, alors même que de nombreuses études expérimentales, *in vitro* et *in vivo*, étaient prometteuses et convaincantes. Cette discordance tient, en partie, à la nature même du règne végétal où les principes

potentiellement actifs sont foisonnants et cohabitent dans une même plante à des concentrations souvent très faibles. Ils n'ont pas toujours un mécanisme d'action unique et peuvent interagir entre eux, expliquant qu'un principe actif pourrait être plus ou moins actif que la plante entière. La multiplicité des présentations galéniques peut également nuire à l'étude d'un effet thérapeutique (tisanes, décoctions, extraits secs ou hydro-alcooliques, distillations). Toutes les conditions sont réunies pour empêcher une vision claire et synthétique et éloigner de la rationalité pharmacologique (Schlienger, 2014).

II. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisés et accumulés en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007). Avec une structure chimique parfois complexe, ils sont très différents selon les espèces et s'accumulent le plus souvent en faible quantité. Ces molécules bioactives sont produites à différents endroits de la cellule dans des parties spécifiques de la plante en fonction du stade de développement (par exemple durant le développement de la plantule, de la fleur, du fruit, de la graine, ou de la racine). De façon générale, le rôle du métabolite secondaire est en lien avec sa localisation au sein de la plante (Pathak *et al.*, 1962 ; Zobel et Brown, 1990).

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

1. Les polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon B *et al.*, 1996 ; Bianco A, *et al.*, 2006 ; He Z, Xia W. et Chen J, 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter G, 1993). Contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin S. et Andriantsitohaina R.

2002 ; Druzyńska B, 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton J. 1999 ; Balasundram N *et al.*, 2006).

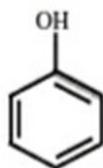


Figure 1 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado P. et Cheynier V, 2006).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Ph et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Guignard J.L, 2000 ; Bruneton J, 2008).

1.2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford M.N, 1999 ; D'Archivio M *et al.*, 2007).

1.2.1. Polyphénols simple

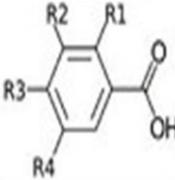
1.2.1.1. Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Ignat *et al.*, 2011). Ils sont représentés par deux sous-classes, les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques.

- **Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque**

Ils dérivent de l'acide benzoïque et ont une structure de base de type C6-C1 (**Ignat et al., 2011**). Ces acides hydroxybenzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que sous forme d'esters ou d'hétérosides (**Bruneton, 2015**).

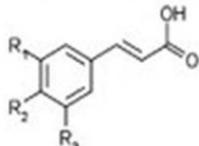
Tableau 2 : Exemples de dérivés de l'acide benzoïque identifiés chez des plantes halophytes (**Ksouri et al., 2012**).

Squelette	Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
	Acide gallique	H	OH	OH	OH

- **Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique**

Ils ont une structure de base de type C6-C3 (**Ignat et al., 2011**). Les hydroxyles phénoliques (OH) de ces dérivés peuvent aussi être méthyles (-O-CH₃).

Tableau 3 : Exemples de dérivés de l'acide hydroxycinnamique rencontrés chez des plantes halophytes (**Ksouri et al., 2012**).

Squelette de base	Composé	R ₁	R ₂	R ₃
	Acide p-coumarique	H	OH	H
	Acide férulique	OCH ₃	OH	H
	Acide caféique	OH	OH	H

1.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui

sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (**Guignard J.L, 1996**). Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classe (**Stöckigt J et al., 1996**) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**De Rijke E et al., 2006**).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (**Gabor M et al., 1988**).

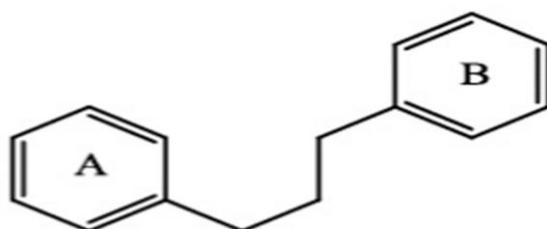
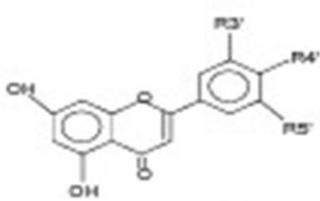
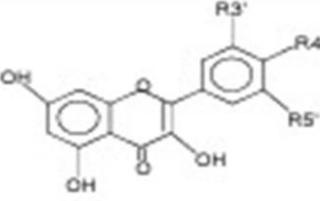
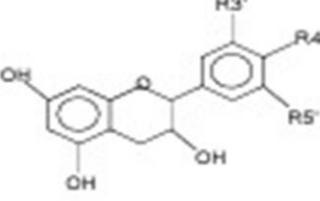
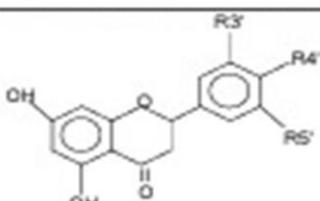
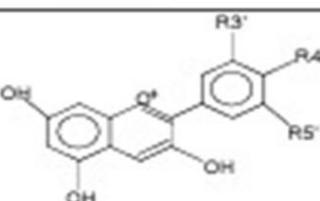
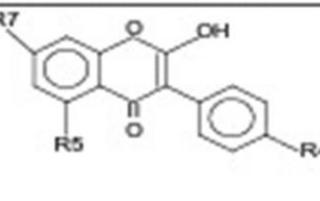


Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes (**Mamyrbékova-Békro J. A et al., 2008**).

On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent: les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan 3-oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes, les roténoïdes.

Tableau 4 : Principales classes des flavonoïdes (Narayara *et al.*,2001 ;W –Erdman *et al.*, 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

1.2.1.3. Les stilbènes

Les stilbènes présentent une structure en C6-C2-C6, avec un cycle A portant deux fonctions hydroxyles en position méta et un cycle B portant des fonctions hydroxyles ou méthoxyles en méta, ortho et para. Les deux noyaux aromatiques sont reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la délocalisation des électrons π sur la totalité de la molécule. Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine (**Belkheiri, N, 2010**). Ils sont généralement isolés des plantes sous formes hydroxylés, méthylés, estérifiés, glycosylés ou même prenylés. Leur solubilité est négligeable dans l'eau et accrue dans la plupart des solvants organique (**Jean-Denis, J. B, 2005**).

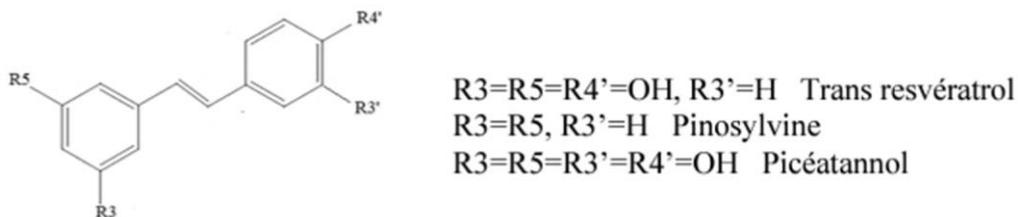


Figure 3 : Structures chimique des stilbènes (**Parage, 2013**).

1.2.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont composées obtenues par lactonisation de l'acide orthocoumarique. Ces coumarines, une fois hydroxylés sur le noyau aromatique, sont des composés phénoliques à structures variables. Elles sont généralement substituées en C7 par un hydroxyle (**Lobstein, 2010**). Ces composés possèdent une structure de base : le benzo -2- pyrone. A présent plus de 1000 composés coumariques sont isolés dont plus de 800 sont isolés à partir des plantes et des microorganismes exemple (**Sakagami et al., 2005**).

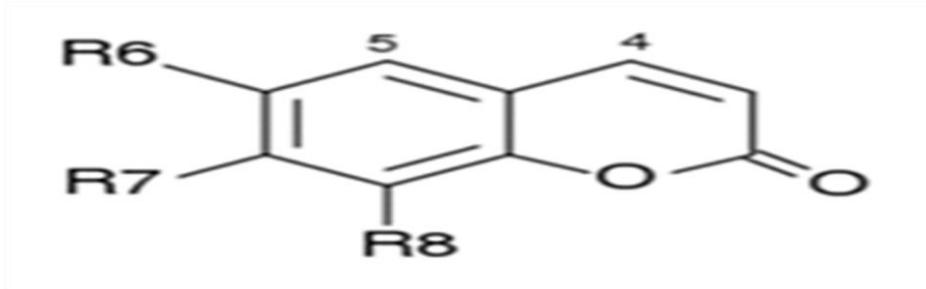


Figure 4 : Structure générale de base de coumarine (Macheix *et al.*, 2005).

1.2.2. Polyphénols complexes

1.2.2.1. Les tannins

Les tannins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ils sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2008). On distingue : les tannins hydrolysables et condensés.

- **Les tannins hydrolysables**

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycolyse, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tannins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Conrad *et al.*, 1998).

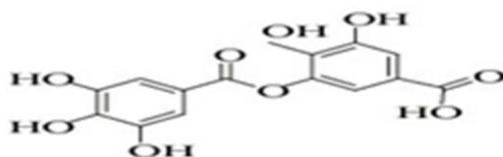


Figure 5 : Structure de base des tanins hydrolysables (Harzfeld. W .P *et al.*, 2002).

- **Les tannins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tannins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (**Wollgast, 2000 ; Dykes, 2006**).

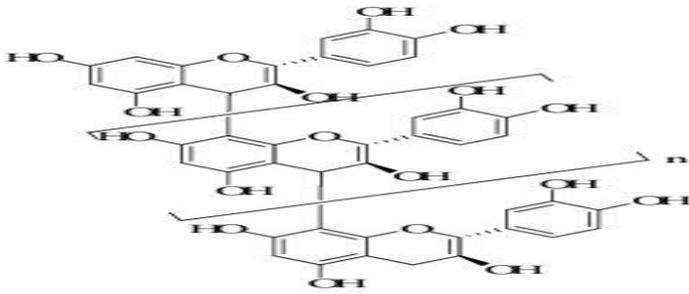


Figure 6 : Structure des tanins condensés (Cowan.M.M ,1999).

2. les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007**). Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (**Roberts & Wink, 1999 ; Stöckigt et al., 2002**). Ci-dessous se trouvent représentées les molécules d'alcaloïdes les plus courantes.

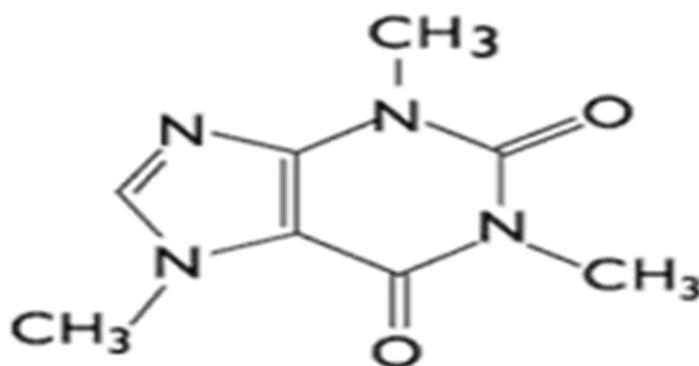


Figure 7 : Structure chimique des alcaloïdes (site web).

Les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques (Antitumoraux, Antalgiques) chez l'homme (McCalley, 2002 ; Stöckigt *et al.*, 2002).

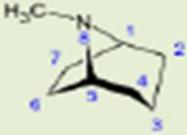
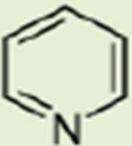
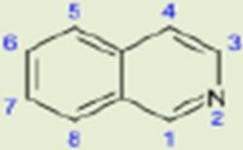
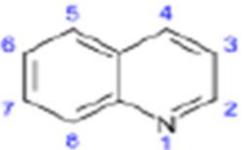
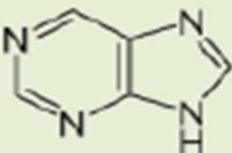
On distingue trois types d'alcaloïdes :

Alcaloïdes vrais, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.

Proto-alcaloïdes, qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.

Pseudo-alcaloïdes, présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Les alcaloïdes les plus courants : Alcaloïdes pyrrolizidiniques, les alcaloïdes tropaniques, les alcaloïdes quinoléiques.

Tableau 5 : Principales classes d'alcaloïdes (Hanson, 2003 ; Springob et Kutchan, 2009).

Classe	Principaux groupes	Exemples
Dérivés du tropane 	Atropines Substitution en positions 3, 6 ou 7	Atropine, scopolamine, hyoscyamine
	Cocaïnes Substitution en positions 2 et 3	Cocaïne, ecgonine
Dérivés de la pyridine 	Dérivés simples de la pyridine	Trigonelline
	Dérivés polycycliques de pyridine non condensé	Nicotine
Dérivés isoquinoléiniques et alcaloïdes associés 	Dérivés de 1 - et 2- benzyl-isoquinolines	Papaverine
	Protoberberines	Berberine
	Morphines	Morphine, codéine
Dérivés de la quinoléine 	Quinines	Quinines, quinidines
Dérivés de purine 		Caféine, théobromine

3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes et terpènes sont des composés aromatiques présents dans des milliers d'espèces de plantes, et sont à l'origine des différents saveurs et parfums (**Koneri et al., 2014**). Les termes terpénoïdes, terpènes sont souvent utilisés de façon interchangeable et proviennent de térébenthine (lat. balsamum terebinthinae), une huile essentielle (HE) dont les composés majeurs sont des terpénoïdes et qui est obtenue par distillation de la résine de conifères (**Phillips & Croteau, 1999**). Cependant, le mot terpène désigne au sens strict des hydrocarbures insaturés dérivant de l'isoprène (suffixe "ène") tandis que, terpénoïde est un terme plus générique utilisé pour indiquer qu'une substance possède le squelette carboné des terpènes, mais pas nécessairement leur degré d'insaturation, tout en ayant éventuellement un, ou plusieurs, groupes fonctionnels contenant de l'oxygène (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone etc...).

Tous les terpénoïdes proviennent des précurseurs simples à 5 atomes de carbone, l'isopentényldiphosphate (IPP) et son isomère le diméthyl allyldiphosphate (DMAPP) assemblés et modifiés de milliers de façons (**Dewick, 1999**).

Les terpénoïdes sont classés selon le nombre d'unités isoprène dans leur structure de base (**McGarvey & Croteau, 1995**).

Les terpénoïdes forment une partie essentielle des systèmes de défense directs et indirects contre les herbivores et les pathogènes. Les terpénoïdes peuvent agir dans la défense directe envers les bactéries, les champignons, les insectes ou les herbivores comme des toxines, des antibiotiques ou des répulsifs (**Bohlmann & Keeling, 2008**).

L'utilité des terpénoïdes a été démontrée pour la chimio-prévention et la chimiothérapie de plusieurs maladies (**artémisinine, Jennewein & Croteau, 2001 ; Rodriguez Concepcion, 2004**) et aussi pour des propriétés antimicrobiennes, antivirales, antioxydantes, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (**Paduch et al., 2007**).

On distingue différentes structures des terpénoïdes parmi lesquels se trouvent: les Hémiterpènes, les Monoterpènes, les Sesquiterpènes, les Diterpènes, les Triterpènes, les Tétraterpènes, les Polyterpènes.

Tableau 6 : Classification des terpénoïdes (Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).

N° d'unité	N° de carbone	Classes	Différents types	
2	C ₁₀	Monoterpénoïdes	Ils constituent la majeure partie des huiles essentielles	
3	C ₁₅	Sesquiterpénoïdes	Sesquiterpènes (constituants des huiles essentielles), Lactones sesquiterpéniques, Abscissines (acide abscissique)	
4	C ₂₀	Diterpénoïdes	Diterpènes résinoïdes, Diterpènes toxiques, Gibbérellines (acide gibbérellique)	
5	C ₂₅	Sesterpénoïdes		
6	C ₃₀	Triterpénoïdes	A l'état libre	Triterpènes
				Phytostérols
			Sous forme d'hétérosides	<p>Saponines:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ce sont des glycosides de triterpènes et stérols. • Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives et moussantes. • Selon la nature de leurs génines, on distingue deux groupes de saponosides, stéroïdiques et triterpéniques.
			Glycosides cardiaques	
8	C ₄₀	Tétraterpénoïdes	Caroténoïdes	
n	C _n	Polyterpénoïdes	Caoutchouc	

III. Intérêt thérapeutique des polyphénols

Les polyphénols sont connus pour leurs activités biologiques nombreuses qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain.

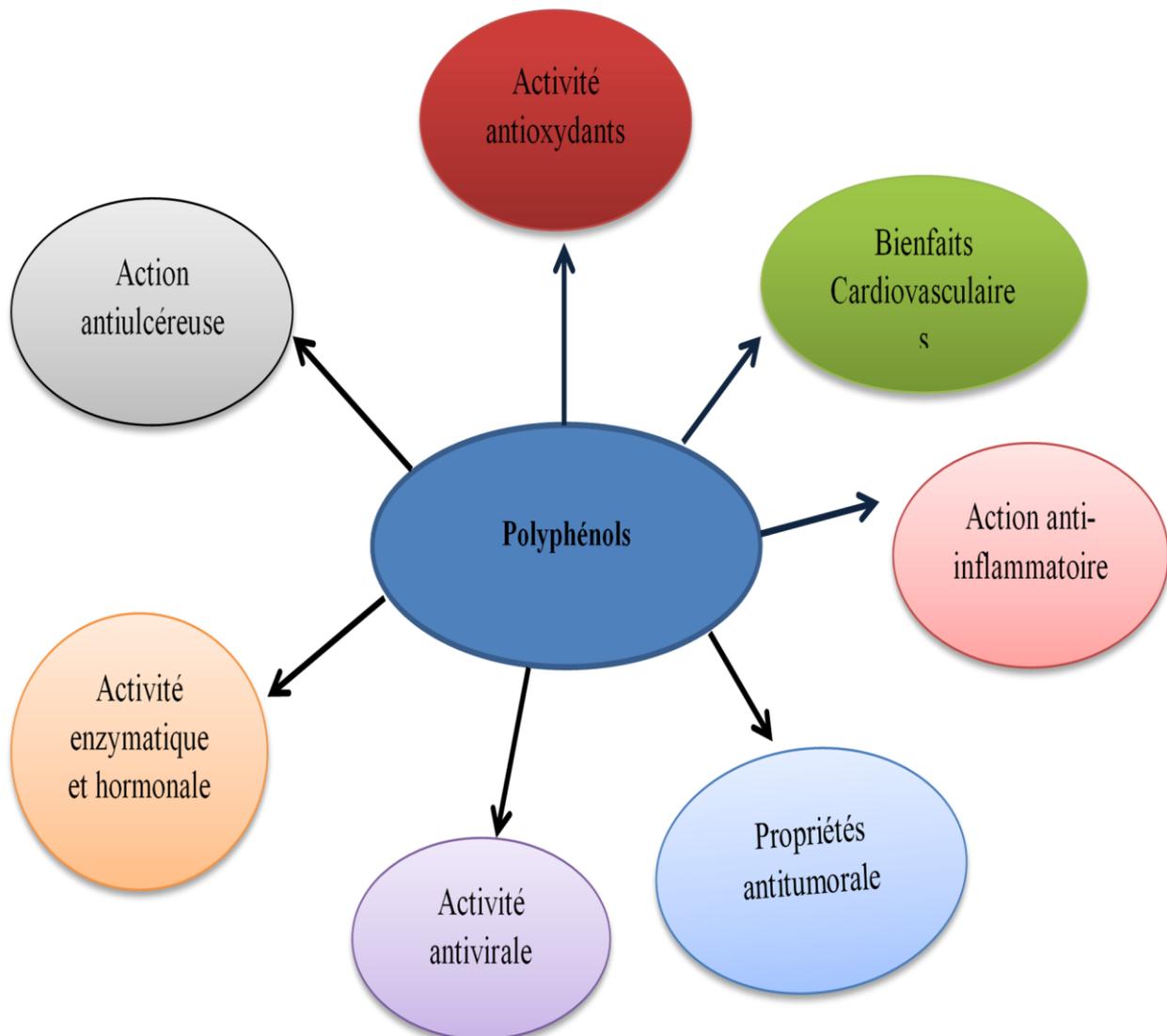


Figure 8 : Effets biologiques des polyphénols (Bahorun.T ,1997).

1. Effet antioxydant

Les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (**Suresh Kumar et al., 2008**) entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydant (**Pincemail et al., 1999**) . Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydant ou une combinaison de ces deux facteurs (**Ece et al., 2007**) . Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des radicaux libres dans notre organisme. Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des radicaux libres (**Serdar et al., 2006**). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (**Deaton et Marlin, 2003**). Mais il y'a plusieurs processus de défense contre les radicaux libres existent de manière à contrer leurs effets néfastes sur les fonctions cellulaires. La premier ligne de défense est leur captation par des système non enzymatique tels que les vitamines E et C, le glutathion réduit, les caroténoïdes, les polyphénols et plusieurs enzymes dont les plus importantes sont les enzymes superoxydé dismutases, la glutathion peroxydase, la catalase et les peroxyredoxines.

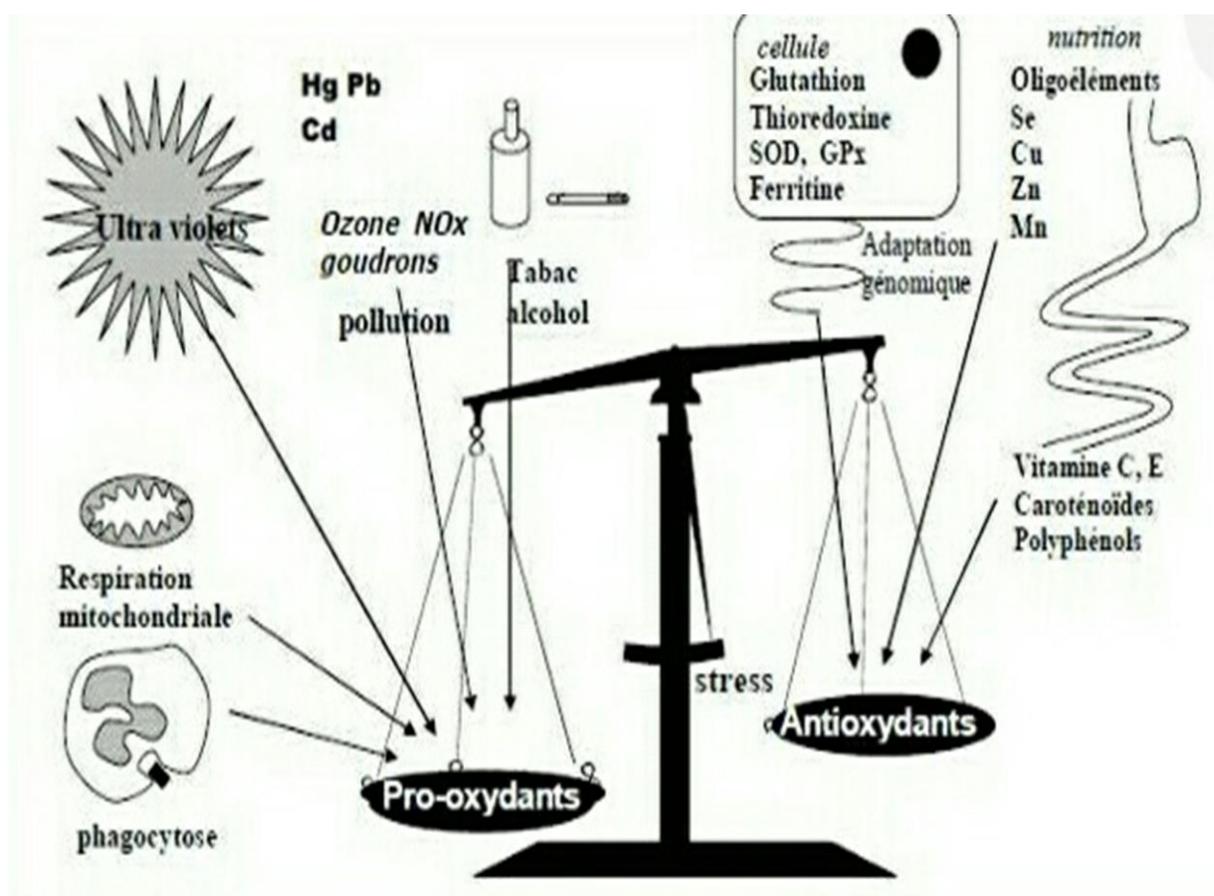


Figure 9 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et anti oxydants (Favier ,2006).

- **Polyphénols et stress oxydant**

De nos jours, les polyphénols suscitent depuis plusieurs années une attention et un engouement considérable de leurs propriétés biologiques font l'objet de nombreuses études non exhaustives (Manach *et al.*, 2004; Djeridane *et al.*, 2005). Une des raisons primordiales est la reconnaissance de leur propriété antioxydante, ainsi qu'à leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydatif (Akagawa et Suyama, 2001).

Des études sur différents composés de *Thymus vulgaris* lui permettent de posséder un pouvoir antioxydant, comme les deux phénols terpéniques ; thymol et carvacrol. Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes (Iserin., 2001). (En 2005, Lichtenthäler *et al.*,) Ont publié que la pulpe de *Euterpe oleracea* présente un fort pouvoir antioxydant lorsque celle-ci est mise en contact avec des radicaux libres, avec une action particulièrement efficace contre les radicaux peroxydes

(ROO[•]) et peroxy-nitrites (ONOO⁻). Cette étude a ensuite révélé que cette capacité est liée à la présence de métabolites secondaires issus de la famille des polyphénols.

Le pouvoir antioxydant de la *Pistacia lentiscus* est largement étudié ; **Atmani et al., (2011)** ont constaté que *P. lentiscus* présente un grand pouvoir réducteur. D'autres travaux ont été consacrés sur l'étude du piégeage du radical libre DPPH ont indiqué que les extraits de *P. lentiscus* ont une puissante activité anti radicalaire (**Krimat et al., 2014**).

Par ailleurs, Un certain nombre d'études ont examiné l'activité antioxydante d'extraits *Acacia catechu* (**Naik et al., 2003**) ont démontré que des extraits aqueux de diverses parties de la plante étaient capables d'inhiber la peroxydation lipidique induite par les radiations dans une préparation microsomale du foie de rat.

En outre, Les travaux réalisés sur des modèles vivants confirment que les feuilles de *Hippochaeris rhamnoides* sont un fort potentiel antioxydant. Par exemple, lorsque des rats sont placés en condition de stress oxydatif, la consommation de feuilles d'argousier permet de protéger les animaux face au stress en gardant un taux d'activité des défenses cellulaires (catalase, SOD, GSH) proche d'une activité normale (**Saggu S et al., 2008 ; Geetha, S et al., 2003**). Aussi l'équipe de (**Chauhan et al., 2007**) a démontré que les graines de *Hippochaeris rhamnoides* possèdent une forte activité antioxydant *in vitro*.

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante des polyphénols sont (**Halliwell B, 1994**).

- Le piégeage direct des radicaux libres.
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant.
- La chélation des traces métalliques responsables de la production des ROS.
- La protection des systèmes de défense antioxydants.

2. Effet anticancéreux

Le cancer résulte d'un déséquilibre dans les mécanismes de croissance et de multiplication cellulaire. La cellule cancéreuse se caractérise par des anomalies nucléaires avec des mitoses fréquentes et désordonnées.

La prolifération cellulaire provient précisément du déséquilibre entre les gènes suppresseurs de tumeur, qui s'opposent au cancer, et les oncogènes, qui provoquent le

cancer. Les moyens de contrôle ne sont donc plus efficaces créant une prolifération cellulaire anarchique. De nombreux facteurs peuvent intervenir dans la cancérogénèse : substances chimiques, radiations, virus, hérédité, stress, environnement, alimentation, mode de vie (Quevauvilliers, 2009).

- **Polyphénols et cancer**

Parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols, la prévention du cancer. En effet, un certain nombre de recherches menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les polyphénols pourraient être utilisés comme des agents de prévention des différentes maladies cancéreuses (Stagos, D *et al.*, 2012). De nombreuses études ont démontré que l'extrait méthanolique de feuilles de *Achillea wilhelmsii* ont des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses du côlon (HT-29) (Dalali Isfahani L *et al.*, 2013). D'autres études sur la même plante ont été révélées que l'extrait méthanolique contient des composés phénoliques, en particulier des flavonoïdes, qui inhibent la reproduction des cellules cancéreuses en induisant l'apoptose (Sharma H *et al.*, 2011 ;Azadbakht M *et al.*,2003) .

Gordanian B *et al.*, (2012) ont constaté que l'*Artemisia absinthium L* possède des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses du sein (MCF-7) et les cellules cancéreuses épithélial (HeLa), HT-29 par l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses. Par ailleurs, l'extrait d'éthanol d'*Ammi majus* sur HeL a et MCF7 a été étudié et les résultats ont montré que l'extrait de cette plante avait un effet toxique sur ces cellules (Nemati F *et al.*, 2013). Les coumarines et les psoralènes sont des composés phénoliques les plus importants de cette plante pouvant jouer un rôle anticancéreux en inhibant l'activité du cytochrome p450 et en induisant l'apoptose (Shokoohinia Y *et al.*, 2014).

En outre, les flavonoïdes de *Avicennia marina* ont un effet anticancéreux sur les cellules du cancer du sein humain (BT-20). La naphthoquinone est un flavonoïde qui a été identifié à partir de l'extrait organique de cette plante, possède un effet anticancéreux sur les cellules cancéreuses du larynx (kb) (Sharaf .M *et al.*, 2000). En plus, Une étude clinique portant sur 24 patients atteints d'un cancer du poumon a également montré une réponse positive à l'extrait de *Astra galuscytosus* (Cassileth. BR *et al.*, 2009).Des études *in vitro* ont montré que les flavonoïdes des autres espèces de cette plante peuvent diriger les cellules du carcinome vers l'apoptose (Hu YW *et al.*, 2009).

Les mécanismes de régulation des polyphénols sur les lignées cancéreuses peuvent alors être scindés en sept actions distinctes : Prévention de l'activation métabolique de carcinogènes ; Anti prolifération ; Modification ou arrêt du cycle cellulaire ; Induction de l'apoptose ; Promotion de la différenciation cellulaire ; Inhibition des mécanismes d'angiogenèse ; Modulation de la résistance multi-drogue (**Ren. W et al., 2003**).

3. Effet antibactérien

- **les antibiotiques**

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995**).

- **Résistance des antibiotiques**

La résistance d'un germe peut exister, si le germe appartient à la même espèce (résistance naturelle) alors la résistance acquise n'intéresse que certaines souches. La résistance acquise d'une espèce bactérienne à un antibiotique se développe au fur et à mesure que l'antibiotique est administré. Elle se traduit par une augmentation de la concentration minimale inhibitrice (**Berche et al., 1989 ; Hamza, 1993 ; Fatorrusso et al., 2001**).

- **Polyphénols et activités antibactérien**

Le mode d'action antimicrobien de l'extrait de plante est attribuable à leurs composés phénoliques présents. Les plantes synthétisent des composés phénoliques en réponse à une infection microbienne (**Ayala-Zavala et al., 2011**). Il est donc possible qu'ils puissent agir comme des substances antimicrobiennes efficaces contre une large gamme de micro-organismes. Les molécules d'extrait de plante biologiquement actives sont considérées comme des agents antimicrobiens. Cependant, l'activité antimicrobienne des extraits de plantes dépend

non seulement des composés phénoliques, mais également de la propriété résultant de la présence de différents métabolites secondaires tels que les groupes hydroxyle des constituants actifs (Ayala-Zavala *et al.*, 2011; Siddiqui *et al.*, 2015). Les phénols comme la catéchine agissent sur différentes souches bactériennes appartenant à différentes espèces (*Escherichia coli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) en générant du peroxyde d'hydrogène et en modifiant le perméabilité de la membrane microbienne (Ferrazzano *et al.*, 2011). Cela peut également être attribué à la capacité de ces substances se lier à des adhérences bactériennes, ce qui perturbe la disponibilité de récepteurs à la surface (Padmini *et al.*, 2010). Certains rapports ont indiqué que les constituants actifs pourraient attaquer la paroi et la membrane cellulaires en détruisant leur barrière de perméabilité et en provoquant la libération de constituants intracellulaires entraînant l'inhibition de la croissance bactérienne (Zhang *et al.*, 2009).

Schelz *et al.*, (2010) ont estimé que l'effet antimicrobien du thé est basé sur la dénaturation de la membrane protéine, et la lyse cellulaire. Les extraits phénoliques sont également capables d'inhiber la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides dans les cellules fongiques et bactériennes.

Des études montre que, L'extrait de feuilles méthanoliques d'*Artemisia campestris* a exercé une activité antibactérienne uniquement contre les souches bactériennes à Gram positif sans aucun effet antagoniste contre les espèces bactériennes à Gram négatif par l'inhibition des enzymes extracellulaire microbiennes (Daglia M, 2011), dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN (Zhang *et al.*, 2009).

Thalia *et al.*, (2018) ont montré que les composés phénoliques des graines de *Mangifera indica* L. (mangue) possèdent une activité antimicrobienne contre *E. coli*, la *salmonelle coliraisoise*, les *monocytogènes*, le *staphylocoque doré*, le *staphylocoque doré*, le *bacille cereus*, la *salmonelle typhi* et *Pseudomonas aeruginosa*. Il a été suggéré que les composés phénoliques pourraient affecter la perméabilité de la membrane cellulaire en raison de son interaction avec les acides aminés hydrofuges des protéines membranaires. Ainsi, ils

provoquent le changement de pH, de potentiel électrique et de la libération cellulaire des protons, entraînant la mort bactérienne.

4. Effet anti-inflammatoire

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. C'est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène. Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : Rougeur, chaleur, douleur, et lésion fonctionnelle énoncés par Aulus Cornelius Celsius. (Schorderet *et al.*, 1998).

- **Polyphénols et inflammatoires**

De nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols et leurs métabolites agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Les études menées chez l'homme sain ont montré que le suivi d'un régime riche en fruits et légumes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma, et que la consommation d'anthocyanes était associée à la diminution du taux de cytokines circulantes (Lenoir L, 2011). Des études menées *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'effet anti-inflammatoire d'un grand nombre de plantes utilisées en médecine traditionnelle ainsi que le mécanisme d'action de plusieurs d'entre elles. Les substances actives des plantes peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant par exemple l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro inflammatoires (Dowiejua *et Zeitlin*, 1993).

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de (COX) Cyclooxygénase (Tapas *et al.*, 2008). Les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercétine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase (Gonzalez *et al.*, 2011). De même, dans la famille des stilbènes, le resvératrol a montré des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro* (Renaud, 2011).

En 1986, **Chanh et al.**, ont estimé que l'effet anti-inflammatoire des extraits de *Ribes nigrum* est basé sur l'inhibition de la biosynthèse et le relargage des PG (prostaglandines), médiateurs clés de l'inflammation. García-Mediavilla et son équipe montrent en 2007 que la quercétine et le kaempférol, flavonoïdes présents dans les feuilles de cassis, entraînent de manière dose-dépendante, une diminution significative de la concentration de COX-2, de CRP (protéine C réactive), d'iNOS (NO synthase inductible) sur des lignées cellulaires hépatocytaires d'humains.

Harpagophytum procumbens est une plante issue de la médecine traditionnelle africaine. Son activité anti-inflammatoire a été largement investiguée *in vivo* et *in vitro* (**Catelan et al., 2006**), et peut être due à sa capacité d'inhiber la production du TNF- α par les monocytes humains ou à son pouvoir de réduire la production de la myéloperoxydase par les neutrophiles (**Setty et Sigal, 2005**). **Madden et al., (2009)** a montré que la *Curcuma longa* contient un polyphénol appelé curcumine qui inhibe la production de la prostaglandine E2 et l'expression de la cyclooxygénase. La curcumine inhibe aussi l'expression des gènes de L'IL-6 et de L'IL-8 et diminue de manière dose dépendante la production de NO et l'expression de l'enzyme NO Synthase inductible (NOS) (**Mathy et al., 2007**).

Dans une autre étude, le criblage phytochimique de la plante *Zingiber officinale*, montre la présence d'un grand nombre de constituants ; gingerol, bêta-carotène, capsaïcine, acide caféique et curcumine, dont l'activité anti-inflammatoire est bien évidente. Les extraits du rhizome du gingembre sont de puissants inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes, comme ils inhibent la production du TNF- α en agissant sur l'expression des gènes (**Setty et Sigal, 2005**).

Burnett et al., (2007) ont démontré que le mélange des extraits d'*Acacia catechu* et de *Scutellaria baicalensis* inhibe la cyclooxygénase et la 5-lipoxygénase *in vitro* et *in vivo*. Ces deux enzymes jouent un rôle important dans la production de cytokines inflammatoires à partir d'acide arachidonique. Les résultats ont montré que ce produit d'association était capable d'inhiber ces deux enzymes et de réduire la production d'inflammation induite par l'acide arachidonique dans un modèle de gonflement de l'oreille de souris.

5. Effet antidiabétique

Le diabète sucré est un désordre métabolique d'une étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie chronique, qui touche le métabolisme glucidique, lipidique et protéique, et qui en résulte d'un défaut de la sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline ou les deux conjuguées (**Alberti et Zimmet, 1998**). Il y a principalement deux types de diabète : le diabète de type 1 (idiopathique ou auto-immune) ; le diabète de type 2 (insulinorésistance).

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulinosécrétrices du Pancréas dites cellules bêta. Cette destruction est authentifiée par la présence d'anticorps anti-cellules d'îlots, anti-insuline, anti-glutamate décarboxylase (GAD) et anti-tyrosinephosphatase IA1 et IA2 (**Léon Perlemuter et al., 2003**).

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle. L'hyperglycémie est due à une altération de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose par les cellules β du pancréas endocrine, et une diminution de la sensibilité tissulaire principalement des muscles squelettiques, du tissu adipeux et du foie aux effets de l'insuline, ce qui se traduit par une insulinorésistance.

- **Polyphénol et antidiabétique**

Les polyphénols sont les composés phytochimiques les plus courants dans l'alimentation humaine et font l'objet de recherches scientifiques en raison de leurs propriétés biologiques, de leur biodisponibilité et de leur bioaccessibilité, ainsi que de leurs effets sur la prévention des maladies chroniques. Des études épidémiologiques confirment qu'une consommation modérée et prolongée d'aliments riches en polyphénols pourrait prévenir la formation de maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le diabète de type 2 et l'obésité, les plus courantes dans les populations (**Del Rio et al., 2013**).

Certains polyphénols sont capables de réguler les principales voies du métabolisme des glucides et de l'homéostasie du glucose hépatique, notamment la glycolyse, la glycogénèse et la gluconéogenèse, généralement altérées par le diabète. L'acide férulique, un dérivé de l'acide hydroxycinnamique, supprime efficacement la glycémie en augmentant l'activité glucokinase et la production de glycogène dans le foie et en augmentant les taux d'insuline plasmatique chez les rats diabétiques (**Jung EH et al., 2007**).

Autre études montre que les composés polyphénoliques sont également capables de réguler la glycémie postprandiale et d'inhiber le développement de l'intolérance au glucose par une réponse insulinaire facilitée et une sécrétion atténuée du polypeptide insulinothrombotique dépendant du glucose (GIP) et du polypeptide analogue au glucagon-1 (Johnston. KL *et al.*, 2003).

Certains des composés polyphénoliques protègent les cellules β des dommages induits par l'hyperglycémie et par l'oxydation. L'administration orale d'extrait de *Castanea mollissima* riche en phénol chez des rats diabétiques a eu des effets favorables sur la glycémie et la viabilité des cellules β en atténuant le stress oxydatif, en renforçant le système antioxydant naturel et en inhibant la peroxydation des lipides (Yin.P *et al.*, 2011). Les polyphénols du thé vert, principalement les catéchines et les épicatechines, atténuent l'hyperglycémie et la production de glucose hépatique par une régulation à la baisse de l'expression de la glucokinase du foie (Waltner-Law ME *et al.*, 2002).

Les polyphénols du café, du thé de goyave, de la myrtille, de l'huile d'olive, de la propolis, du chocolat, des pépins de raisin et du cacao ont montré des effets antidiabétiques chez les patients diabétiques de type 2 en augmentant le métabolisme du glucose, en améliorant la fonction vasculaire et en réduisant la résistance à l'insuline et l'HbA1c (HuiCao *et al.*, 2017).

Ainsi que l'utilisation de l'extrait aqueux de *Allium cepa* provoque une diminution dose-dépendante de l'hyperglycémie (Ozougwu, 2011), par l'inhibition des α -glucosidases et diminution de l'absorption intestinale des glucides (Kim *et al.*, 2011).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (Jarald Edwin *et al.*, 2008).

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta.
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose.
- Diminution de la sécrétion du glucagon en induisant une diminution de l'absorption intestinale du glucose et/ou une réduction de l'utilisation périphérique du glucose.

- Inhibition des transporteurs du glucose au niveau de la barrière intestinale limitant ainsi l'absorption intestinale du glucose, ou par stimulation de la captation du glucose par les adipocytes ou les cellules musculaires.

7. Effet cardiovasculaire

Les maladies cardiovasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins qui comprennent; les cardiopathies coronariennes (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent le muscle cardiaque); les maladies cérébraux-vasculaires (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent le cerveau); les artériopathies périphériques (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent les bras et les jambes); les cardiopathies rhumatismales (affectant le muscle et les valves cardiaques et résultant d'un rhumatisme articulaire aigu, causé par une bactérie streptocoque); les malformations cardiaques congénitales (malformations de la structure du cœur déjà présentes à la naissance); Les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires (obstruction des veines des jambes par un caillot sanguin, susceptible de se libérer et de migrer vers le cœur ou les poumons) (OMS 2017).

- **Polyphénol et cardiovasculaire**

Des études épidémiologiques suggèrent qu'une consommation plus élevée de polyphénol provenant de fruits et de légumes est associée à une diminution du risque de maladie cardiovasculaire. Les flavonoïdes améliorent la fonction endothéliale et inhibent l'agrégation plaquettaire chez l'homme. L'endothélium vasculaire est un régulateur essentiel de l'homéostasie vasculaire et le dysfonctionnement endothélial contribue à la pathogenèse et à l'expression clinique de la maladie coronarienne. L'agrégation plaquettaire est un mécanisme central dans la pathogenèse des syndromes coronaires aigus, y compris l'infarctus du myocarde et l'angor instable. Pour ces raisons, les effets observés des flavonoïdes sur la fonction endothéliale et plaquettaire pourraient expliquer, en partie, les effets bénéfiques observés des flavonoïdes sur le risque de maladie cardiovasculaire (Vita, J.A, 2005).

Diverses études sur l'homme, les animaux et les cellules ont suggéré que les polyphénols pourraient exercer des effets bénéfiques sur le système vasculaire via l'induction de défenses antioxydants par la réduction de la pression artérielle, par inhibition de l'agrégation plaquettaire, par inhibition de l'oxydation des LDL, par la réduction des repenses inflammatoire et par

l'amélioration la fonction endothéliale (**Hooper. L et al ., 2008 ; Desch. S et al., 2010 ; Erlund I et al., 2008 ; Grassi. D et al., 2005 ; Park Y.K et al., 2004**).

Kumar. G et Baojun X. (2017) ont confirmé que la consommation de Soja noir (*Glycine max L. Merr*) peut réduire le risque de maladies coronariennes. Des recherches récentes ont démontré que ce plante inhibe l'oxydation des LDL, inhibe la molécule d'adhérence cellulaire vasculaire (VCAM) induite par le TNF- α , la molécule d'adhérence intracellulaire-1 (ICAM) et la cyclooxygénase-2. De plus, les anthocyanes protègent les lésions du myocarde de l'ischémie-reperfusion. Ainsi, les anthocyanes des graines Soja noir sont bénéfiques pour les pathologies telles que les maladies coronariennes.

Le resvératrol a fait l'objet de nombreuses recherches pour sa capacité à moduler les déterminants associés à un risque cardiovasculaire accru. L'amélioration du profil lipidique et du taux de cholestérol ainsi que la réduction de la pression artérielle et de l'agrégation plaquettaire ont toutes été démontrées avec l'apport en resvératrol (**Sandhya. K et al., 2013**).

Dans l'endothélium, le resvératrol peut aussi stimuler l'activité de l'eNOS en augmentant la quantité de NO, augmentant ainsi la vasodilatation dans les cellules endothéliales. Il peut également moduler la biosynthèse des thromboxanes (TXA2 et TXB2), molécules impliquées dans l'agrégation plaquettaire, en inhibant l'activité de la p38 MAP kinase et de la PKC, réduisant ainsi l'adhésion et l'agrégation des plaquettes, ce qui en fait un antithrombotique et un athéroprotecteur. Un mécanisme essentiel permettant au resvératrol de protéger des maladies cardiovasculaires consiste à prévenir les modifications structurelles du cœur provoquées par l'hypertension, et à prévenir cette hypertrophie et ce remodelage.

La quercétine est un flavonoïde facilement disponible qui aurait été bénéfique pour améliorer la maladie cardiovasculaire via la régulation positive d'eNOS et la réduction du stress oxydatif. **Khoon k et al., (2010)** ont démontré qu'un traitement à la quercitrine pendant 30 min améliorait la relaxation de anneaux aortiques de rat grâce au NOS et au facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium. En outre, ce groupe a démontré que les cellules endothéliales aortiques bovines, lorsqu'elles étaient traitées à la quercétine, présentaient une augmentation du calcium intracellulaire, une phosphorylation d'eNOS et une augmentation ultérieure de NO. Ces résultats suggèrent que la phosphorylation d'eNOS induite par la quercétine peut augmenter la disponibilité de NO, induisant ainsi des effets vasculaires protecteurs.

L'EGCG, principal polyphénol du thé, présente des effets cardiovasculaires bénéfiques, notamment : une protection contre le dysfonctionnement endothélial, l'hypertension, l'hypertrophie cardiaque, des lésions et des lésions des cellules cardiaques, grâce à la modulation de la production d'eNOS et de NO (**Park, D et Booyse ,2002 ; Negishi ,H et al .,2004**).

Soni et al., (1992), ont montré que la *Curcuma longa* contient un polyphénol appelé curcumine une activité hypocholestérolémiant et de l'athérosclérose. Des études cliniques menées chez des volontaires recevant un régime de curcumine (500 mg) pendant une semaine ont montré une diminution de peroxydation lipidiques et du cholestérol total, ainsi qu'une augmentation des taux de HDL sériques. De même, les patients atteints de syndrome coronarien aigu et ayant reçu de faibles doses de curcumine à 15 mg, trois fois par jour pendant 2 mois, ont présenté une réduction plus importante du taux de LDL et une augmentation plus importante du taux de HDL (**Kapakos et al., 2012**).

1. Matériel végétal

1.1 Description botanique de la plante

Matricaria sp est une espèce endémique, appartenant à la famille des Asteraceae (Compositae). C'est une plante à tiges nombreuses couchées puis redressées et sous forme de touffes. Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre. Involucres 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 6 à 7 mm. Il est commun dans tout le Sahara (Ozenda, 2004).

Matricaria sp se trouve particulièrement dans tout le Sahara septentrional et Central. C'est une plante endémique très connue en Afrique du Nord (Quezel, F ; Santa, S, 1962-1963). Les parties aériennes (fleurs et feuilles) de *Matricaria sp* ont été récoltées de la région de Ghardaïa, en 2018.

1.2 Domaines d'utilisation du *Matricaria sp*

1.2.1. Médicinal

Matricaria sp est utilisée dans les affections oculaires, démangeaison, dysménorrhée, inflammations des plaies (Hammiche ; Maiza, 2006), rhumatismes, toux, otites et affections oculaires, calculs biliaires et affection gastro-intestinales, (Bellakhdar, 1997 ; Ould el hadj, 2003).

1.2.2. Alimentation

Elle est également utilisée dans les préparations des repas : on filtre le beurre de chèvre fondu et chaud en le faisant passer à travers les tiges et les feuilles pilées, le beurre ainsi préparé est très parfumé et se conserve mieux. Elle peut être ajoutée au thé, ou mélangé sec et pilé au tabac et pour aromatiser les soupes (chorba) (Bellakhdar, J et al., 1991).

2. Préparation des extraits

2.1. Extrait aqueux lyophilisé

Le matériel végétal séché (20 g) a été mis en suspension dans (300 ml) d'eau chaude et agité pendant 30 minutes. Après filtration, l'extrait a été congelé dans l'azote liquide puis lyophilisé (LaBconco) à -80 °C. L'extrait aqueux lyophilisé (AqL) a été obtenu avec un rendement de 15% p/p et a été stocké à -20 °C jusqu'à utilisation.

2.2. Extraction par les solvants

Un diagramme schématique pour la préparation d'extraits organiques *Matricaria sp* est Représenté sur la (**Figure10**).

Le protocole extractif a été effectué selon la méthode (**Kandouli et al., 2017**) et comporte les étapes suivantes. L'extraction a été réalisée par macération de (200 g) de matériel végétal dans (1200 ml) de méthanol. Le mélange est filtré sur papier filtre Whatman n°1. La macération est renouvelée deux fois sur le résidu récupéré avec renouvellement du solvant pour permettre la solubilisation maximum des composés. Les trois macéras filtrés sont réunis pour donner l'extrait méthanolique brut. Celui-ci est évaporé à sec sous pression réduite à 37°C au *Rotavapor* et pesé pour déterminer son rendement.

L'extrait méthanolique sec est repris dans l'eau distillée bouillante (300 ml) qui solubilise proportionnellement les flavonoïdes. La solution obtenue est filtrée sur tissu et papier filtre n° 1 afin d'éliminer les substances non phénoliques (impuretés, graisses, cires etc...).

La solution aqueuse ainsi obtenue est soumise à une extraction liquide-liquide avec les solvants organiques suivants. La première extraction est réalisée l'éther de pétrole (3X100 ml) qui permet d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles ; la deuxième avec l'acétate d'éthyle (3X100 ml) et la troisième avec le butanol (3X100 ml). Le fractionnement est réalisé pendant 20 minutes et l'opération est répétée quatre fois. Les trois phases organiques ont été réunies et évaporées à sec sous pression réduite, puis pesées. La phase aqueuse résiduelle est également lyophilisée.

Cinq fractions sont à la fin récupérées : fraction méthanolique (MeOH) (33.55 g, 16.8% p/p), fraction éther de pétrole (EP) (2.13 g, 1.065% p/p), fractions acétate d'éthyle (ActOH) (3.2 g, 1.5% p/p), fraction *n*-butanolique (*n*-BuOH) (5 g ,2.5% p/p) et fraction aqueuse résiduelle (AqR) (4 g, 2% p/p). Les fractions ont été conservées à -20 °C jusqu'à utilisation.

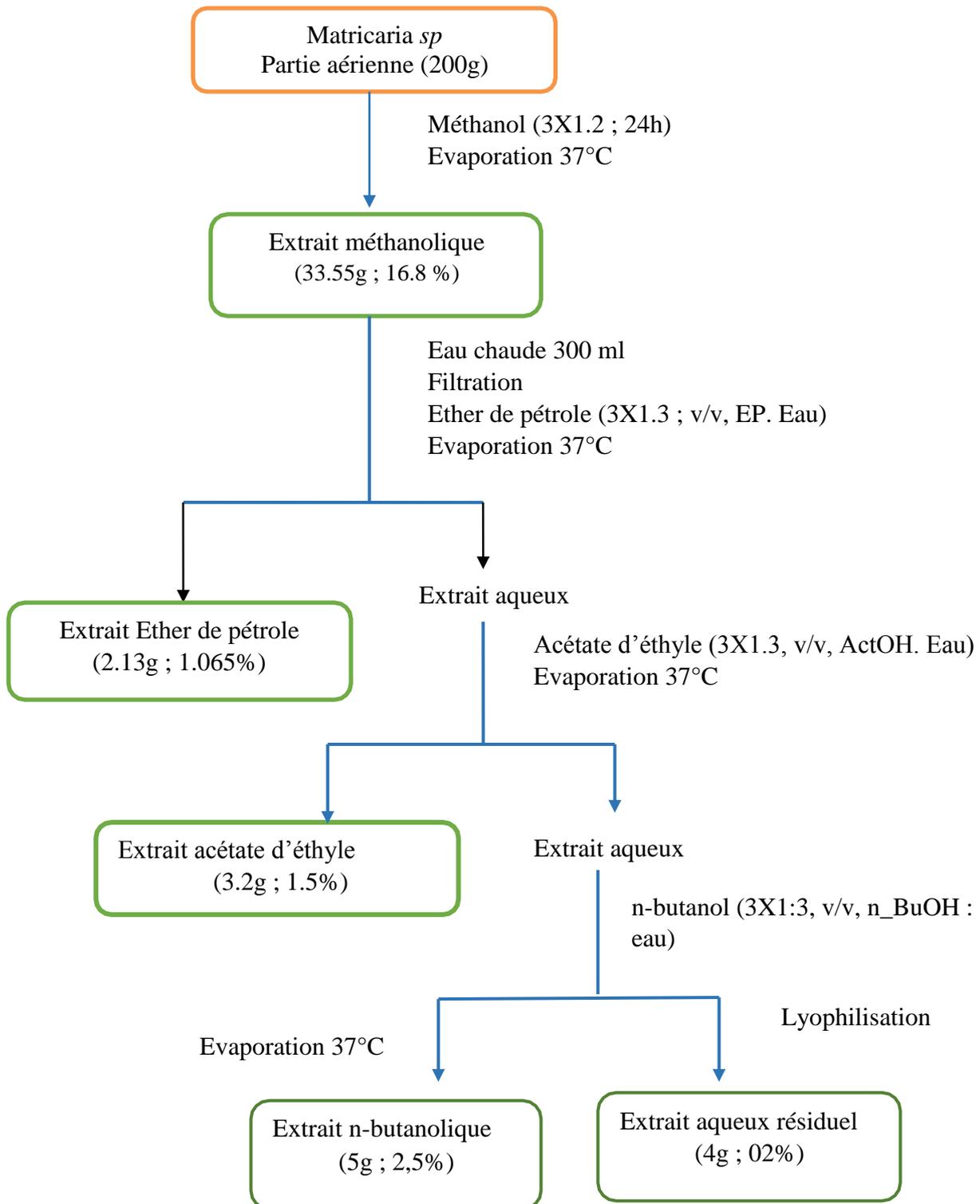


Figure 10 : Schéma du protocole d'extraction de *Matricaria sp.*

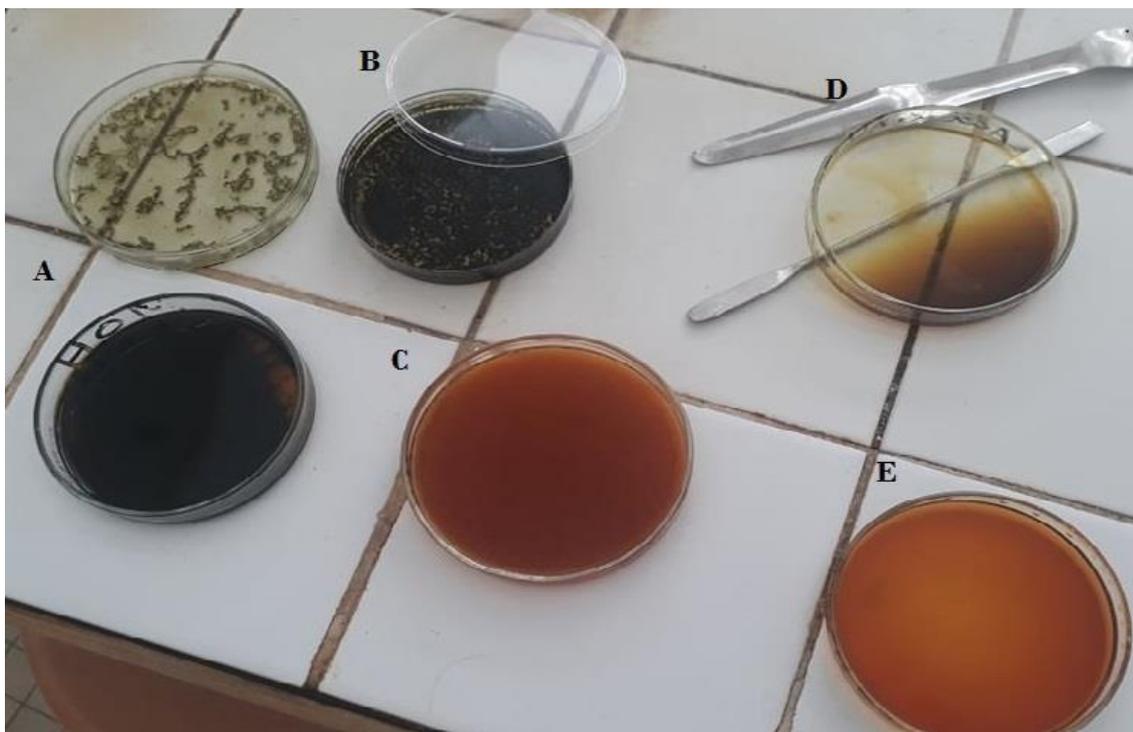


Figure 11 : Les différents extraits de *Matricaria sp* ; **A.** Extrait MeOH ; **B.** Extrait EP; **C.** Extrait AqR ; **D.** Extrait ActOH ; **E.** Extrait *n*-BuOH ; **F.** AqL.

3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Matricaria sp*, est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et demolybdène de couleur bleue. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Le protocole du dosage est effectué comme suit : 160 μ l de chaque extrait dissous dans le méthanol (0,1 mg/ml) sont ajoutés à 800 μ l du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après 5 min d'incubation à température ambiante, 640 μ l de Na_2CO_3 (7,5

g/l) dilué également dans l'eau distillée, sont additionnés au mélange. L'ensemble préalablement agité est incubé à l'abri de la lumière pendant 2 heures. L'absorbance est ensuite mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV-visible (Tecan M 200). La concentration des polyphénols totaux pour chaque échantillon est calculée à partir de l'équation de régression d'une gamme d'étalonnage en milieu aqueux (0.1 mg/ml), établie avec l'acide gallique dans les mêmes conditions opératoires que les extraits (**annexe 1**). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g d'extrait).

3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Ordonez et al., 2006**), est utilisée pour déterminer les flavonoïdes dans les différents extraits. 600 µl de chaque échantillon (0,5mg/ml) dilués dans d'étalonnage (0-40 µg/ml), l'éthanol, est ajouté à 600 µl de la solution d'AlCl₃ (2% dans l'éthanol). Après 1 h d'incubation, l'absorbance est lue à 420 nm par un spectrophotomètre UV-visible. Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme établie avec la Quercétine (**annexe 2**), et sont exprimées en microgrammes équivalents de Quercétine par milligramme d'extrait (µg QE/mg d'extrait).

3.3. Analyse des composés phénoliques par HPLC-DAD

Les composés phénoliques a ont été étudiés par HPLC sur un système Merck Hitachi composé d'un module d'interface La Chrom L-7000 et un détecteur de matrice de photodiode L-7455 contrôlé par le logiciel de gestion software de chromatographie l'EZ Chrome. Pour chaque fraction, les quantités moyennes de composés phénoliques ont été calculées à partir des courbes d'étalonnage standards obtenues aux absorbances UV maximales des flavonoïdes et des hydroxybenzoïques et des composés hydroxycinnamiques, et ont été quantifiés en tant que GAE, équivalents d'acide caféique (CAE) et équivalents d'acide rutine(RUE) / g de poids d'extrait, respectivement (**Kandouli et al., 2017**).



Figure 12 : l'appareil de HPLC.

4. Evaluation des capacités antioxydantes

La majorité des tests d'évaluation de capacité antioxydante se base sur les mécanismes de transfert d'hydrogène (HAT) ou d'électron (ET). Contrairement aux tests HAT basés sur des réactions compétitives entre l'antioxydant et un substrat, vis à vis d'un radical libre généré thermiquement, les tests de type ET mesurent la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant. Ces tests emploient un antioxydant qui, en présence d'un oxydant-sonde, change de coloration après réduction. Les tests HAT utilisent des méthodes de dosage colorimétrique et fluorimétrique. De manière générale, ils mettent en œuvre un générateur thermique de radical

donnant un flux régulier de radicaux pyroxyles dans une solution saturée en air. L'usage d'une sonde moléculaire permet de suivre la réaction par fluorescence ou détection UV.

4.1. Test du DPPH

Le test du DPPH[•] (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) consiste en une mesure de la capacité d'un composé antioxydant à réduire le radical libre persistant DPPH[•] (0.19 mM) par spectrophotométrie UV-visible (Kandouli *et al.*, 2017). Le DPPH[•] est un radical stable d'une coloration violette, due à la présence d'un électron non apparié sur l'atome d'azote, possédant un maximum d'absorption dans le visible à 517 nm en solution alcoolique. L'absorbance de la solution du DPPH[•] diminue en donnant une couleur jaune, voire incolore, quand l'électron célibataire sur l'atome d'azote du DPPH[•] est réduit par un atome d'hydrogène provenant du produit antioxydant (Figure 13). La capacité antioxydant augmente d'autant plus que la substance réduit le DPPH[•].

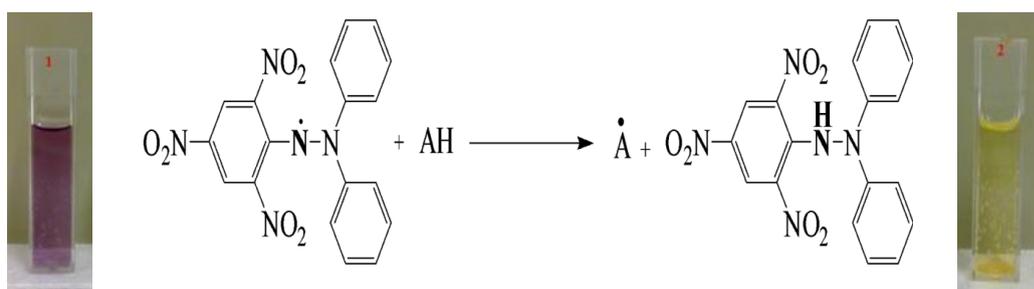


Figure 13 : Réaction de réduction du radical DPPH.

Une solution du DPPH à (0.19 mM) est préparée dans le méthanol (MeOH) et laissée en agitation durant 2 h à l'abri de la lumière. Un aliquote de 400 μ l des solutions méthanolique des extraits à différentes concentrations sont additionnées à 800 μ l du DPPH. Le mélange est agité et laissé réagir pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 517 nm. L'activité DPPH[•] scavenger est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

A_0 : absorbance du contrôle.

A : absorbance de l'échantillon ou standard.

4.2. Test de l'ABTS

Le radical $ABTS^{+\bullet}$ est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (**Re et al., 1999**). La solution d'ABTS présente une coloration bleu turquoise lorsque le radical ($ABTS^{+\bullet}$) reste dans un état libre. Cependant, la forme réduite du radical confère à la solution une coloration jaune lorsque le radical est piégé par les substances antioxydantes présentes dans l'extrait ; l'intensité de la coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (**Miguel, 2010**).

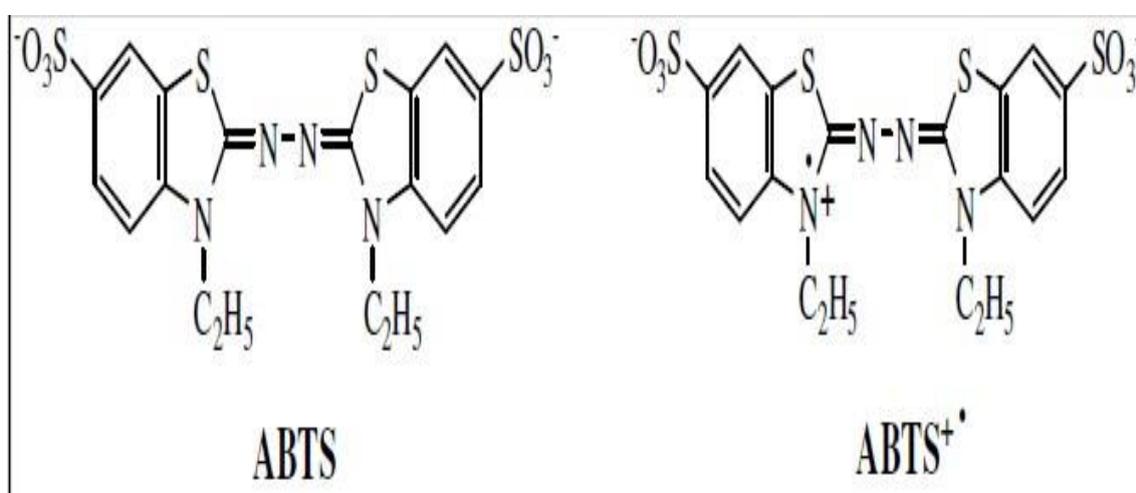


Figure 14 : Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme réduite ABTS, forme radical cation $ABTS^{+\bullet}$ (**Owen et Johns, 1999**).

La solution du radical cationique $ABTS^{+\bullet}$ a été préparée en mélangeant (7mM) d'ABTS avec (2,45mM) de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution $ABTS^{+\bullet}$ a été diluée avec l'éthanol, afin d'obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734nm. Un volume de 40 μ l d'extrait est ajouté à un volume de 160 μ l de la solution d' $ABTS^{+\bullet}$. Le mélange est incubé pendant 10 min. L'absorbance est mesurée à 734 nm, Le témoin négatif est composé de 160 μ l de solution méthanolique de $ABTS^{+\bullet}$ et 40 μ l du solvant utilisé pour les dilutions. L'absorbance a été lue à 734nm après 6 min d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical $ABTS^{+\bullet}$ est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

A_0 : absorbance du contrôle.

A : absorbance de l'échantillon ou standard.

4.3. Test du GOR

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits est réalisée par le test Galvinoxyl radical (GOR) qui est considéré comme un radical libre relativement stable. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de GOR. En présence de molécules dites antioxydantes, le GOR est transformé en sa forme réduite, ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. La décoloration du GOR est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire.

Selon le protocole décrit par (Shi *et al.*, 2001). La solution de GOR (0,1mM) est préparée par solubilisation de 4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol. Un volume de 40 μ L de chaque solution des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 160 μ L de solution GOR. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 120 min et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 428 nm.

L'équation suivante a été utilisée pour calculer le balayage du radical Galvinoxyl :

$$\text{Inhibition (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

A_0 : absorbance du contrôle.

A : absorbance de l'échantillon ou standard.

4.4. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles

Dans la technique de mesure de l'inhibition de dégradation du désoxyribose, le système implique l'auto oxydation du complexe Fe²⁺ EDTA (Ethylénediamine tétraacétique) dans un milieu aqueux pour former O₂ qui est rapidement dismuté en H₂O₂ à pH 7,4. Après, ce dernier interagit avec Fe²⁺ pour former les radicaux OH[•] en présence de l'acide ascorbique comme catalyseur (réaction de Fenton). La dégradation du désoxyribose par les radicaux OH[•] dégage certains produits estimés en malonaldéhyde (MDA), un chromogène rose lors du chauffage avec l'acide thiobarbiturique (TBA) dans un milieu acide. La présence des anti-radicaux protège et diminue la production des MDA (Aruoma *et al.*, 1987 ; Halliwell *et al.*, 1987).

Le mélange réactionnel contient les réactifs suivants. 500 µl des différentes concentrations en AQL, AqR, *n*-BuOH et Mannitol sont ajoutés au mélange réactionnel contenant, 0,1 ml de la solution tampon phosphate (20 mM ; pH = 7.4), 0.1 ml de l'EDTA (1mM), 0,1 ml de FeCl₃ (10 mM) et 0,1 ml de 2- désoxyribose (2,8 µM). La réaction est commencée par l'addition de 0,1 ml d'acide ascorbique (1 mM) et 0,1 ml de H₂O₂ (1 mM).Après l'incubation à 37°C pendant 1 heure, 0,5 ml de TBA (1 %) est ajouté dans le milieu réactionnel suivi par 0,5 ml de l'acide acétique. Les mélanges sont placés au bain marie à 94°C pendant 30 min et puis sont refroidi avec de l'eau. L'absorbance des solutions est mesurée à 532 nm avec le spectrophotomètre contre le blanc. La capacité du piégeage du radical hydroxyle en présence ou absence d'EDTA est évaluée selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

A₀ : représente l'absorbance du contrôle sans extrait.

A : représente l'absorbance de l'extrait.

4.5. Capacité antioxydante totale (TAC)

Dans cet essai, le mécanisme réactionnel est basé sur la réduction du molybdène (VI) au molybdène (V) par les composés réducteurs présent dans l'échantillon. Le complexe ainsi réduit de composé de phosphomolybdate (V) de couleur verte est mesuré par spectrophotométrie à 695 nm.

Le protocole expérimental suivi est celui de (Prieto *et al.*, 1999).Un aliquote de 150 µl de l'échantillon à différentes concentrations de chaque extrait est mélange avec 1500µl d'une solution de réactif constitué de : (0.6 M) acide sulfurique, (28 mM) phosphate de sodium, et (4 M) molybdate d'ammonium. Le tout est incubé à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, est la lecture de l'absorbance se fait contre un blanc à 695nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

4.6. Reducing power

Ce test est découvre par Oyaizu 1896 (Latifoulagnika ,2005). Ce test est considéré comme un test direct et rapide dont est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et utiliser pour déterminer l'activité antioxydante des extraits étudiés dans un

milieu neutre. Ce test est basé sur la réduction des ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ à des ions de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-4}$ qui peut être mesurer leur absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 700 \text{ nm}$.

On prépare des extraits de concentration de 2 mg/ml . $200 \mu\text{l}$ de chaque extraits à différentes concentrations ont été introduits à l'aide d'une Micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de $500 \mu\text{L}$ de solution tampon phosphaté (0.2M ; $\text{pH}=6.6$) et $500 \mu\text{L}$ d'une solution $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). Le mélange est incubé dans un bain marie pendant 20 minutes à $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Ensuite, on ajoute $500 \mu\text{l}$ de l'acide trichloracétique (TCA 10%) puis incubé pendant 10 minutes à température ambiante. On prend de chaque tube $500 \mu\text{l}$ et on introduit dans un autre tube à essai et on ajoute $500 \mu\text{l}$ de l'eau distillé, $200 \mu\text{l}$ de solution de FeCl_3 (0.1 %). L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm contre un blanc (H.jrahharzallah ,2010).

4.7. Capacité antioxydante cuivrique réductrice (CUPRAC)

La méthode est basée sur l'utilisation de réactif cuivre (II)-néocuproïne (Cu (II)-Nc) comme agent oxydant chromogène, ce dernier est réduit en présence d'un antioxydant qui conduit à la formation d'un chromophore de couleur jaune orangé où l'absorbance est enregistrée à longueur d'onde maximale d'absorption de la lumière de 450 nm .

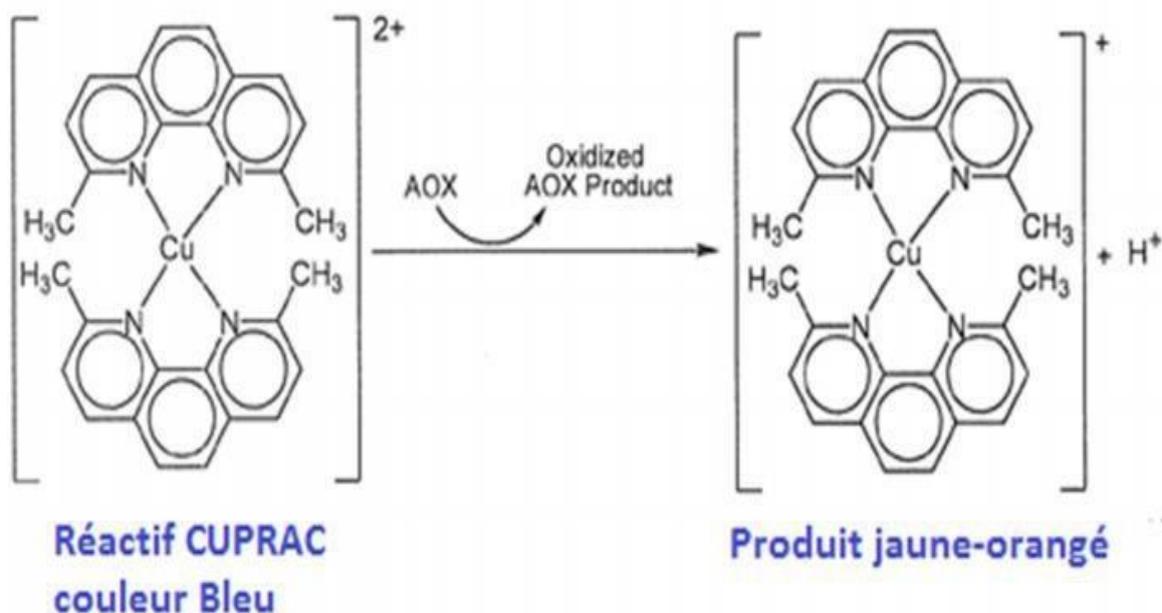


Figure 15 : Réduction du complexe chromogène de Cu^{2+} -Nc (Ozyurek *et al.*, 2011).

Le mélange réactionnel contient les solutions suivants : solution 1 : 1.927g d'acétate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) sont dissoutes dans 25 ml (H_2O), solution 2 : 0.042625g ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sont dissoutes dans 25 ml (H_2O), solution 3 : 0.039g (Néocuproïne) sont dissoutes dans 25 ml (Méthanol).

Selon le protocole décrit par (Apak *et al.*, 2004). Un volume de 40 μl de chaque extrait et ses concentrations ainsi que 60 μl du tampon (S1) puis un volume de 50 μl de la solution éthanolique (S3) sont déposés dans chaque puits de la microplaque, 60 μl de la solution aqueuse (S2) ont été ajouté par la suite. La couleur du milieu réactionnel change alors du blanc au jaune orangé. Un blanc a été préparé en parallèle, en remplaçant les extraits par le MeOH. Trois répétitions sont réalisées pour chaque extrait. Après incubation durant 1h à température ambiante à l'obscurité, l'absorbance a été mesuré à 450 nm.

4.8. Métal chelating capacité (MCC)

La capacité chélatrice des extraits de la plante est déterminée selon la méthode de (Ambigaipalan *et al.*, 2016). La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} .

Un volume de 840 μl des solutions méthanolique et aqueuses des extraits à différentes concentrations (0.625-1 mg/ml) ou du chélateur standard (EDTA) (annexe 3) sont additionnées à 80 μl de sulfate de fer (FeSO_4) (0.3 mM). Après 5 min d'incubation, 120 μl de ferrosine (0.8 mM) sont ajoutés, et le mélange est agité et laissé réagir pendant 10 min pour permettre la complexation du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrosine est mesurée à 562 nm et la courbe d'étalonnage est construite avec (EDTA). L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

A_0 : absorbance du contrôle.

A : absorbance de l'échantillon ou standard.

Les résultats sont exprimés en micromoles d'EDTA équivalents (EDTAE) par gramme d'échantillon ($\mu\text{mol les d'EDTAE} \cdot \text{g}^{-1}$).

5. Test d'inhibition de l'alpha-amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisée en utilisant la méthode (**Zengin G et al., 2014**) avec quelques modifications. L' α -amylase des mammifères sécrétés par le pancréas à travers le suc pancréatique, est une enzyme dont le rôle essentiel est d'hydrolyser l'amidon alimentaire, cette enzyme pourrait être sécrétée aussi par les glandes salivaires. L'inhibition de l'hydrolyse des hydrates de carbone par l' α -amylase dans le tractus digestif retardent leurs digestions et prolongent leurs temps causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (**Megh raj et al., 2008**) et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie (**Hong et al., 2008**).

Un volume de 25 μ l d'extrait est mélangé avec 50 μ l (solution α -amylase 1U/ml) et incubé pendant 10 min à 37 °C puis 50 μ l d'amidon 0.1% sont ajoutés, le mélange est incubé pendant 10 min à 37 °C. Après incubation, 25 μ l HCl (1M) et 100 μ l IKI (Iodine l'iodure de potassium) sont additionnés et l'absorbance est mesurée à 630 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_I - A_0) - A_S] / (A_I - A_0) \times 100$$

A_I : Absorbance IKI + Amidon.

A_0 : absorbance du contrôle.

A_S : absorbance de l'échantillon ou standard.

6. Analyse des données

Les traitements statistiques sont effectués avec le logiciel GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla, CA). Les données sont présentées sous la forme moyenne \pm écart type. Les corrélations entre les données des analyses antioxydantes ont été calculées en utilisant les coefficients de corrélation de Pearson (r^2). Les différences issues des traitements ont été analysées en utilisant le test de Mann-Whitney ou l'analyse de variance à une voie (ANOVA 1).

1. Analyses TPC, TFC et HPLC

La détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Matricaria sp* a été faite en utilisant séparément les méthodes colorimétriques (Folin Ciocalteux et trichlorure d'aluminium) et la quantification du profil phénolique dans les six extraits a été réalisée par HPLC-DAD.

1.1. Analyses TPC

La détermination de la teneur en phénols totaux dans les extraits de *Matricaria sp.* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique phosphomolybdique du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche(MS) (**annexe 01**).

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'extrait acétate d'éthyle (ActOH) est plus riche en composés phénoliques avec un teneur de (335.89±8.96mg GAE/g MS), suivi par l'extrait *n*-BuOH (198.32±7.38mg GAE/g MS), et par la suite MeOH et l'extrait AqL (121.53±2.10mg GAE/g MS et 115.56±2.10mg GAE/g MS), respectivement. Tandis que, on note de faible teneur 73.06 ±3.16mg EAG/g MS, 70.08 ±3.16 mg EAG/g MS dans l'éther de pétrole (EP) et de la fraction aqueux résiduelle (AqR) respectivement. Le classement de TPC dans ces extraits est comme suit : ActOH>*n*-BuOH>MeOH>AqL>EP>AqR.

Les valeurs des phénols totaux dans les extraits sont concordance avec les teneurs trouvées par (**Bouden et al., 2018**), (95,51 mg GAE/ g et 123,43 mg GAE/ g) dans l'extrait MeOH et aqueux de *Matricaria Pubescens*, respectivement et par (**Khezzar et al., 2019**). Cependant, nos résultats de TPC dans MeOH et AqL sont plus élevés que les teneurs trouvées par (**Boudieb et al., 2018**) dans les extraits de *Matricaria chamomilla* et par (**Sebai et al., 2015**) dans *Matricaria recutita*.

1.2. Analyse TFC

La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent de quercétine /g de matière sèche (MS). Les résultats de la courbe d'étalonnage de quercétine sont représentés dans (**l'annexe 02**).

A partir des résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variées en flavonoïdes dans les différents extraits de *Matricaria sp.* Les teneurs les plus élevées en flavonoïdes ont été enregistrées pour les extraits : *n*-BuOH et ActOH avec des valeurs de l'ordre de (165.42 ± 6.83 mg QE/g MS et 150.22 ± 2.97 mg QE/g MS) respectivement. Les extraits AqL et EP ont présenté des teneurs en flavonoïdes moins importantes (21.14 ± 3.19 mg QE/g MS, 15.90 ± 2.31 mg QE/g MS), alors que AqR ne contient que (6.041 ± 0.32 mg QE/g MS). Le classement de TFC dans ces extraits est comme suit : BuOH>ActOH>MeOH>AqL> EP>AqR. Ceci concorde avec les résultats trouvés par (**Khezzar et al., 2019**). La valeur du dosage des flavonoïdes de l'extrait méthanolique est plus élevée que celle trouvée par (**Bouden et al., 2018**) et par (**Kiselova et al., 2004 ; Kavitha et al., 2018**) dans les extraits de *Matricaria chamomilla*. Par contre, la valeur de TFC notée dans l'extrait AqL est inférieure que la teneur enregistrée par (**Bouden et al., 2017**) dans l'extrait aqueux de *Matricaria Pubescens*.

L'analyse de l'ensemble de nos résultats montrent que la proportion en polyphénols est nettement supérieure à celle des flavonoïdes, ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes, il peut y avoir présence d'autres polyphénols.

La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques des endroits où elles poussent (température élevée, grande exposition au soleil, la sécheresse et la salinité qui stimule la biosynthèse des métabolites secondaires, notamment les polyphénols), le moment de la récolte, le solvant d'extraction et les conditions de stockage (**Podsedeck, 2007 ; Falleh et al., 2008**).

Nos résultats ont démontré une teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes pour l'extrait ActOH et de BuOH par rapport que les autres extraits.

Les différences marginales trouvées entre les extraits aqueux et de méthanol concernant TPC et TFC ne sont pas surprenants car ces solvants peuvent dissoudre également une grande partie des composés phénoliques polaires (**Daneshfar et al., 2008**). Cependant, l'utilisation d'extrait de méthanol comme matière de départ pour un fractionnement supplémentaire a été jugée plus pertinente puisqu'elle a significativement favorisé la récupération des flavonoïdes, c'est-à-dire, une augmentation de 20 à 80% du rapport TFC/TPC entre les extraits a été

enregistrée (**tableau 7**). Comme prévu, les extraits d'acétate d'éthyle et de butanol ont montré les TPC et TFC les plus élevés par rapport à l'extrait méthanolique.

1.3. Analyse des composés phénoliques par HPLC-DAD

Comme le TPC et le TFC ont été déterminés plus avant, l'identification et la quantification du profil phénolique dans les six extraits de *Matricaria sp* a été réalisée par HPLC en utilisant un détecteur à matrice de diodes (DAD). Les chromatogrammes représentatifs sont représentés sur la (**Figure 16**). L'analyse qualitative et quantitative de chaque est présentée dans (**le tableau 7**). Nos résultats montre qu'il y a trois grandes familles de polyphénol : les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydroxybenzoïques et les flavonoïdes.

Les dérivés hydroxycinnamiques, hydroxybenzoïques et flavonoïdes, qui sont présents en quantités significatives dans les extraits d'acétate d'éthyle et de butanol avec une gamme de composés tout à fait différente (**Figure 16**), ont encore été trouvés avec de bons rendements dans l'extrait AQL et méthanol, alors qu'ils ont été récupérés en faibles quantités ou même traces dans les extraits EP et AQR. Ces classes de composés phénoliques ont été facilement identifiées par comparaison avec les temps de rétention (tR) et les spectres UV d'échantillons standards authentiques d'acides galliques (tR = 4,2min) et caféïques (tR = 13,4min), et de rutine (tR = 28 28,2min) aux longueurs d'onde d'absorption maximale de 280, 325 et 350 nm, respectivement.

Tableau 07 : Teneur totale en phénol (TPC), teneur totale en flavonoïdes (TFC) et concentrations de composés phénoliques a dans les extraits *Matricaria sp* détectés par HPLC-DAD.

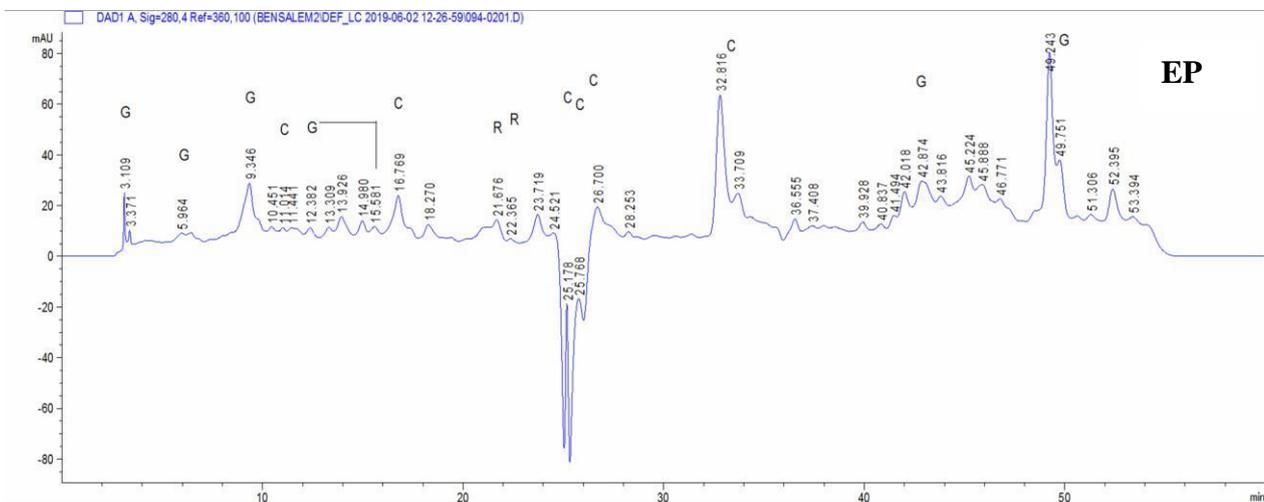
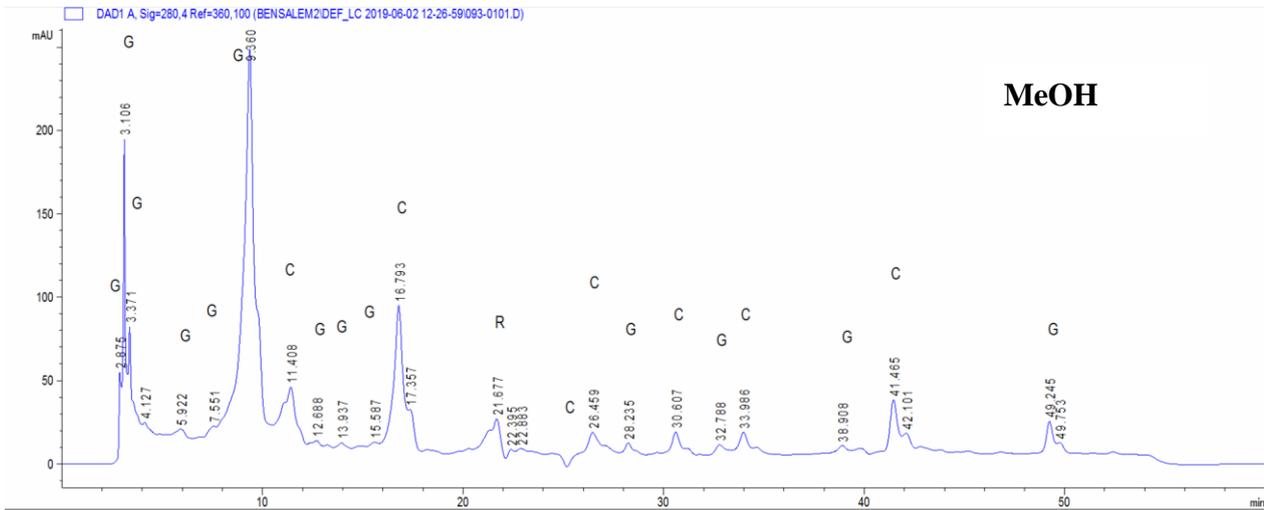
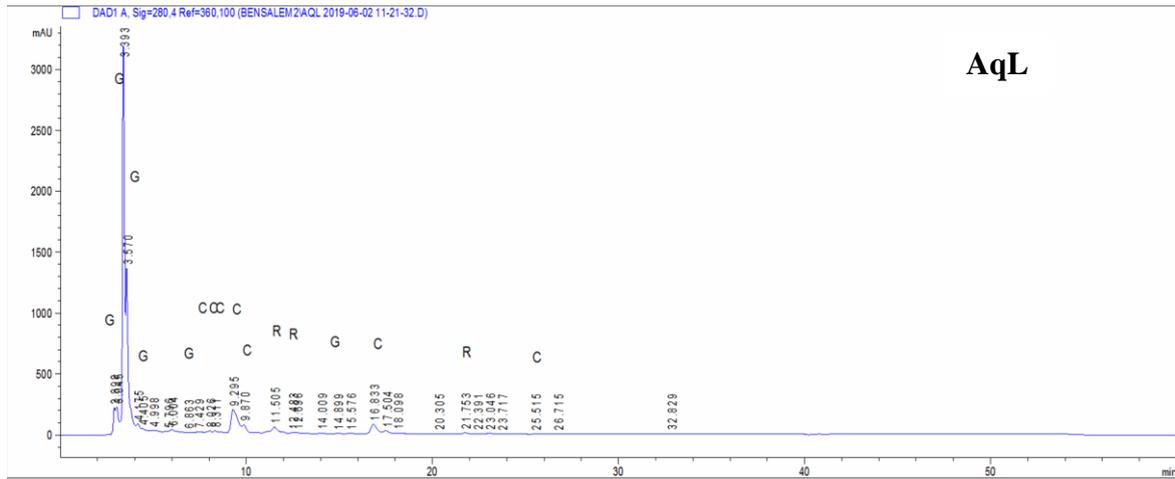
Principaux composés phénoliques						
Extraits	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	TPC/TFC	Dérivés hydroxycinnamiques (mg CAE/g)	Flavonoïdes (mg RUE/g)	Dérivés hydroxybenzoïques (mg GAE / g)
AqL	115,56±2,10	21,14±2,31	0,18	10.41±0.51	26.6±0.28	1.31±0.44
MeOH	121,53±2,10	79,33±5.51	0,65	11.45±0.56	22.49±0.24	13.98±4.68
EP	73,06±3,16	15,00±3,19	0,21	1.11±0.05	8.48±8.11	3.08±1.03
ActOH	335,89±8,96	150,22±2,97	0,44	24.49±1.20	35.73±0.38	28.94±9.7
n-BuOH	198,32±7,38	165,42±6,83	0,83	19.70±0.97	46.1±0.66	28.16±0.58
AqR	70,08±3,16	6,041±0,32	0,086	7.33±0.36	nd	3.5±1.17

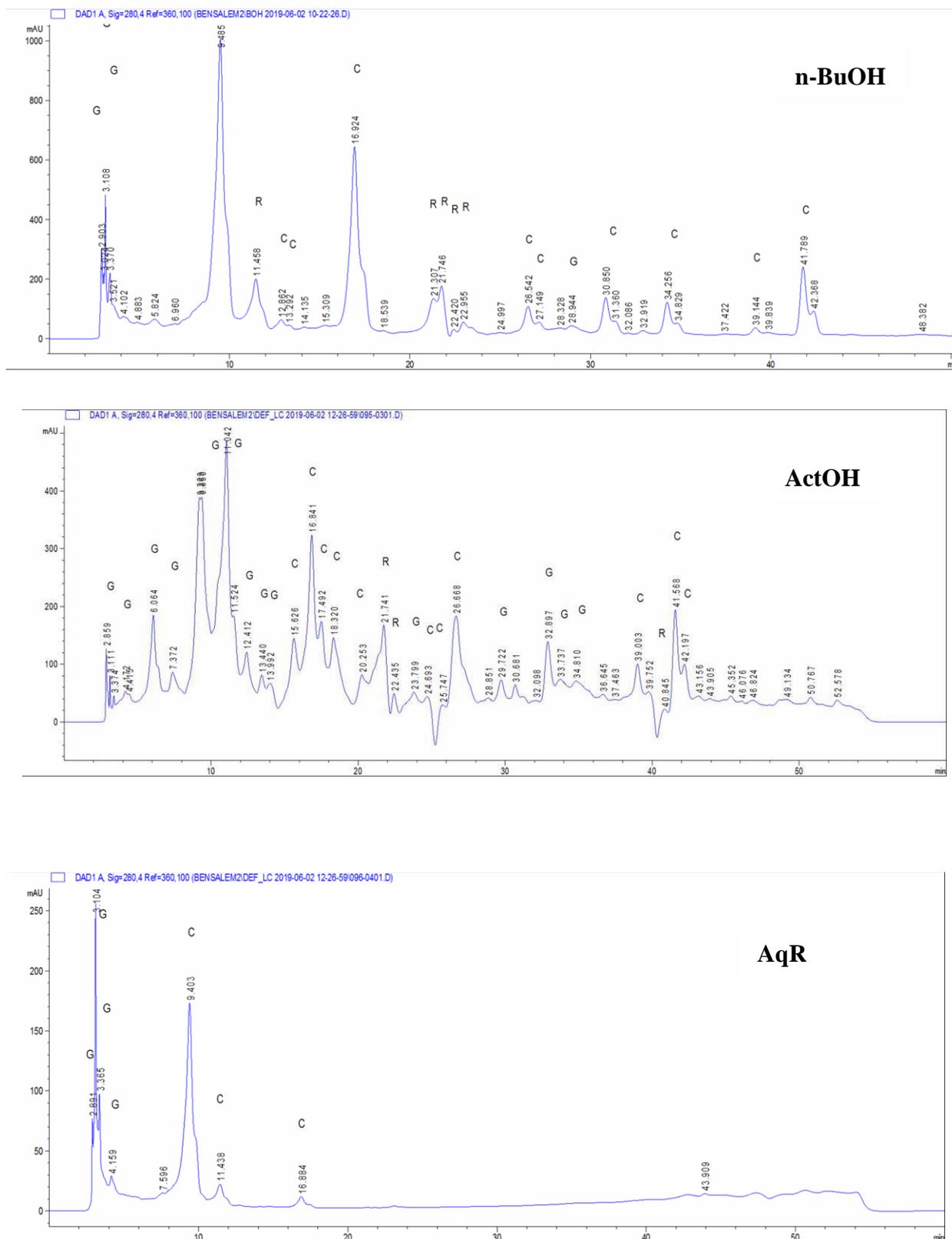
Les valeurs sont exprimées par gramme d'extrait et représentent la moyenne ± SD en triplicata.

AQL, extrait aqueux lyophilisé ; MeOH, extrait méthanolique ; PE, extrait éther de pétrole ; ActOH, extrait acétate d'éthyle ; n-BuOH, extrait n-butanolique ; AqR fraction, fraction aqueux résiduelle.

GAE, équivalents d'acide gallique ; QE équivalents de quercétine, RUE, équivalents de rutine ; CAE, équivalents d'acide caféique.

nd : non-déecté.





La figure 16 : Chromatogrammes HPLC-DAD des composés phénoliques des différents extraits de *Matricaria sp* détectés à 280 nm. C, dérivés hydroxycinnamiques ; G, dérivés hydroxybenzoïques ; R, flavonoïdes.

2. Les propriétés antioxydantes *in vitro*

La détermination du pouvoir antioxydant des extraits (MeOH, EP, ActOH, BuOH, AqL, AqR) de la plante a été réalisée par huit techniques différentes, *in vitro* (la capacité antioxydante totale, Chélation du fer, le piégeage des radicaux libres DPPH[•], ABTS^{•+}, GOR; Activité de piégeage des radicaux hydroxyles, Reducing power et CUPRAC).

2.1 Test du DPPH

Test de piégeage du radical libre DPPH : L'activité antioxydante des différents extraits de *Matricaria sp* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH[•]) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Kandouli *et al.*, 2017).

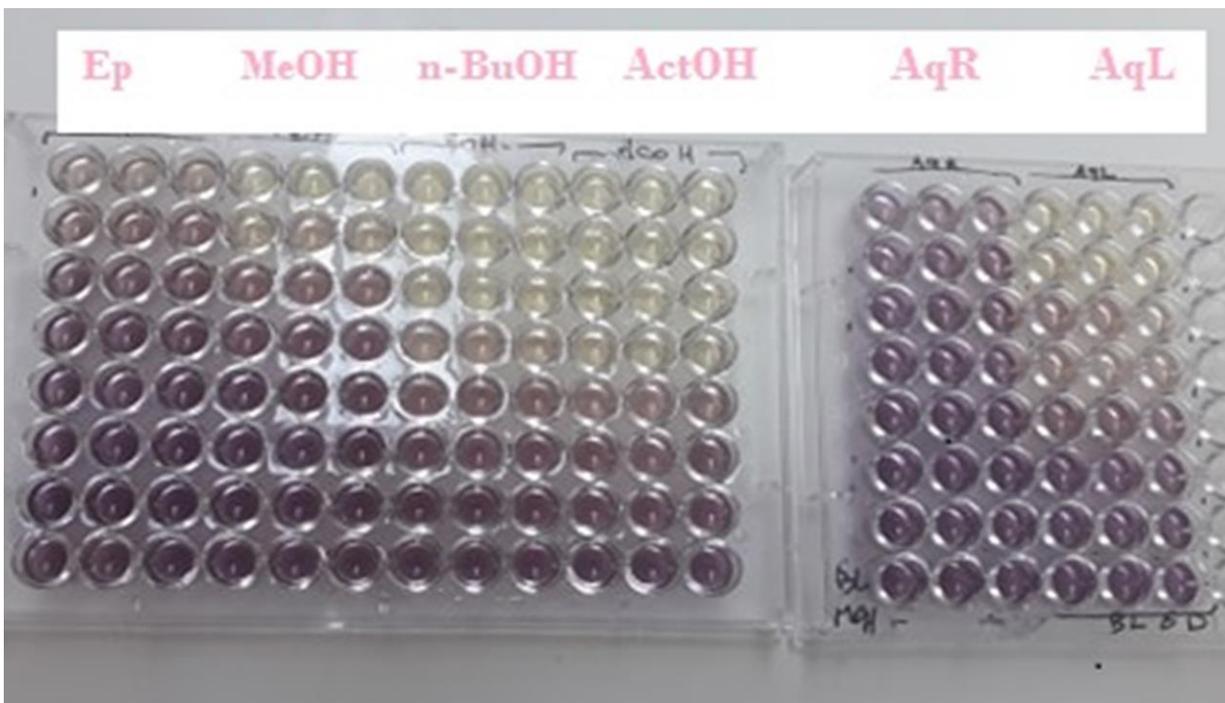


Figure 17 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (DPPH).

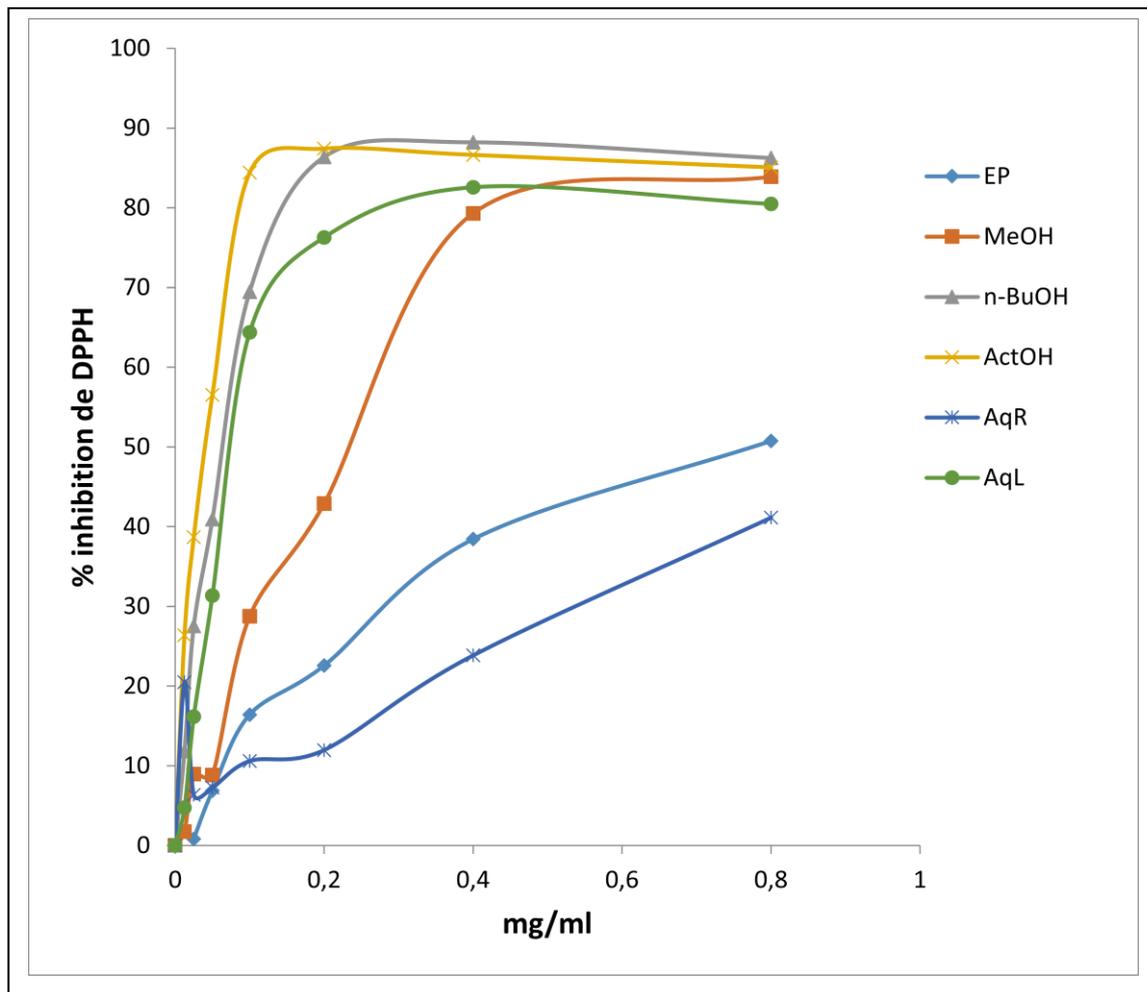


Figure 18 : l'activité de piégeage des radicaux DPPH· du *Matricaria sp.*

La figure 18 : montre les courbes de dose réponse des activités d'élimination des radicaux de DPPH· des extraits de *Matricaria sp.* Les courbes révèlent que les extraits étudiés contiennent des antioxydants par leur effet inhibiteur du DPPH. Parmi les six extraits testés, tous ont montré un taux d'inhibition variantes d'un extrait à l'autre de manière dépendante de la concentration.

Les résultats du DPPH montrent que l'extrait acétate d'éthyle (ActOH) a une activité antiradicalaires la plus élevée avec une valeur $IC_{50}(42 \pm 13,50 \text{ mg/ml})$, suivi par l'extrait *n* BuOH ($64 \pm 1.2 \text{ mg/ml}$), l'extrait AqL ($76 \pm 0.7 \text{ mg/ml}$) et l'extrait méthanolique ($257 \pm 2.5 \text{ mg/ml}$). Il est admis que plus la valeur de l' IC_{50} est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis des radicaux libres. Par contre les extraits EP, AqR possèdent une faible activité antiradicalaires avec des

valeurs IC_{50} ($702 \pm 6.5 \text{ mg/ml}$; $> 800 \text{ mg/ml}$) respectivement .L'activité de piégeage radicalaire des extraits était efficace dans l'ordre $\text{ActOH} > \text{BuOH} > \text{AqL} > \text{MeOH} > \text{EP} > \text{AqR}$.

L'activité de piégeage radicalaire dans les extraits sont concordance avec les activités trouvées par (Bouden *et al.*, 2018), dans l'extrait MeOH et aqueux de *Matricaria Pubescens*. Cependant, nos résultats de l'activité de piégeage radicalaire dans ActOH et BuOH sont plus élevés que l'activité trouvée par (Bouziane *et al.* , 2016). Les IC_{50} constatés dans cette étude sont supérieurs à ceux de (Matrouh-Amir *et al.*, 2015), dont la valeur de l' IC_{50} DPPH est de 4 mg/ml dans l'extrait MeOH.

L'effet scavenger du radical DPPH[•] a été déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydants végétaux. Notre résultat représente la forte corrélation entre l'activité antioxydante et la concentration en polyphénols. Ces résultats suggèrent que la nature physico-chimique des composés phénoliques individuels, y compris les flavonoïdes glycosides dans les extraits, pourrait être le principal contributeur à l'activité antioxydante (Khezzar *et al.*, 2019).

2.2. Piégeage de l'ABTS^{•+}

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits préparés à partir de *Matricaria sp* en utilisant la méthode basée sur la capacité d'une substance à piéger le radical ABTS^{•+}.

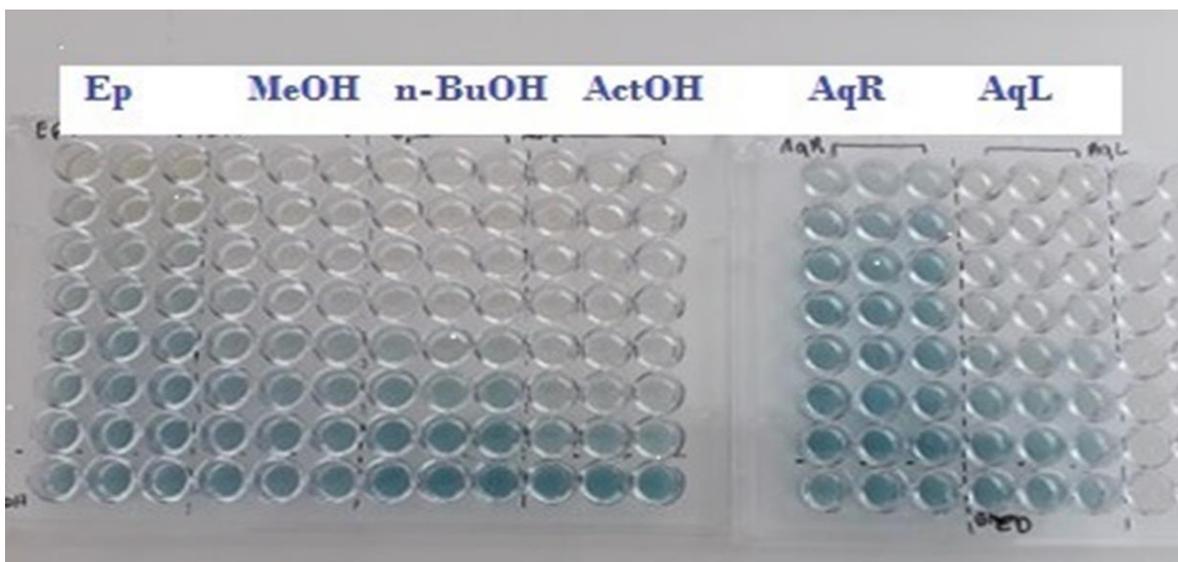


Figure 19 : profil microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).

D'après les résultats représentés dans (**la figure 20**) illustrée au-dessous, l'extrait ActOH possède un potentiel de piégeage du radical ABTS^{•+} plus important qui est estimé par une IC₅₀ (0,017 ±0,005 mg/ml). Alors que, les extraits BuOH, AqL et MeOH ont enregistré une activité modérée par rapport au l'extrait ActOH avec des valeurs IC₅₀ (0,036±0,005 mg/ml ; 0,04±0,004mg/ml et 0,047±0,002mg/ml) respectivement.

Tandis que AqR présente la plus faible capacité de piégeage du radical ABTS^{•+} par rapport au ActOH et aux autres extraits avec IC₅₀ (0,645±0,007 mg/ml). L'activité de piégeage radicalaire des extraits était efficace dans l'ordre ActOH>BuOH≥ AqL≥ MeOH> EP >AqR.

L'activité de piégeage radicalaire ABTS^{•+} dans les extraits sont concordance avec les activités trouvées par (**Dudonné et al., 2009**) dans l'extrait aqueux de *Matricaria recutita*. Cependant, nos résultats de l'activité capacité de piégeage du radical ABTS^{•+} dans les extraits sont plus élevés que l'activité trouvée par (**Metrouh-Amir et al., 2015 et Laouini et al., 2016**) dans extraits aqueux et méthanolique de *Matricaria Pubescens*.

L'activité de l'extrait ActOH pourrait être expliquée par sa richesse en composé phénolique par rapport aux autres extraits qui sont responsables de leur propriété antioxydante.

La figure 20 présente le pourcentage d'inhibition des différents extraits de la plante *Matricaria sp.*

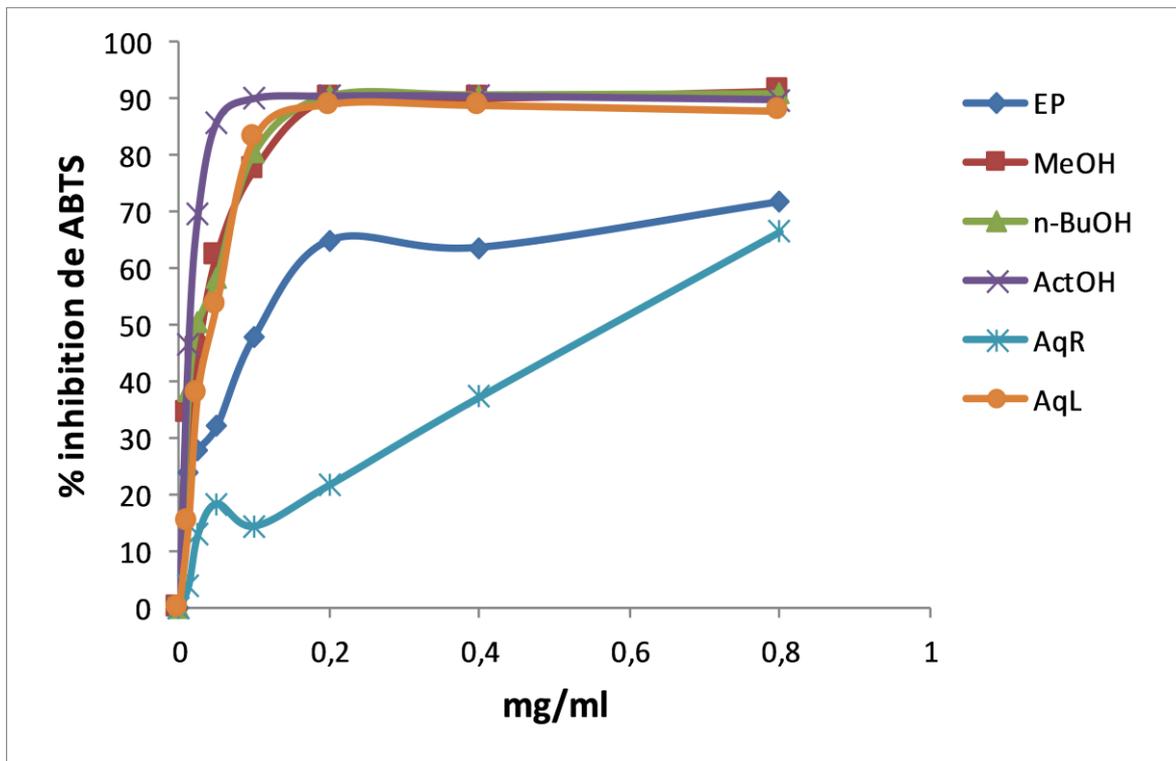


Figure 20 : l'activité de piégeage des radicaux ABTS^{•+} du *Matricaria sp.*

2.3 Galvinoxyl radical (GOR)

Ce test est basé sur la mesure de la capacité de piégeage des antioxydantes vis-à-vis du radical Galvinoxyl stable (Gox[•]). Le radical libre Gox[•] est réduit en GoxH lorsqu'il réagit avec des donneurs d'hydrogène. La diminution de la concentration en radicaux Galvinoxyl a été contrôlée en mesurant l'absorbance à 428 nm avec un spectrophotomètre.

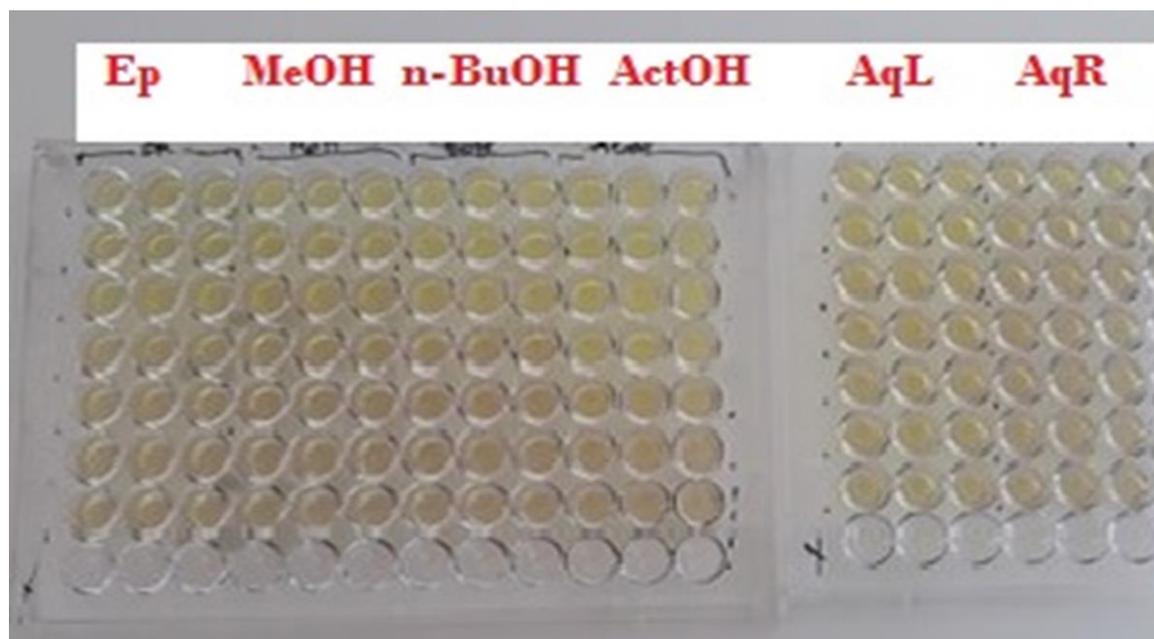


Figure 21 : profil de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (GOR).

(La figure 22) montre l'activité de piégeage des radicaux Galvinoxyl de *Matricaria sp.* Nos résultats montrent que l'activité de piégeage du radical Galvinoxyl des extraits ActOH, BuOH, AqL et MeOH présentent un effet antioxydant remarquable vis à vis du radical Galvinoxyl avec des valeurs de l'IC₅₀ (0.015 ± 0.006 mg/ml ; 0.038 ± 0.008 mg/ml ; 0.064 ± 0.004 mg/ml et 0.093 ± 0.004 mg/ml) respectivement. Cependant, l'extrait AqR a montré une faible activité antiradicalaires du GOR (IC₅₀ = 0.628 ± 0.004 mg/ml). L'activité de piégeage radicalaire des extraits était efficace dans l'ordre ActOH > BuOH > AqL > MeOH > EP > AqR. Une bonne corrélation a été trouvée entre les données de GOR et les teneurs en hydroxycinnamique. Ceci pourrait expliquer les activités plus élevées observées dans les extraits d'acétate d'éthyle et de butanol qui sont enrichis en constituants hydroxycinnamique ayant des propriétés antioxydantes connues (Shahidi & Chandrasekara 2010).

L'activité antioxydante des extraits de notre plante a été déterminée par les tests de DPPH et d'ABTS et GOR les trois ayant confirmé leur pouvoir scavenger de radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes.

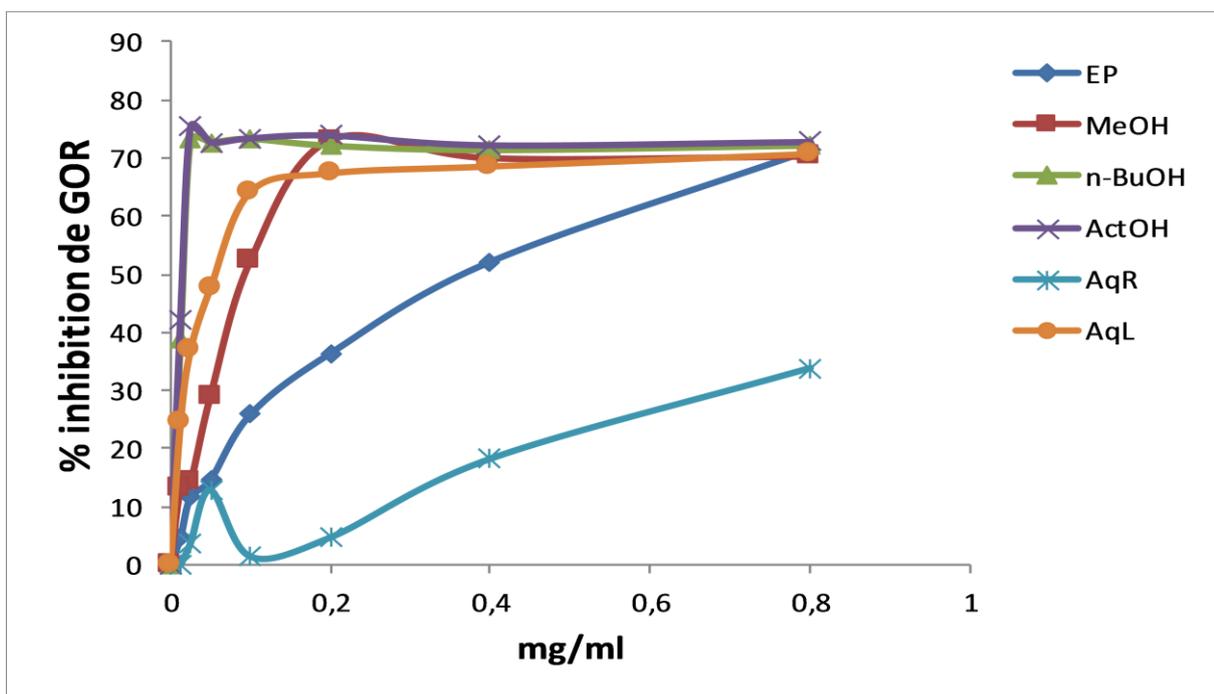


Figure 22 : L'activité de piégeage des radicaux Galvinoxyl de *Matricaria sp.*

2.4 Activité de piégeage des radicaux hydroxyles

La technique de mesure de l'inhibition de dégradation du désoxyribose adoptée dans cette étude est celle de (Aruoma *et al.*, 1987; Halliwell *et al.*, 1987) en utilisant un dosage radiomimétique (avec EDTA) et spécifique au site (sans EDTA) de désoxyribose dans un tampon phosphate, pH 7,4.



Figure 23 : Profil de test piégeage HO• .

Les résultats de l'activité l'inhibition de dégradation du désoxyribose des extraits hydrosolubles de la plantes étudiées *Matricaria sp* sont représentés dans l'histogramme .le Mannitol a été utilisé comme standard.

Les résultats enregistrés ont montré que les extraits AqL, BuOH et AqR sont dotés d'un pouvoir antioxydant à différentes proportions et une plus grande activité observée dans les conditions radiomimétiques. Le pouvoir de piégeage de HO• libres estimé par dosage radiomimétique entre les extraits est dans l'ordre suivant : butanol> AQL> fraction AR (**figure24A**).On a remarqué que le pouvoir de piégeage de HO• libres pour les extraits était supérieur à celui des standards pour toutes les concentrations utilisées dans les deux conditions (**figure 24A et 24 B**). Pour une concentration de 10 mg/ml le standard a révélé un pourcentage d'inhibition de HO• de $(32,71\% \pm 1,02)$ dans le dosage radiomimétique et de $(19,46\% \pm 0,45)$ dans le dosage spécifique au site, cette activité était plus faible et loin que celle des extraits dans les deux conditions.

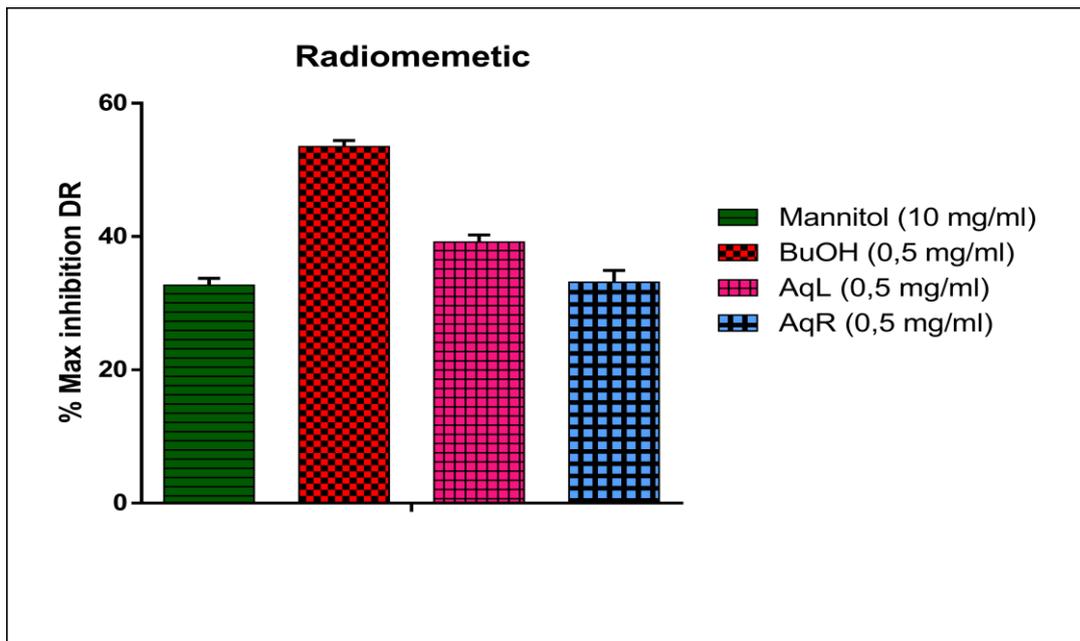


Figure 24 A : L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles des extraits hydrosolubles de *Matricaria sp* dans des conditions radiomimétiques.

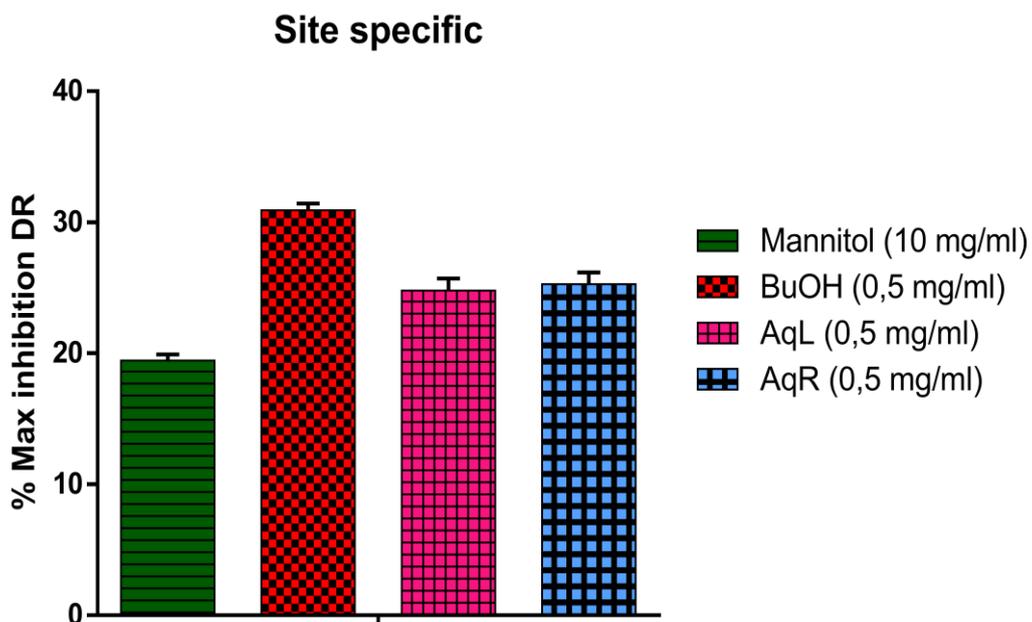


Figure 24 B : L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles des extraits hydrosolubles de *Matricaria sp* dans des conditions spécifique au site.

On remarque que ce sont les extraits les plus riches en composés phénoliques qui ont montré l'activité antiradicalaires de HO[•] la plus forte, ce qui pourraient indiquer que le contenu en polyphénols des extraits de *Matricaria sp* sont responsables de cette activité. En effet, cette corrélation a été rapportée par plusieurs auteurs (Fellah et al., 2008).

2.5 Capacité Antioxydante Totale (TAC)

La capacité antioxydante totale de différents extraits de *Matricaria sp* a été évaluée par la méthode au phosphomolybdène. Cette activité a été estimée à partir de leur capacité à réduire le Phosphate-Mo (VI) en Phosphate Mo (V) et la formation ultérieure d'un complexe phosphate / Mo (V) de couleur bleu-vert à pH acide mesuré à 695 nm.

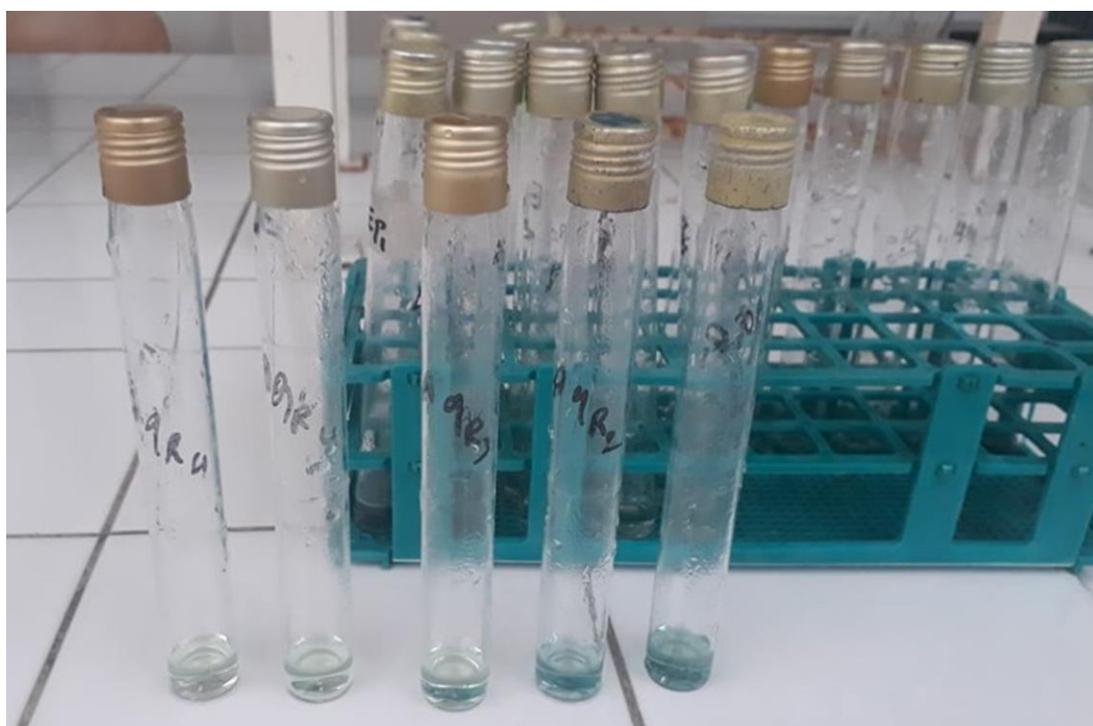


Figure 25 : profil de test de la capacité (TAC).

Les résultats obtenus avec les différents extraits ont montré des activités réductrices du réactif phosphomolybdate importantes (**Figure 26**). La cinétique de l'activité réductrice du réactif phosphomolybdate dépend de la concentration des extraits sachant que plus cette dernière est élevée plus le pourcentage d'inhibition augmente. La capacité la plus élevée est observée dans les extraits ActOH, *n*-BuOH, AqL et MeOH avec des valeurs d'absorbance de

(0.168) et (0.162) (0.16) et (0.152) respectivement à 0.05 mg/ml. L'extrait AqR présente une activité réductrice faible avec une densité optique de (0.0645) à la même concentration. Des études antérieures ont effectuées sur une autre plante appartenant à la famille des Asteraceae, (El Abed *et al.*, 2014), ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* montré une activité réductrice du molybdate inférieure à celle obtenue pour *Matricaria sp* de la présente étude. Ce pouvoir antioxydant observé dans les six extraits peut être dû essentiellement à la richesse des extraits en polyphénols particulièrement les flavonoïdes, et aussi en fonction des structures chimiques des molécules bioactives.

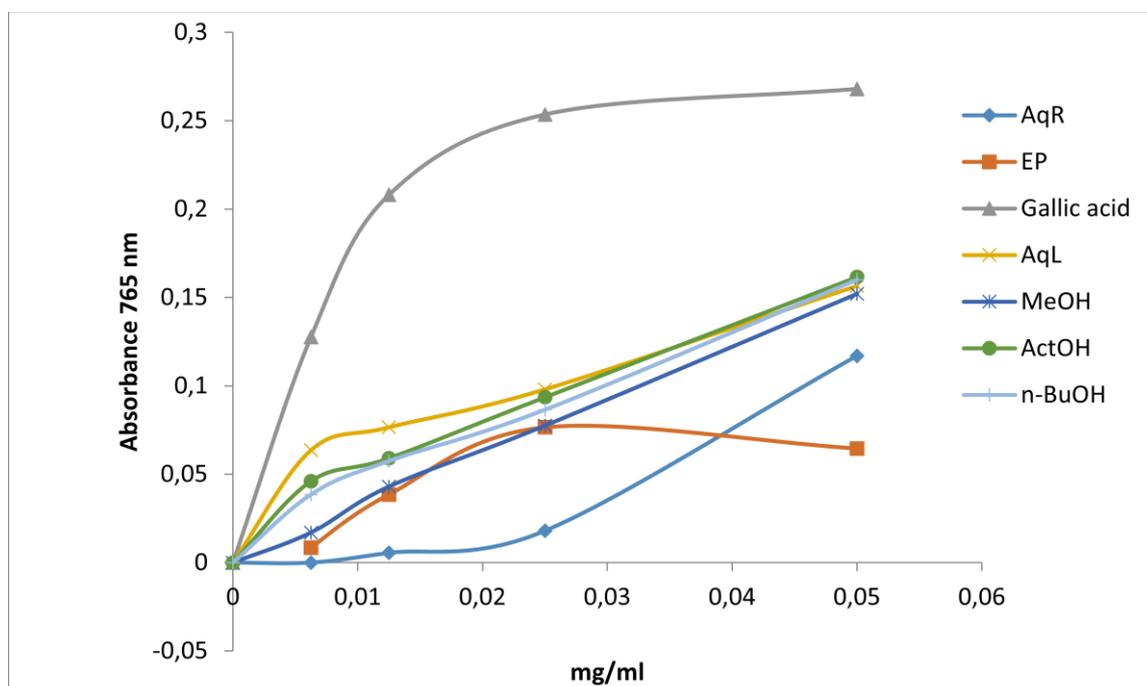


Figure 26 : La capacité antioxydante totale de différents extraits de *Matricaria sp.*

2.6 Test reducing power

Ce test est basé principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} , cette réaction se manifeste par l'apparition de la couleur bleu mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur.

Les courbes représentent le pouvoir réducteur des différents extraits de *Matricaria sp* en fonction de leurs concentrations. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant. Tous les extraits montrent une forte activité à réduire le fer. La capacité la plus élevée est observée dans les extraits ActOH et n-BuOH avec des valeurs d'absorbance de (0.31 et 0.25) respectivement, suivie par AqL et MeOH (0.2 et 0.17) à 0.2 mg/ml. L'extrait EP et AqR présentent l'activité la plus faible à réduire le fer qui ne dépasse pas une densité optique de (0.15) à la même concentration. Le classement de RPC dans ces extraits est comme suit : ActOH > BuOH > MeOH > AqL > EP > AqR.

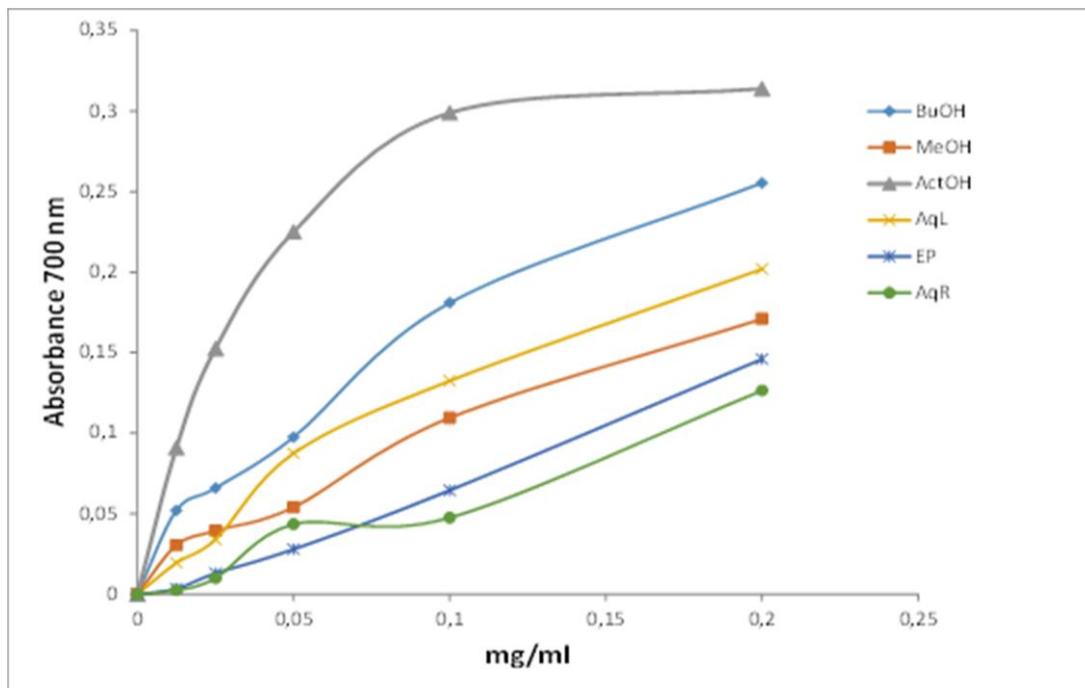


Figure 27 : Le pouvoir réducteur des différents extraits de *Matricaria sp*.

L'activité pouvoir réducteur dans les extraits sont concordance avec les activités trouvées par (Bouziane *et al.* , 2016) dans l'extrait ActOH de *M. Pubescens* et par (Hajaji, *et al.* ,2017) dans les extraits ActOH de *M. recutita*.

Les capacités réductrices des composés phénoliques et leurs classes individuelles (flavonoïdes, tannins hydrolysables et tannins condensés) pourrait être expliquées par la nature et/ou la quantité de ses composés dans les différents extraits de la *Matricaria sp*. Les interactions de ces composés entres eux et avec d'autre substances de nature non phénolique pourraient modifier le pouvoir antioxydant (Javanmardi *et al.*, 2003 ; Cai *et al.* , 2006).

2.7 Capacité antioxydante cuivrique réductrice (CUPRAC)

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante de différents extraits de *Matricaria sp* en utilisant la méthode CUPRAC qui est basé sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu^{2+} -Neocuproïne(NC), produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^+NC qui absorbe à 450 nm (Apak *et al.*, 2004).

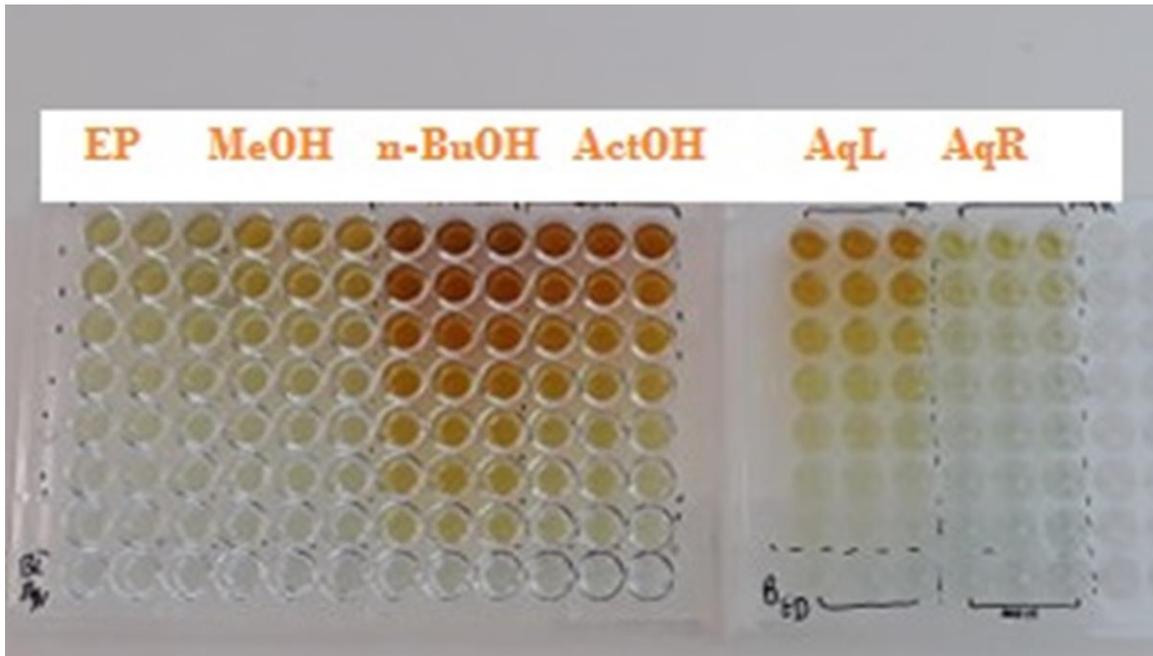


Figure 28 : profile de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (CUPRAC).

Ce test est colorimétrique et le réactif passant du bleu vert au jaune dans la présence d'antioxydante, ce qu'il est évident dans notre résultat qui est illustré (la figure 29).

Tous les extraits montrent une forte activité inhibitrice du CUPRAC. La capacité la plus élevée est observée dans les extraits n-BuOH et ActOH avec des valeurs d'absorbance de (4.25 et 3.9), respectivement, suivie par AqL (1.8) et MeOH (1.7) à 0.8 mg/ml. L'extrait AqR présente l'activité la plus faible à réduire le cuivre qui ne dépasse pas une densité optique de (0.5) à la même concentration. Le classement du CUPRAC dans ces extraits est comme suit : BuOH>ActOH>MeOH \geq AqL> EP>AqR.

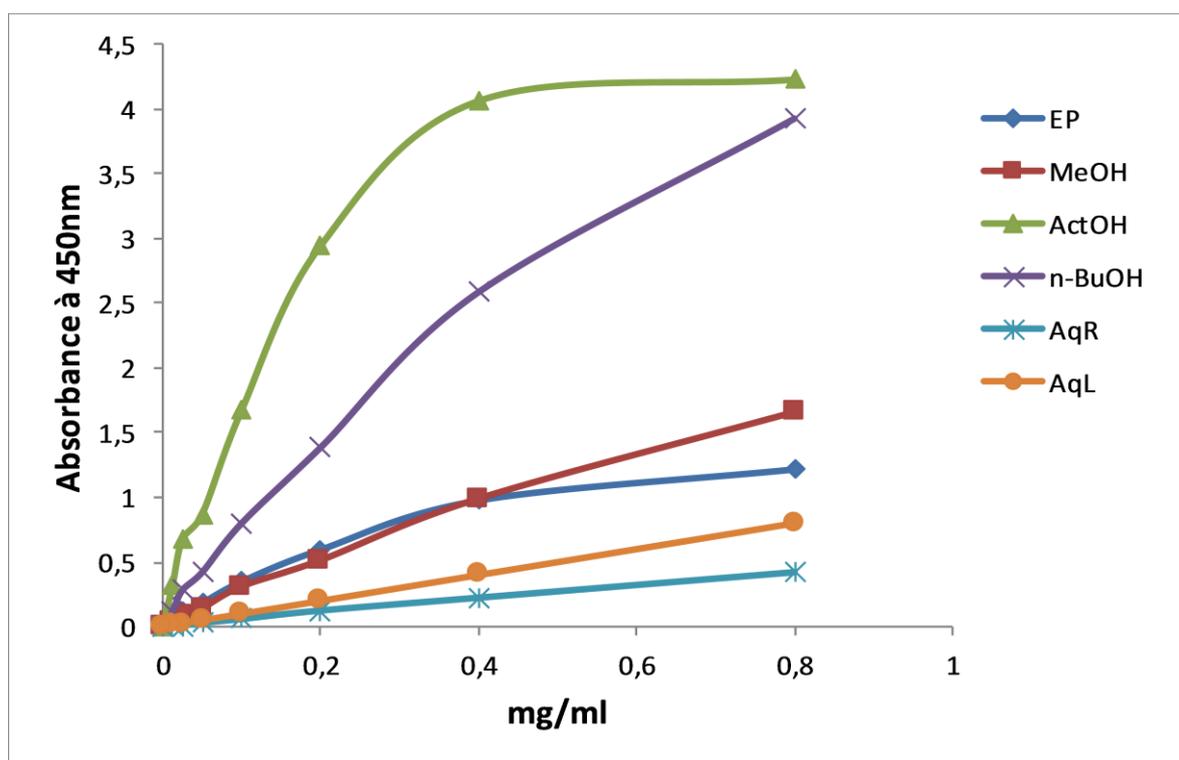


Figure 29 : l'activité antioxydante de différents extraits de *Matricaria sp* en utilisant la méthode CUPRAC.

L'activité inhibitrice du CUPRAC dans les extraits sont concordance avec les activités trouvées par (Colak *et al.*, 2017) dans l'extrait aqueux de *Matricaria recutita* et par (Berker *et al.*, 2010) dans l'extrait aqueux de *Matricaria sp*. La présence des composés phénoliques dans les extraits d'une plante contribue de manière significative à leurs propriétés antioxydantes, c'est ce qui conduit selon (Bidie *et al.*, 2011) à conclure que les plantes qui possèdent une bonne activité antioxydante contiennent de fortes teneurs en groupements phénolique.

2.8 .Métal chélatant capacité (MCC)

Le test de chélation du ferre a été estimée selon la méthode de (Ambigaipalan *et al.*, 2016). La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} . Les résultats de l'activité réductrice des différents extraits des plantes étudiées *Matricaria sp* sont représentés dans (la Figure 30).

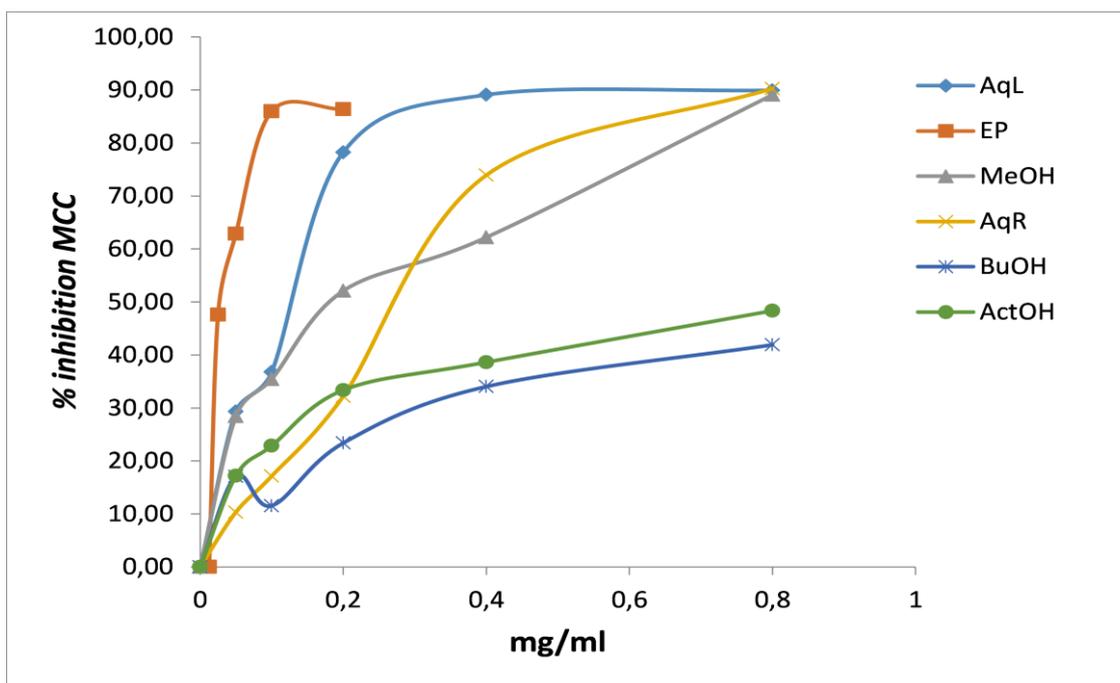


Figure 30 : Le pouvoir chélateur de différents extraits de *Matricaria sp.*

Les résultats obtenus indiquent que tous les extraits testés ainsi que le standard interfèrent d'une manière dose dépendante avec la formation du complexe (Fe^{2+} -Ferrozine), donc ces extraits possèdent une activité chélatrice de fer ferreux avant sa complexation avec la Ferrozine.

Tous les extraits montrent une forte activité à réduire le fer. La capacité la plus élevée est observée dans les extraits EP avec une valeur de l' IC_{50} (0.015 ± 0.001 mg/ml), suivie par AqL et MeOH (0.122 ± 0.016 mg/ml) et (0.187 ± 0.021 mg/ml) respectivement. Par contre les extraits ActOH et n-BuOH possèdent une faible activité avec des valeurs IC_{50} (0.587 ± 0.005 mg/ml) (800 mg/ml) respectivement. Le classement de MCC dans ces extraits est comme suit : EP > AqL > MeOH > AqR > ActOH > BuOH.

Globalement, les activités étaient faibles à modérées par rapport aux composés de référence. Une corrélation inverse a été observée entre l'activité réductrice de MCC et DPPH en accord avec les observations précédentes (Zhao *et al.*, 2008), suggérant que les extraits ayant une capacité MCC plus élevée pourraient avoir une activité de piégeage plus faible. Notamment, une corrélation négative a été trouvée entre MCC et la teneur en polyphénols et flavonoïdes déterminée par HPLC suggère que dans la plupart des extraits, les flavonoïdes peuvent être principalement sous forme de complexe métal-flavonoïde, avec une faible capacité

de chélation mais des propriétés antioxydantes accrues (Liu & Guo 2015). Plutôt que des conjugués glycosidiques.

3. Test d'inhibition de l'alpha-amylase

La surveillance des taux de glucose sanguin postprandial utilisant des inhibiteurs d'enzymes hydrolysant les carbohydrates provenant de sources naturelles est considéré comme une approche thérapeutique économiquement intéressante dans le traitement du diabète de type 2 puisque l'utilisation de drogues synthétiques est souvent associée à des effets indésirables gastro-intestinaux.

Dans notre étude, l'activité enzymatique de l' α - amylase a été mesurée à l'aide du substrat l'amidon. Nous avons néanmoins choisi l'amidon comme substrat essentiellement pour la commodité de réaliser le dosage par les méthodes calorimétrique.

Dans notre étude *in vitro* de nos extraits, l'activité enzymatique de l' α - amylase a été évaluée par l'utilisation de la méthode (G.Zengin *et al.*, 2014). De nombreux extraits de plantes médicinales ont été identifiés pour inhiber ces activités enzymatiques avec moins d'effets secondaires et des recherches sont toujours en cours (Akkarachiyasit *et al.*, 2011). Pour ce but, nous avons étudié l'effet de différent l'extraits de *Matricaria sp* enzyme sur l'alpha amylase.

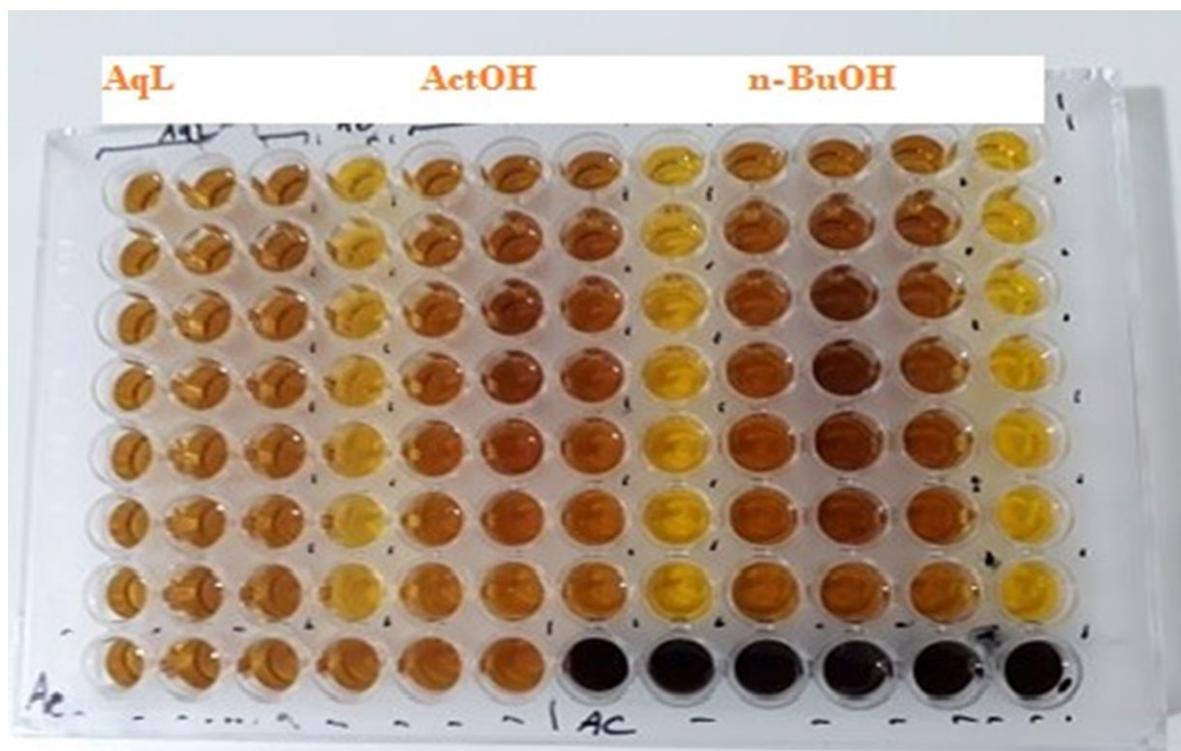
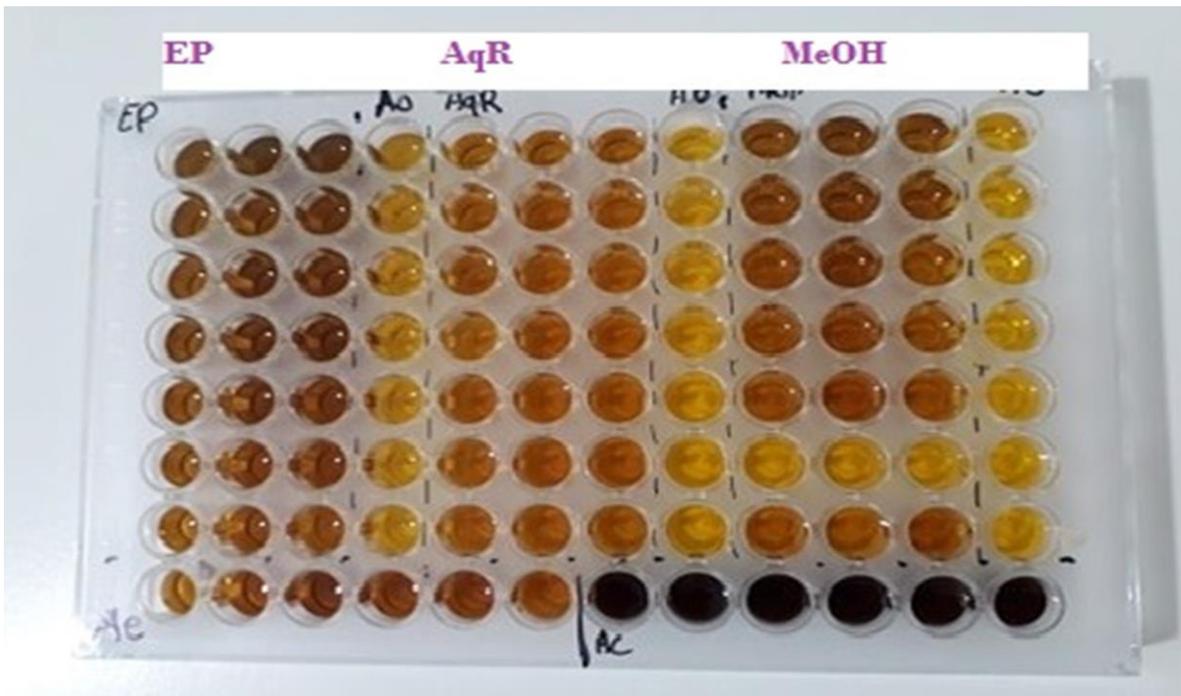
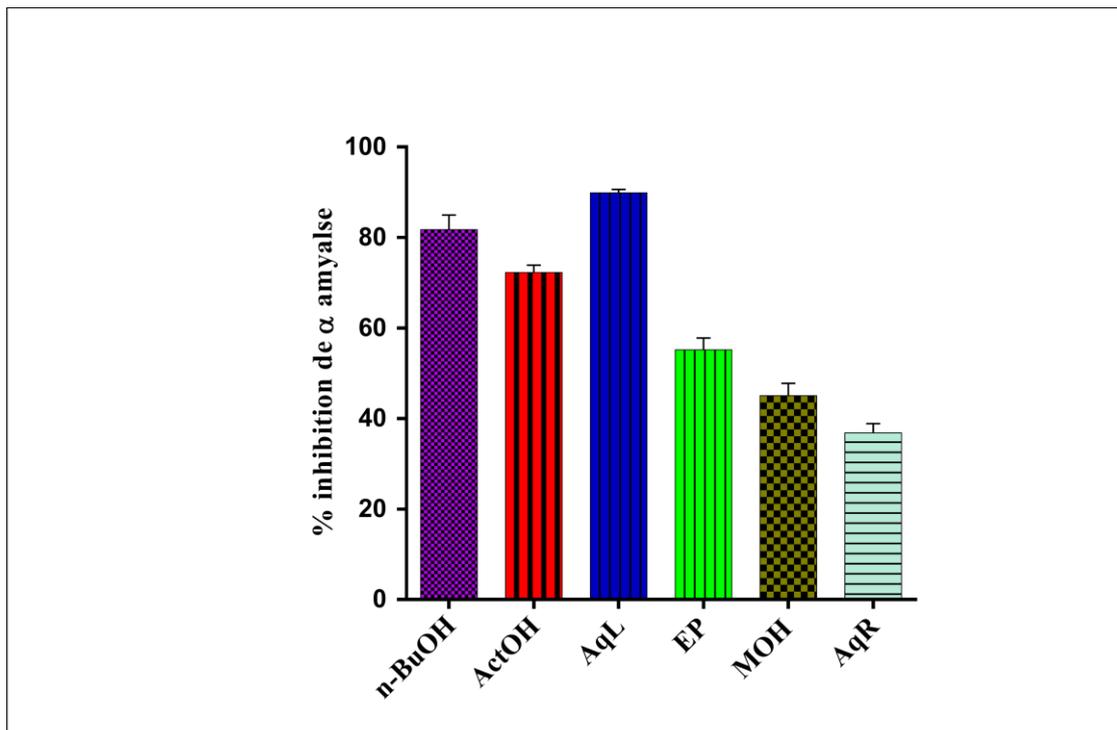


Figure 31 : profile de microplaque de L'activité inhibitrice de l' α - amylase.

Cette étude révèle que les parties aériennes de *Matricaria sp* inhibent efficacement l'enzyme α -amylase *in vitro*. D'après les résultats obtenus, l'activité inhibitrice a augmenté par l'augmentation des concentrations. Un fort pourcentage d'inhibition est obtenu avec AqL et *n*-BuOH ($88,87 \pm 0,7\%$; $81,87 \pm 3,2\%$ respectivement) à 0.8 mg/ml, suivi par ActOH avec un pourcentage d'inhibition de ($72,28 \pm 1,6\%$). Les extraits EP, MeOH et AqR possèdent une activité inhibitrice de l'alpha amylase moins importante à celle du AqL avec des valeurs de pourcentage d'inhibition de ($55,2 \pm 2,6$; $45,04 \pm 2,7$ et $36,85 \pm 2,05$) ; respectivement à la même concentration. Ce pouvoir inhibiteur peut être expliqué par le fait que les extraits butanolique et d'acétate d'éthyle possèdent des composés portant des groupements fonctionnels proches de ceux du substrat qui est l'amidon, ce qui a occupé le site actif de l'enzyme.

Les mécanismes réactionnels impliqués dans l'inhibition des enzymes α -amylases par les inhibiteurs d'origine végétales ne sont pas clairement compris. Mais il y a quelques suggestions que les flavonoïdes (flavanols, lutéoline et les anthocyanines) pourrait causer des changements conformationnels dans la structure de l'enzyme ou se lie à un site autre que le site actif de l'enzyme, se combine à l'enzyme libre ou au complexe substrat enzymatique et pouvant interférer avec l'action de tous les deux donnant un complexe enzyme-substrat inhibiteur inactif (Kim *et al.*, 2000 ; Akkarachiyasit *et al.*, 2011).

Il est également à noter, qu'une inhibition plus forte de l'activité de l' α -amylase a été rapportée pour AqL et le butanol contre les extraits de EP de feuilles de *Phyllostachys edulis* et les auteurs ont conclu que les niveaux élevés de flavonoïdes contenus dans les fractions polaires peuvent agir en retardant la digestion de l'enzyme carbohydate et en interagissant directement avec l'amidon (Yang *et al.*, 2014). Les résultats sont en relation avec les constituants flavonoïdes des quatre extraits actifs, une bonne corrélation était trouvée entre leur capacité d'inhibition de l' α -amylase et leurs TPC, TFC et contenu hydroxycinnamique. L'effet inhibiteur de l'acide cinnamique et chlorogénique et leurs dérivés sur l' α amylase et glucosidase est confirmé chez l'homme et le rat (Hengameh et Rajkumar, 2016 ; Adisakwattana, 2017).



La figure 32 : L'activité inhibitrice de l' α - amylase des différents extraits de *Matricaria sp.*

Conclusion et perspectives

Notre travail a été motivé d'abord, par le souci de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales de l'Algérie afin de faciliter l'accès des populations à des remèdes traditionnels améliorés à moindre coût. Mais aussi par la nécessité de la valorisation d'une plante d'Asteraceae algérienne, *Matricaria sp* par la recherche des composés qui peuvent avoir une utilisation thérapeutique. Il s'agit de renforcer la connaissance phytochimique de ces extraits de plante et de mettre en évidence des traceurs spécifiques pour cette plante en vue de l'utilisation ultérieure de ses extraits dans l'industrie pharmaceutique.

Au cours de ce mémoire, on a étudié la plante *Matricaria sp*, une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle dans le Sahara d'Algérie pour des vertus thérapeutiques. Malgré son importance biologique et médicinale, cette espèce a été très peu étudiée.

Deux aspects principaux sont visés par ce travail, le premier est l'aspect phytochimique de *Matricaria sp* qui consiste à diagnostiquer les extraits par des tests phytochimiques préliminaires et la technique de HPLC-DAD, et la quantification des polyphénols et flavonoïdes se fait par des méthodes spectrophotométrique. Le deuxième aspect est de nature biologique, qui a été mis en évidence par deux tests biologiques différents : un test antioxydant et antidiabétique.

La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les différents extraits de notre plante a révélé une richesse et variation du contenu en ces métabolites en fonction de la polarité du solvant. Ainsi l'analyse qualitative des extraits étudiés par Chromatographie liquide haute performance nous a permis la détection de trois grandes familles de polyphénols : les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydroxybenzoïques et les flavonoïdes. L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique, butanolique, acétate d'éthyle, éther de pétrole, aqueux résiduelle et aqueux lyophilisé de notre espèce a été évaluée *in vitro* à différents échelles par l'application de plusieurs tests : DPPH, ABTS, GOR, TAC, piégeage du radical hydroxyle, reducing power, CUPRAC ainsi que le test MCC.

L'étude de l'évaluation antioxydante a montré que cette espèce avait un très fort effet scavenging vis-à-vis des radicaux DPPH, ABTS, GOR, et le radical hydroxyle ainsi qu'un très bon pouvoir réducteur face aux ions de fer, de cuivre et de Mo (VI). Ces propriétés sont en

corrélation avec la teneur en phénols totaux et les flavonoïdes. Cette corrélation peut être attribuée à la quantité et la nature des composés polyphénols qui sont responsables de l'activité antioxydante.

En outre, l'activité antidiabétique a été déterminée par un test basé sur l'inhibition de l'enzyme alpha amylase. Les résultats indiquent que tous les extraits possèdent un potentiel inhibiteur de l'enzyme, suggérant l'intérêt thérapeutiques de ces extraits et justifie l'utilisation de l'extrait aqueux de cette plante étudié dans la médecine traditionnelle Algérienne comme source pour le développement de nouveaux médicaments.

Outre ces études expérimentales, les résultats encourageant de cette mémoire amèneront sans doute à effectuer d'autres travaux dans le but de :

- ✓ Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.
- ✓ Elargir le panel des activités antioxydantes *in vivo*.
- ✓ Etudier *in vitro* et *in vivo* du pouvoir antidiabétique de la plante.
- ✓ Déterminer de l'effet toxique des différents extraits *in vitro* et *in vivo*.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques de la plante : anticancéreuse et anti-inflammatoire.

Références bibliographiques

- Alberti, K. G. M. M. & Zimmet, P. F. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a who consultation. *Diabetic Medicine*, (15), 539-553.
- Abayomi SOFOWORA. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Académie suisse des sciences naturelles. Paris : KARTHALA, éditions Diffusion, 1996. 375 P.
- Abderrazak M. & Joël R., 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris. 177 p.
- Adisakwattana S (2017). Cinnamic Acid and Its Derivatives: Mechanisms for Prevention and Management of Diabetes and Its Complications. *Review Nutrients*, 9(163): 1-27.
- Aighewi, B.A., Akoroda, M., Asiedu, R., 1998. Preliminary studies of seed yam production from minisetts with different thicknesses of cortex parenchyma in white yam (*Dioscorea rotundata*), 6 th Symposium of the ISTRC-AB, Lilongwe (Malawi), pp 22-28.
- Akagawa M., Suyama K. 2001. Amine oxidase-like activity of polyphenols Mechanism and properties. *Eur. Journal of Biochemistry*, 268: 1953-1963.
- Akkarachiyasit S, Yibchok-Anun S, Wacharasindhu S and Adisakwattana S. (2011). In Vitro Inhibitory Effects of Cyandin-3-rutinoside on pancreatic α -Amylase and Its Combined Effect with Acarbose. *Molecules*, 16, 2075-2083.
- Akrouf, A., Chemli, R.C., Chrief, Hammami M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour and Fragrance*, 16, 337-339.
- Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H., 2008. Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 – 274.
- Ambigaipalan P., de Camargo A. C., & Shahidi F. (2016) Phenolic Compounds of Pomegranate Byproducts (Outer Skin, Mesocarp, Divider Membrane) and Their Antioxidant Activities. *J. Agric. Food Chem* 64: 6584-6604.
- . Aouadhi. S. 2010. Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en toxicologie. Faculté de Médecine de Tunis.
- Apak R., Guclu K., Ozyurek M., & Karademir S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability

in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (52): 7970–7981.

- Aruoma O. I., Grootveld M., & Halliwell B. (1987) the role of iron in ascorbate dependent deoxyribose degradation. Evidence consistent with a site-specific hydroxyl radical generation caused by iron ions bound to the deoxyribose molecule.. *nJ.Inorg.Biochem.* 29: 289-299.
- Aruoma O. I., Grootveld M., & Halliwell B. (1987) The role of iron in ascorbate dependent deoxyribose degradation. Evidence consistent with a site-specific hydroxyl radical generation caused by iron ions bound to the deoxyribose molecule.. *J.Inorg.Biochem.* 29: 289-299.
- Atmani, D., Chaher, N., K, Ayouni., Berboucha, M. Antioxidant capacity of *Pistacia lentiscus* and *Fraxinus angustifolia* extracts and their fractions. *Planta Med*, 2011, vol. 77, pp. 1407-1407.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villar-Rodríguez, J. A., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J. E. and González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Res. Int.* 44(7) :1866–1874.
- Azadbakht M, Semnani K, Khansari N. The essential oils composition of *Achillea wilhelmsii* C. Koch leaves and flowers. *J Med Plan.* 2003 ; 2(6):55–59.
- Baba aissa F., 2000. Encyclopédie des plantes utiles. p : 2-3.
- Baborun, T. (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food. Agr. Res. Coun, Réduit. Mauritius, p 83.
- Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99 : 191–203.
- BELKHEIRI, N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de Doctorat : Université de TOULOUSE.
- Bellakhdar J., (1997). Médecine arabe ancienne et savoir populaire, La Pharmacopée Marocaine et Traditionnelle, Ibis Press, France.
- Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology.* 35: 123.

- Benhouhou S., « A guide to medicinal plants in North Africa » 2005, éd. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation. Malaga, Spain. 7-8.
- Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989) Bactériologie : bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.
- Bergogne-Berezin E., Dellamonica P., 1995. Antibiothérapie en pratique clinique. Ed Masson, Paris, 486 p.
- Bianco A., Chiacchio M.A., Grassi G., Iannazzo D., Piperno A et Romeo R. (2006). Phenolics compounds of *Olea europaea* : Isolation of new tyrosol and hydroxytyrosol derivatives. Food Chemistry. 95: 562-565.
- Bidie A. dit Philippe., N'Guessan B.B., Yapo A.F., N'Guessan J.D et Djaman J.A. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Science and nature, 8(1) : 1-11.
- Bidie A. dit Philippe., N'Guessan B.B., Yapo A.F., N'Guessan J.D et Djaman J.A. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Science and nature, 8(1) : 1-11.
- Bohlmann, J. and Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *Plant J.* 54, 656-669.
- Bouden Ismail, Etude de l'activité antiarthritique, antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Matricaria Pubescens*, thèse doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (2018).
- Boudieb Kaissa, Sabrina Ait Slimane - Ait Kaki, Hakima Oulebsir-Mohandkaci & Amel Bennacer. Phytochemical Characterization and Antimicrobial Potentialities of Two Medicinal plants, *Chamaemelum nobile* (L.) All and *Matricaria chamomilla* (L.). International Journal of Innovative Approaches in Science Research, Volume 2, 2018, pp133.
- Bouziane Mebarka, Mahfoud Hadj-Mahammed, Karima Dehak, Nadi Oussameur, Chahrazed Ksikis, Fatima Benzaoui and Ahlem Houari. Antioxidant and antibacterial properties of *Brocchia cinerea* (Vis.) and *Matricaria pubescens* (Desf.) ethyl acetate extracts and their fractions. Der Pharma Chemica, 2016, 8(17), p 236-237.
- Bruneton J (2015) Pharmacognosie (5^e Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. 1504pp.
- Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

- Bruneton, J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Editions TEC & DOC, 3ème édition, PP 783- 785.
- Burnett BP, Jia Q, Zhao Y, Levy RM. A medicinal extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* acts as a dual inhibitor of cyclooxygenase and 5 lipoxygenase to reduce inflammation. *J Med Food*. 2007;10:442-51.
- Cai Y.Z., Sun M., Xing J., Q. Luo, Corke H. 2006. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78:2872-2888.
- Cassileth BR, Rizvi N, Deng G, et al. Safety and pharmacokinetic trial of docetaxel plus an *Astragalus*-based herbal formula for non-small cell lung cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2009;65:67–71.
- Catelan S.C., Belentani R.M., Marques L.C., Silva E.R., Silva M.A., Caparroz-Assef S.M., Cuman R. K. N., Bersani-Amado C. A. (2006). The role of adrenal corticosteroids in the anti-inflammatory effect of the whole extract of *Harpagophytum procumbens* in rats *Phytomedicine*. 13: 446-451.
- Chanh, p. H., ifansyah, n., chahine, r., mounayar-chalfoun, a., gleye, J. and MOULIS, C., 1986, Comparative effects of total flavonoids extracted from *Ribes nigrum* leaves, rutin and isoquercitrin on biosynthesis and release of prostaglandins in the ex vivo rabbit heart. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Medicine*. June 1986. Vol. 22, no. 3, p. 295–300.
- Chauhan, A.S., Negi, P.S. and Ramteke, R.S. (2007) Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seeds. *Fitoterapia*, 78(7-8), 590-592.
- Clifford M.N. (1999). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- Colak nesrin , Huseyin Inceer, Jiri Gruz, Miroslav Strnad, Sema Hayirlioglu-Ayaz, Nursen Aksu-Kalmuk 1 and Faik Ahmet Ayaz. Antioxidant Capacity of Phenolics in Some Representatives Of The Tribe Anthemideae (Asteraceae) From Turkey. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017 ; Vol. 8(8) : 3265-3277.
- Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W.,1998. Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry* 48: 647 - 650.
- Cowan.M.M.(1999). Plant products as antimicrobial agents .*Clinical microbiology reviews*.,12 (4) : 564-570.

- D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4) : 348-361.
- Daglia M. (2011) polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology* . 23 : 1-8.
- Dalali Isfahani L, Monajemi R, Amjad L. Cytotoxic effects of extract and essential oil leaves of *Achillea wilhelmsii* C. Koch on colon cancers cells. *Exp Anim Biol*. 2013;1(3):1–6.
- Daneshfar A., Ghaziaskar H. S., & Homayoun N. (2008) Solubility of gallic acid in methanol, ethanol, water, and ethyl acetate. *J.Chem.Eng.Data* 53: 776-778.
- De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T., 2006. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A* 1112: 31 – 63.
- Deaton CHM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*, 2003 ; 2(3) : 278-91.
- Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (Poly)Phenolics in human health : Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013 ; 18(14) : 1818-1892.
- Dewick, P. M. (1999). The biosynthesis of C5–C25 terpenoid compound. *Nat. Prod. Rep.* 16, 97-130.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4): 654-660.
- Druzyńska B., Stepnińska A. et Wołosiak R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 6: 27-36.
- Dudonne Stéphanie, Xavier Vitrac, Philippe Couti`Ere, Marion Woillez, And Jean-Michel M`Erillon. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, p1770.
- Duwiejua M, Zeitlin I.J (1993). Plants as source of anti-inflammatory substances. In : *Drugs from Natural products : Pharmaceuticals and Agrochemicals*. Harvery AL. Eds, Taylor et francis (Royaume-Uni). Pp : 153.

- Dykes L., Rooney LW. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44: 236 - 241.
- Ece A, Gürkan F, Celik F, Boşnak M, Yel S, Balik H, Erel O. Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clin Biochem*, 2007 ; 40(9-10) : 634-9.
- Eddouks M., Ouahidi M. L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., & Lemhadri A. (2007) L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 5: 194-203.
- El Abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M.N. et Ben hadj Ahmed S. (2014). Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. *International journal of pharmaceutical research and bioscience*, 3: 770-789.
- Erlund I., Koli R., Alfthan G., Marniemi J., Puukka P., Mustonen P., Mattila P., Jula A. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008 ; 87:323–33.
- Faivre Cl, Lejeune R, Staub H, Goetz P. Zingiber officinale Roscoe. *Phytothérapie*, 2006 ; 4(2) : 99-102.PHOTO
- 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. *Comptes Rendus Biologies*. 331:372-379.
- Fattorusso W. ; Ritter. O. (2001). *Vademecum cliniques, Du diagnostic au traitement*. 16ème édition Masson m, Italie. P 1915.
- Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G. and Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: A review. *Molecules*. 16 :1486–1507.
- Fleurentin J. L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes. *Société Française d'Ethnopharmacologie. Hegel Vol. 2 N° 2 – 2012*. Cet article a été publié dans *Biofutur*, n°290, juillet/août 2008, 28-31.
- Geetha, S., Sai Ram, M., Mongia, S.S., Singh, V., Ilavazhagan, G. and Sawhney, R.C. (2003) Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium(VI) induced oxidative stress in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 247-251.

- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M., Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. and Food Chemist.* 53 (2005) 1370-1373.
- Gonzalez-Paramas A.M., Santos-Buelga C., Duenas M. and Gonzalez-Manzano S. 2011. Analysis of flavonoids in foods and biological samples. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **11**: 1239–55.
- Gordanian B, Behbahani M, Carapetian J, Fazilati M. Cytotoxic effect of *Artemisia absinthium* L. grown at two different altitudes on human breast cancer cell line MCF7. *Pajouhesh Dar Pezeshki*. 2012; 36:124–131.
- Grassi D., Necozione S., Lippi C., Croce G., Valeri L., Pasqualetti P., Desideri G., Blumberg J.B., Ferri C. Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*. 2005 ; 46:398–405.
- Guignard J.L. (2000). Les composés aromatiques In : *Biochimie végétal*. Ed : Dunod. pp : 161-217.
- Guignard J.L., 1996. *Abrégé de biochimie végétale*, Ed. Masson, Paris, 160 p.
- H.jrah harz allah (2010), antioxydant and antigenotoxic activities of *Globularia alypum* leaves extracts, *journal of medicinal plants research* vol.4 (19), pp.2048-2053.
- Hajaji Soumaya, , Ines Sifaoui, Atteneri Lopez-Arencibia, María Reyes-Batlle, Ignacio A. Jimenez, Isabel L. Bazzocchi, Basilio Valladares, Jose E. Pinero, Jacob Lorenzo-Morales, Hafidh Akkari. Correlation of radical-scavenging capacity and amoebicidal activity of *Matricaria recutita* L. (Asteraceae). *Experimental Parasitology* 183 (2017).p 216.
- Halliwell B., Gutteridge J. M., & Aruoma O. I. (1987) The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal.Biochem.* 165: 215-219.
- Halliwell B. 1994. *Nutr. Rev.* ,52, 253- 265.
- Hammiche V, Maiza K, 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacology* 105.358-367.
- Hamza T (1993). *Introduction à la biologie moderne*. Berti Editions. 16ème édition Masson m, Italie. P 1915. a source of food additives. *Food Res. Int.* 44(7):1866–1874.
- Harborne J.B., 1998. *phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. ISBN 0-412-57260-5 (HE) and 0-412-57270-2 (PB).

- Hartzfeld.P.W . ;Forkner R . ;Hunter.M.D. ;Hagerman.A.E(2002) .Determination of Hydrolyzable tannins (Gallotannins and Ellagitannins)after Reaction with potassium Iodate .J Agric .Food Chem .50,1785-1790.
- Hazmap. (2010). Hazardous Chemicals and Occupational Diseases. U.S. National Library of Medicine, Occupational exposure to hazardous agents, by Brown. Jay A. Disponible sur le site : <http://hazmap.nlm.nih.gov>.
- He Z., Xia W. et Chen J. (2008). Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226: 1191-1196.
- Hengameh P, Rajkumar HG. (2016). Evaluation of Some Lichen Extracts for β -Glucosidase Inhibitory as a Possible Source of Herbal Anti-diabetic Drugs. *American Journal of Biochemistry*, 6(2): 46-50.
- Hong G., Huang Y- N., Gao B., Xu P.Y., Chika I., et Kawabata J. (2008). Glucosidase inhibitory effect bu the flower buds of *Tussilofarfara*L,*Journal of Food chemistry* : 1195 -1201.
- Hooper L., Kroon P.A., Rimm E.B., Cohn J.S., Harvey I., Le Cornu K.A., Ryder J.J., Hall W.L., Cassidy A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008 ; 88:38–50.
- Hu YW, Liu CY, Du CM, Zhang J, Wu WQ, Gu ZL. Induction of apoptosis in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells in vitro by flavonoids from *Astragalus complanatus* . *J Ethnopharmacol.* 2009;123:293–301.
- HuiCao, YitaoWang,JianboXiao**Free Radical Biology and Medicine* Volume 112, Supplement 1, November 2017, Page 158.
- Ignat I, Volf I, Popa V I (2011) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables,*Food Chemistry*, 126, 1821-1835.
- Iserin P., 2001. *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 - 225-2263.
- J. M AIACHE, S. AIACHE, R. RENOUX. *Initiation à la connaissance et à la délivrance du médicament*. Abrégés cours + exos, 4ème édition. Paris : éditions MASSON. Octobre 2001.
- Jarald Edwin, Balakrishnan Siddaheswar Joshi and Chandra Jain Dharam (2008) ; *Diabetes and Herbal Medicines*. *Iranian journal of pharmacology &therapeutics* 97-106.
- Javanmardi J., Stushno C., Locke E., Vivanco J.M.2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83: 547-550.

- JEAN-DENIS, J. B. (2005). Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqués dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.). Thèse de Doctorat : Université de NEUCHÂTEL.
- Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM : Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans : glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am J Clin Nutr* 2003, 78:728–733.).
- Jung EH, Kim SR, Hwang IK, Ha TY : Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db/db mice. *J Agric Food Chem* 2007, 55: 9800–9804. 10.1021/jf0714463).
- Kandouli C., Cassien M., Mercier A., Delehedde C., Ricquebourg E., Stocker P., Mekaouche M., Leulmi Z., Mechakra A., Thétiot-Laurent S., Culcasi M., Pietri S. (2017) Antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory properties of water and *n*-butanol soluble extracts from Saharian *Anvillea radiata* in high-fat-diet fed mice. *Journal of Ethnopharmacology* 207: 251-267.
- Kapakos, G.; Youreva, V.; Srivastava, A.K. Cardiovascular protection by curcumin: Molecular aspects. *Indian J. Biochem. Biophys.* 2012, 49, 306–315.
- kherraz khaled, atef chouikh, azzedine chefrour, djilani ghemam amara. Estimation of total phenolic and flavonoids content and anti-free radical scavenger, antibacterial and antifungal activities of extract of *Matricaria Pubescens* (desf.) sch. bip. Collected from south east of Algeria. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biology, Tom. XXVI, Issue: 1, 2019, pp 40.*
- Khoo, N.K.; White, C.R.; Pozzo-Miller, L.; Zhou, F.; Constance, C.; Inoue, T.; Patel, R.P.; Parks, D.A. Dietary flavonoid quercetin stimulates vasorelaxation in aortic vessels. *Free Radic.Biol. Med.* 2010, 49, 339–347.
- Kim JS. Kwon CS., Son KH. (2000). Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci Biotechnol Biochem.* 64 (11): 2458-61.
- Kim SH., Jo SH., Kwon YI., Hwang JK. Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *Int J Mol Sci.* 2011 ; 12: 3757-3769.
- Kiselova, B. Galunska, D. Ivanova, T. Yankova. Total antioxidant capacity and polyphenol content correlation in aqueous-alcoholic plant extracts used in phytotherapy. *Scripta Scientifica Medica*, vol. 36 (2004), pp 12.

- Koneri R. B., Samaddar S., & Ramaiah C. T. (2014) Antidiabetic activity of a triterpenoid saponin isolated from *Momordica cymbalaria* Fenzl. *Indian J.Exp.Biol.* 52: 46-52.
- Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- Krimat, S., Dob, T., Lamari, L., Boumeridja, S., Chelghoum, C., Metidji, H. Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from Algeria. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2014, vol. 2, pp. 478-483.
- Ksouri R, Megdiche W, Jallali I, Debez D, Magné M, Hiroko I, Abdelly C H (2012) Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications, *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4),289-326.
- Laouini Salah Eddine, Berra Djamila, Ouahrani Mohammed Redha. Solvent pH extraction effect on phytochemical composition and antioxidant properties of Algerian *Matricaria Pubescens*. *Journal of Pharmacy Research* 2016,10 (2),p106-112.
- Latifou Iagnika (2005), étude photochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises, thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg.
- Lenoir, L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat : Université D'AUVERGNE.
- Léon Perlemuter, Jean-Louis Sélam, Gerard Collin de l'Hortet, 2003, Diabète et Maladies métaboliques. Masson 4ème édition. Page 384.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y., Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemist.* 102 (2007) 771-776.
- Lichtenthäler, R., R. B. Rodrigues, J. G. S. Maia, M. Papagiannopoulos, H. Fabricius et F. Marx (2005). "Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaï) fruits." *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56(1): 53-64.
- Liu Y. & Guo M. (2015) Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Molecules.* 20: 8583-8594.
- Lobstein, A., 2010. Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25.
- Lori, L. et N. Devan, Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec VIH. 2005.
- Lutge U., Kluge M. & Bauer G., 2002. Botanique 3 ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. 211p.

- Macheix J.J., Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- Madden K., Flowers L., Salani R., Horowitz I., Logan S., Kowalski K., Xie J., Mohammed S. I. (2009). Proteomics-based approach to elucidate the mechanism of antitumor effect of curcumin in cervical cancer. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 80: 9-18.
- Majhenic L., Kerget M.S., ET Knez Z., Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemist*. 104 (2007) 1258–1268.
- Mamyrbékova-Békro J. A., Konan K. M., Békro Y. A., Djié Bi M. G., Zomi Bi T. J., Mambo V., Boua Boua B., 2008]. Phytocompounds of the Extracts of Four Medicinal Plants of Côte d'Ivoire and Assessment of their Potential Antioxidant by Thin Layer Chromatography. *European Journal of Scientific Research* 24: 219 - 228.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L . 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (5): 727-747.
- Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*. 51: 304-315.
- McCalley, D.V., (2002). Analysis of the *Cinchona* alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*, 967, 1–19
- McGeady, P. and Croteau, R. (1995). Isolation and characterization of an active-site Peptide from a monoterpene cyclase labeled with a mechanism-based inhibitor. *Arch.*
- Meftah T et A.N.N., 2003. Programme UICN - Cosmétologie au naturel : cosmétologie au naturel; Alger.
- Megh Raj B, Nilubon J. A, GAO H, Jun K. (2008). Glucosidase and α - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia Ciliata*, Haw.), *Journal of Food chemistry*: 247 - 252.
- Metrouh-Amir Hassiba, Catarina M.M. Duarteb, Fadila Maizaa. Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria Pubescens*. *Industrial Crops and Products* 67 (2015) 252.
- Miguel M. G. (2010): Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Ivolecules*. 15:9252-9287.

- Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Faculté des sciences Tlemcen.
- Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbel D. (1996). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA. 31-35.
- Naik GH et al., 2003. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine .Phytochemistry 63:97-104.
- Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology., 33 : 2-16.
- Negishi, H.; Xu, J.W.; Ikeda, K. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J. Nutr. 2004, 134, 38–42.
- Nemati F, Eslami Jadidi B, Talebi Darabi M. Investigation cytotoxic effects of *Ammi maju* extract on MCF-7 and HeLa cancer cell line. J Anim Biol. 2013;5(3):59–66.
- Ordonez A. A. L., Gomez J. D., Vattuone M. A., & Isla M. I. (2006) Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food Chem 97: 452-458.
- Organisation Mondiale de la santé, ou OMS, 17 mai 2017.
- Ould el hadj M. D, Hadj-Mahammed M., Zabeirou H, 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d’Ouargla. Courrier du Savoir – N°03, Janvier 2003, 47-51.
- Owen, P.L., and Johns T. (1999): Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. Journal of Ethnopharmacologie, 64: 149-160.
- Ozenda P, 2004. Flore et végétation du Sahara. Troisième édition. CNRS édition. 750005 Paris, 92, 438,662.
- Ozenda P. (1991). Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS., Paris. Pp 662 .
- Ozougwu JC. Antidiabetic effects of *Allium cepa* (onions) aqueous extracts on alloxan-induced diabetic *rattus norvegicus*. Journal of medicinal plants research. 2011; 5(7) :1134-1139.
- Ozyurek M., Guçlu K., Tutem E., Baskan K. S., Erçag E., Çelik S. E., Baki S., Yıldız L., Karamanc S. and Apak R. (2011). A Comprehensive Review of CUPRAC Methodology. Anal Methods. 3: 2439-2453.

- Padmini, E., Valarmathi, A. and Rani, M. U. (2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian J. Experiment. Biol. Sci.* 1(4):772–781.
- Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M. et al. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 55, 315-327.
- Parage C. 2013. Génomique de la biosynthèse des stilbènes chez la vigne (*Vitis vinefera*). Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, France.
- Park Y.K., Kim J.S., Kang M.H. Concord grape juice supplementation reduces blood pressure in Korean hypertensive men: Double-blind, placebo controlled intervention trial. *Biofactors.* 2004 ; 22:145–147.
- Parks, D.A.; Booyse, F.M. Cardiovascular protection by alcohol and polyphenols—Role of nitric oxide. 2002, 957, 115–121.
- Pathak M. A., Farrington D. J. and Fitzpatrick T. B. (1962). The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. *Journal of investigative Dermatology*, 39: 225-299.
- Phillips, M. A. and Croteau, R. B. (1999). Resin-based defenses in conifers. *Trends PlantSci.* 4, 184-190.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraign, J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaissaux, Cœur, Poumons*, 4, 1 – 7.
- Pisoschi, AM, Pop, A. (2015).the role of antioxydants in the chemistry of oxidative stress. *European Journal of Medicinal Chemistry* 97:55-74.
- Powers, SK., Smuder, AJ., Kavariz , AN., Hudson, M.B. (2010).Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 20, 2-14.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phoshomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Anal Biochem*, 269, 337±341.
- Quevauvilliers, Dictionnaire médical, 6ème édition, MASSON, Septembre 2009, Pages : 1608.
- Quezel, F., Santa, S. (1962-1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.introduction sur la plant.
- Ré R., Pellegrini N., Proteggebnte A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Scienc Inc*, 26: 1231-1237.

- Ren, W., et al., Flavonoids: Promising anticancer agents. *Med. Res. Rev.*, 2003. 23(4): p. 519-34.
- Renaud J. and Martinoli M.G. 2011. Propriétés neuroprotectrices, antioxydantes et antiinflammatoires du resvératrol dans les neurones dopaminergiques. *Médecine Sciences Amérique*, 1(1): 1–14.
- Richter G. (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. P : 317-339.
- Roberts M.F. and Wink M., (1999). Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. *Book Reviews / Phytochemistry*, **52**, 1177 – 1180.
- Rodriguez-Concepcion, M.(2004). The MEP pathway: a new target for the developmentOf herbicides, antibiotics and antimalarial drugs. *Curr. Pharm. Design*. 10, 2391-2400.
- Saggu, S. and Kumar, R. (2008) Effect of seabuckthorn leaf extracts on circulating energy fuels, lipid peroxidation and antioxidant parameters in rats during exposure to cold, hypoxia and restraint (C-H-R) stress and post stress recovery. *Phytomedicine*, 15(6-7), 437446
- Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, F., Ogiwara, T., Satoh, K., Ito, H., Hatano, T., Takashi, Y., Fujisawa, S., 2005. Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*., 66, pp 2108 – 2120.
- Sandhya Khurana 1, Krishnan Venkataraman, Amanda Hollingsworth , Matthew Piche and T. C. Tai . Polyphenols: Benefits to the Cardiovascular System in Health and in Aging. *Nutrients* 2013, 5, P 3779-3827.
- Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.
- Saslis-Lagoudakis, C.H., Savolainen, V., Williamson, E.M., Forest, F., Wagstaff, S.J., Baral, S.R., Watson, M.F., Pendry, C.A., Hawkins, J.A., 2012. Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, pp 15835-15840.
- Schelz, Z., Hohmann, J. and Molnar, J. (2010). Recent advances inresearch of antimicrobial effects of essential oils and plant derivedcompounds on bacteria. In: *Ethnomedicine: A Source of ComplementaryTherapeutics*, pp. 179–201. Chattopadhyay, D., Ed., Research Signpost,Trivandrum, India.
- Schlienger, J.-L., Diabète et phytothérapie : les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*, 2014. 8(1): p. 101-106.

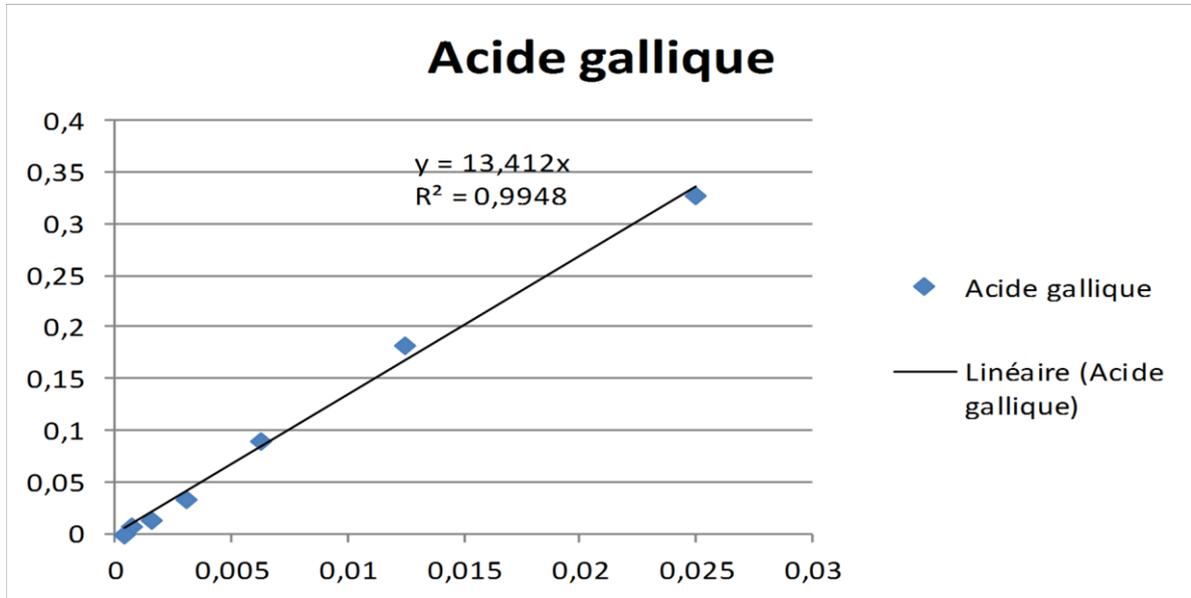
- Schorderet Michel, Dayer J-M. et coll. (1998). Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation; Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs (in Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques). Slatkine, Paris-Génève, 569-606.
- Sebai Hichem , Mohamed-Amine Jabri, Abdelaziz Souli, Karim Hosni, Kais Rtibi, Olfa Tebourbi, Jamel El-Benna and Mohsen Sakly. Chemical composition, antioxidant properties and hepatoprotective effects of chamomile (*Matricaria recutita L.*) decoction extract against alcohol-induced oxidative stress in rat. Gen. Physiol. Biophys. (2015), **34**, pp 226.
- Segnou, F.C.A., Akoroda, M., Hahn, S., 1992. Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata*). Euphytica., 64 (3), p 197.
- Serdar Z, Aslan K, Dirican M., Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. Clin Biochem, 2006 ; 39(8) : 794-803).
- Setty A R, Sigal L H (2005). Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. Seminars in Arthritis and Rheumatism, 34, 773-784.
- Shahidi F. & Chandrasekara A. (2010) Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. Phytochem.Rev. 9: 147-170.
- Sharaf M, El-Ansari MA, Saleh NA. New flavonoids from *Avicennia marina*. Fitoterapia. 2000 ;71: 274–277.
- Sharma H, Parihar L, Parihar P. Review on cancer and anticancerous properties of some medicinal plants. J Med Plant Res. 2011 ; 5:1818–1835.
- Shi H, Noguchi N and Niki E (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. Methods Enzymol., 335: 155-166.
- Shokoohinia Y, Hosseinzadeh L, Alipour M, Mostafaie A, Mohammadi-Motlagh HR Adv Pharmacol Sci. 2014; 2014():847574.
- Siddiqui Md. Wasim, A. B. Sharangi, J. P. Singh, Pran K. Thakur, J. F. Ayala- Zavala, Archana Singh & R. S. Dhua. Antimicrobial Properties of Teas and Their Extracts in vitro. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56:1428–1439, (2016).
- Singleton V. L., Orthofer R., & amuela-Raventos R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 299: 178.

- Soni, K.B.; Kuttan, R. Effect of oral curcumin administration on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 1992, 36, 273–275.
- Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M. & Kouretas, D. (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology* 50, 2155–2170. 194.
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., 2002. High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- Strang C. 2006. Larousse medical. Ed Larousse
- Suresh Kumar K., Ganesan K., Subba Rao PV. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. *Food Chem*, 2008 ; 107(1) : 289-95.
- Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7(3) : 1089-1099.
- Thalia Bernal-Mercado¹, Cristhian Acevedo-Hernandez¹, Brenda A. Silva-Espinoza¹, M. Reynaldo Cruz-Valenzuela¹, Gustavo A. Gonzalez-Aguilar¹, Filomena Nazzaro, Mohammed Wasim Siddiqui, J. Fernando Ayala-Zavala¹, Florinda Fratianni and F. Javier Vazquez-Armenta, Antioxidant and Antimicrobial Capacity of Phenolic Compounds of Mango (*Mangifera indica* L.) Seed depending upon the Extraction Process, *Journal of Medicinal Plants and By-products* (2018) 2: P 209-219.
- Vita, J.A., 2005. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81 : 292S-297S.
- Waltner-Law ME, Wang XL, Law BK, Hall RK, Nawano M, Granner DK: Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem* 2002, 277: 34933–34940. 10.1074/jbc. M204672200).
- Wichtl M., Anton R. *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003...Prescrire. Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été 2007, T. 27, n° 286.
- Wollgast J., Anklam E., 2000. . Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.

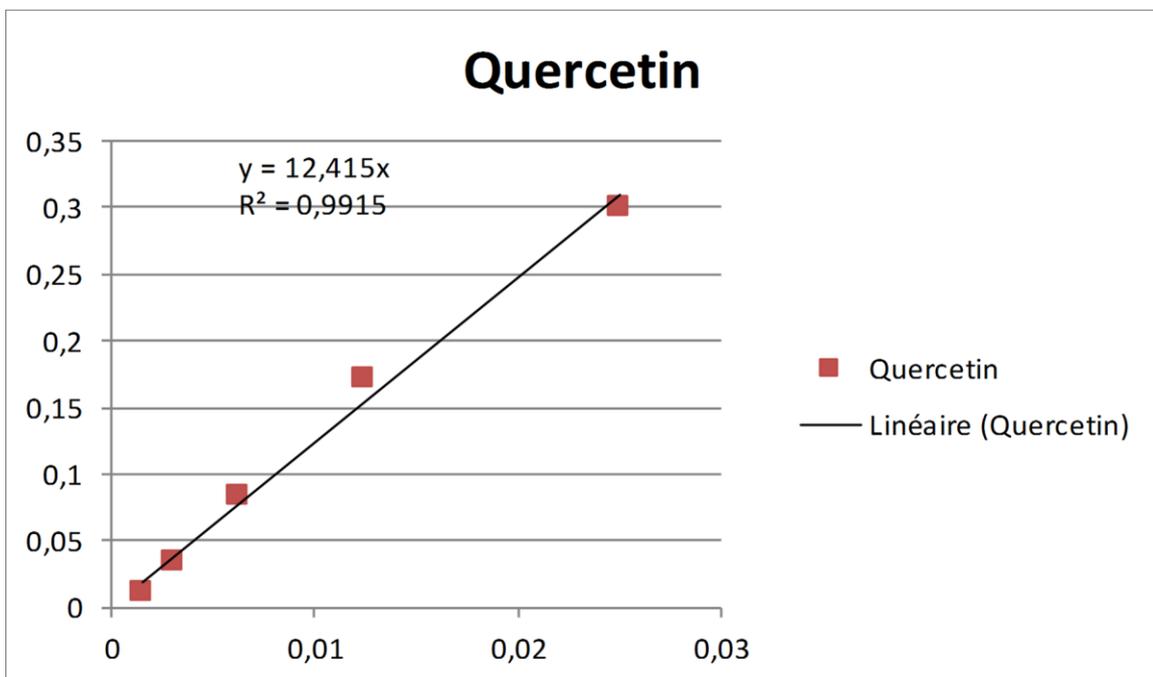
- Yang J. P., He H., & Lu Y. H. (2014) four flavonoid compounds from *Phyllostachys edulis* leaf extract retard the digestion of starch and its working mechanisms. *J.Agric.Food Chem* 62: 7760-7770.
- Yin P, Zhao S, Chen S, Liu J, Shi L, Wang X, Liu Y, Ma C : Hypoglycemic and hypolipidemic effects of polyphenols from burs of *Castanea mollissima* Blume. *Molecules* 2011, 16: 9764–9774. 10.3390/molecules16119764).
- Zengin G et al. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products* 53: 244-251.
- Zenk, M.H., Juenger, M. (2007) Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review* 68, 2757 – 2772.
- Zhang .Y. et al . (2009) intrinsic histone – DNA interactions are not the major determinant of nucleosome positions *in vivo*. *Nat structMolBiol*16(8) :847-52
- Zhang, Y. M., White, S. W. and Rock, C. O. (2006). Inhibiting bacterial fatty acid synthesis. *J. Biol. Chem.* 281:17541–17544.
- Zhao H., Fan W., Dong J., Lu J., Chen J., Shan L., Lin Y., & Kong W. (2008) Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. *Food Chem.* 107: 296-304.
- Zobel A. M. and Brown S. A. (1990). Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umbelliferous plants. *Journal of Chemical Ecology* 16, 3: 693-700.
- Site web 01
www.pinterest.com

ANNEXES

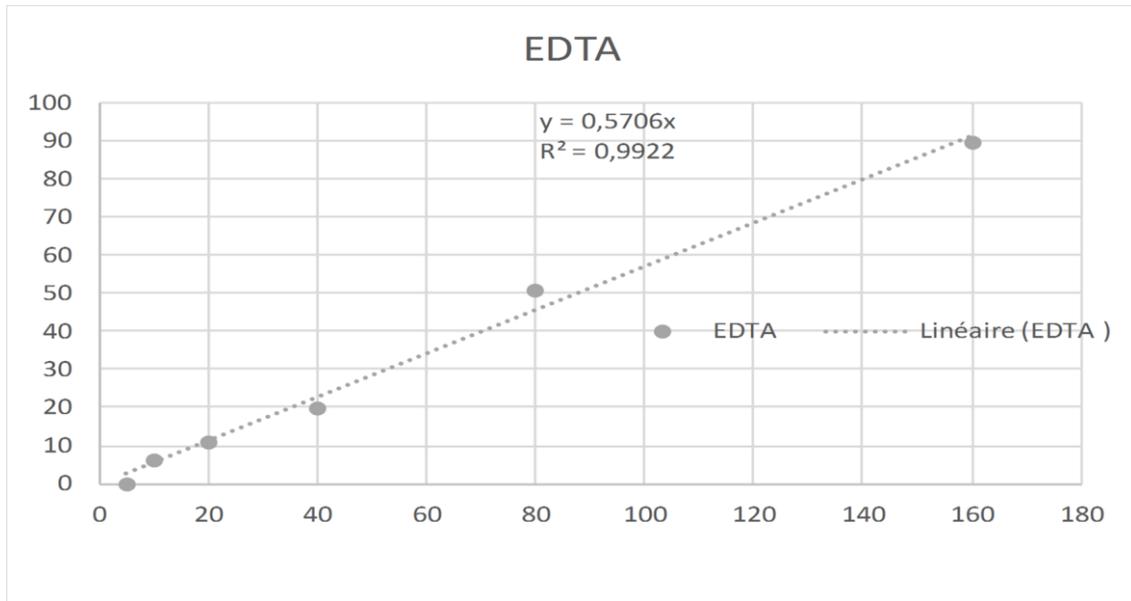
Annexes 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexes 2: Courbe d'étalonnage de quercétine.



Annexes 3 : Courbe d'étalonnage de l'EDTA.



Résumé

Les plantes médicinales sont considérées comme source principale de soins de santé pour la majorité de la population mondiale. *Matricaria sp* (Asteraceae) est une plante médicinale bien connue, utilisée dans le sud-ouest de l'Algérie, contre plusieurs maladies. La présente étude a été consacrée à la détermination de la teneur des polyphénols et des flavonoïdes de la *Matricaria sp*, après leur extraction en utilisant divers solvants de polarités différentes. Mais aussi, la détermination des activités antioxydantes et inhibitrice de l' α -amylase de tous les extraits obtenus. Les acides phénoliques et les flavonoïdes ont été identifiés et quantifiés au moyen de HPLC-DAD. Les résultats obtenus révèlent que les extraits ActOH et n-BuOH sont les plus riches en polyphénols. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de MCC, pouvoir réducteur du fer, CUPRAC, CAT, l'activité de piégeage du DPPH \cdot , l'activité de piégeage de ABTS $^{+\cdot}$, l'activité de piégeage du GOR, la capacité de piégeage du radical hydroxyle. D'autre part, l'effet antidiabétique a été évalué par l'inhibition de l' α -amylase.

Les résultats ont démontré que tous les extraits de *Matricaria sp*, préparés avec différents solvants, ont diverses capacités antioxydantes. Cependant, l'ActOH et le n-BuOH ont enregistré la plus forte capacité antioxydante. L'analyse HPLC-DAD a montré que les dérivés hydroxycinnamiques étaient les composés phytochimiques les plus abondants, suivis des flavonoïdes. Les extraits de *Matricaria sp* ont démontré une forte capacité inhibitrice de l' α -amylase ; cela indique que cette plante est un potentiel agent naturel antidiabétique. On a décelé une relation significative entre la capacité antioxydante et le contenu phénolique total, indiquant que les composés phénoliques sont les principaux contributeurs aux propriétés antioxydantes de ces plantes. Ces activités biologiques pourraient confirmer l'utilisation traditionnelle de *Matricaria sp*.

Les mots clé: *Matricaria sp*, phytothérapie, polyphénols, antioxydant, antidiabétique.

Abstract

Plants for medicinal purposes are considered as the main source of health care for the majority of the world population. *Matricaria sp* (Asteraceae) is a well-known medicinal plant used in

the south west of Algeria against several diseases. This study was devoted to the determination of polyphenols and flavonoids contents of *Matricaria sp* after their extraction using various solvents with different polarities, as well as the determination of the antioxidant and the α -amylase inhibitory activities of all obtained extracts. Phenolic acids and flavonoids were identified and quantified using HPLC-DAD. The results obtained indicate that the ActOH and n-BuOH extracts presented the highest contents of polyphenols. The antioxidant activity was evaluated using MCC, ferric reducing power, CUPRAC, TAC, DPPH^{*} radical scavenging activity, ABTS⁺ radical scavenging activity, GOR radical scavenging activity and hydroxyl radical scavenging capacity and antidiabetic effect was evaluated using α -amylase inhibitory. The results showed that all extracts of *Matricaria sp*, prepared using different solvent, have diverse antioxidant capacities, however ActOH and n-BuOH exhibited the highest antioxidant capacity. HPLC analysis showed hydroxycinnamic derivatives to be the most abundant phytochemical, followed by flavonoids. Extracts of *Matricaria sp* exhibited an inhibiting capacity against α -amylase; indicate that this plant is a potential natural antidiabetic agent. A significant relationship between antioxidant capacity and total phenolic content was found, indicating that phenolic compounds are the major contributors to the antioxidant properties of these plants. These biological activities could support the traditional use of *Matricaria sp*.

Key word: *Matricaria sp*, phytotherapy, polyphenols, antioxidant, antidiabetic.

الملخص

تعتبر النباتات الطبية مصدرا أساسيا للرعاية الصحية لغالبية سكان العالم نبتة *Matricaria sp* المنتمية إلى عائلة Asteraceae هي نبتة طبية معروفة جدا وتستخدم في الجنوب الغربي الجزائري لعلاج مجموعة واسعة من الأمراض. تتناول الدراسة الحالية تحديد محتوى الفينولات المتعددة الفلافونويدات في نبتة *Matricaria sp* بعد استخلاصها باستخدام المذيبات ذات قطبية مختلفة. كما تتناول أيضا هذه الدراسة تحديد النشاط المثبط للأوكسدة والألفا أميلاز لجميع المستخلصات المتحصل عليها.

التحديد الكمي والنوعي للفينولات المتعددة الفلافونويدات باستخدام التحليل الكروماتوغرافي (HPLC-DAD) كشف لنا أن مستخلصات خلالات الإيثيل ActOH و البيتانول n-BuOH هما الأكثر غنى بمادة الفينولات المتعددة بالإضافة إلى ذلك تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة لمختلف المستخلصات بواسطة ثمانية طرق: تثبيط الجذر الحر DPPH^{*}; تثبيط الجذر الحر ABTS⁺; تثبيط الجذر الحر GOR; اقتناص جذر الهيدروكسيل; تقدير القدرة المضادة للأوكسدة الإجمالية TAC; القدرة على إرجاع الحديد; القدرة على استخلاص المعادن MCC; القدرة المضادة للأوكسدة عن طريق اختزال النحاس CUPRAC. كما تم من ناحية أخرى تقييم النشاط المضاد للسكري باستخدام مثبط إنزيم الألفا أميلاز.

من خلال هذا تم ملاحظة أن جميع مستخلصات *Matricaria sp* المحضرة بمذيبات مختلفة القطبية تمتلك نشاط مضاد للأوكسدة. وقد تم تسجيل أقصى نشاط لهفي مستخلصات الايثيل ActOH و البيتانول n-BuOH .

كشف التحليل الكروماتوغرافي أن المشتقات الهيدروكسيسيناميكي أكثر المواد الكيميائية النباتية وفرة، يليها الفلافونويدات. تمتلك مستخلصات *Matricaria sp* قدرة تثبيطية عالية للإنزيم الألفا أميلاز، مما يمكننا اعتبار أن هذه النبتة عامل طبيعي مضاد للسكري. كما كشفت هذه الدراسة وجود علاقة خطية واضحة بين النشاط المضاد للأوكسدة وبين محتوى الفينولات المتعددة، مبيّنة بذل كأن المركبات الفينولية هي المسؤول الرئيسي في الخصائص المضادة للأوكسدة لهذه النبتة وبناءا عليه فان هذه الأنشطة البيولوجية تؤكد استخدامها في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: *Matricaria sp*, العلاج بالنباتات, البوليفينول, مضاد للأوكسدة, مضاد لمرض السكري.

<p>Nom et prénom : Bensalem Maissa Boursas Dounia Cherfia Hiba</p> <p style="text-align: right;">Date de soutenance : 04/09/2019</p>
<p>Titre : Etude phytochimique et activités biologiques des produits naturels</p>
<p>Nature de diplôme : Master en science biologique Spécialité : <i>Toxicologie</i></p>
<p>Résumé :</p> <p>Les plantes médicinales sont considérées comme source principale de soins de santé pour la majorité de la population mondiale. <i>Matricaria sp</i> (Asteraceae) est une plante médicinale bien connue, utilisée dans le sud-ouest de l'Algérie, contre plusieurs maladies. La présente étude a été consacrée à la détermination de la teneur des polyphénols et des flavonoïdes de la <i>Matricaria sp</i>, après leur extraction en utilisant divers solvants de polarités différentes.</p> <p>Mais aussi, la détermination des activités antioxydantes et inhibitrice de l'α-amylase de tous les extraits obtenus. Les acides phénoliques et les flavonoïdes ont été identifiés et quantifiés au moyen de HPLC-DAD. Les résultats obtenus révèlent que les extraits ActOH et n-BuOH sont les plus riches en polyphénols. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de MCC, pouvoir réducteur du fer, CUPRAC, CAT, l'activité de piégeage du DPPH•, l'activité de piégeage de ABTS+•, l'activité de piégeage du GOR, la capacité de piégeage du radical hydroxyle. D'autre part, l'effet antidiabétique a été évalué par l'inhibition de l'α-amylase.</p> <p>Les résultats ont démontré que tous les extraits de <i>Matricaria sp</i>, préparés avec différents solvants, ont diverses capacités antioxydantes. Cependant, l'ActOH et le n-BuOH ont enregistré la plus forte capacité antioxydante. L'analyse HPLC-DAD a montré que les dérivés hydroxycinnamiques étaient les composés phytochimiques les plus abondants, suivis des flavonoïdes. Les extraits de <i>Matricaria sp</i> ont démontré une forte capacité inhibitrice de l'α-amylase ; cela indique que cette plante est un potentiel agent naturel antidiabétique. On a décelé une relation significative entre la capacité antioxydante et le contenu phénolique total, indiquant que les composés phénoliques sont les principaux contributeurs aux propriétés antioxydantes de ces plantes. Ces activités biologiques pourraient confirmer l'utilisation traditionnelle de <i>Matricaria sp</i>.</p>
<p>Les mots clé : <i>Matricaria sp</i>, phytothérapie, polyphénols, antioxydant, antidiabétique.</p>