

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Filière : Sciences Biologiques  
Option : Biochimie Appliquée



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Evaluation du potentiel antioxydant et cytotoxique  
des extraits aqueux et méthanolique des fleurs de  
*Matricaria chamomilla***

Présenté par :

**ZAGHAR Wissem & GAAZEN Cecylia**

Soutenu le : **26 Juin 2023**

Devant le jury composé de :

Pr ATMANI D.

Président

Pr KHETTAL B.

Encadreur

Dr OTMANI A.

Examineur

**Année universitaire**

**2022/2023**

---

# Remerciements

*Au terme de ce travail nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de mener à fin ce mémoire.*

*On tient à exprimer nos plus chaleureux remerciements à notre promotrice Professeure KHETTAL Bachra de nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et accompagner dans la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici Madame notre profonde gratitude.*

*On est très honorées par la présence du Professeur ATMANI D. et Dr. OTMANI dans notre jury de soutenance. Merci pour l'évaluation de ce travail.*

*On tient à remercier Mme Hassaine S. ingénieure du laboratoire recherche biotechnologie végétale et ethnobotanique ou nous avons effectué notre travail de mémoire de master ainsi que Lydia et Meriem, ingénieurs du laboratoire pédagogique du département de Biologie Physico-chimiques, ou nous avons aussi réalisé une partie de ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi au staff du Centre de Transfusion Sanguine de Sidi Ali Lebhar de Bejaia d'avoir fourni le sang sur lequel on a travaillé.*

*Nous témoignant enfin notre reconnaissance à tous ceux et celles ayant contribué de pré ou de loin à la réalisation de notre mémoire de fin de cycle.*

---

## *Dédicaces*

*Je souhaite exprimer ma gratitude envers Dieu, qui éclaire ma voie à chaque matin, me guide sur le chemin juste, renforce ma foi et a contribué à façonner la personne que je suis aujourd'hui.*

*Je dédie ce travail, tout d'abord et spécialement à ma chère mère « Nora », Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts que tu n'as jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être*

*À mon cher père Omar Rien au monde ne vaut les efforts que tu as fournis jour et nuit pour mon éducation*

*À mon seul et unique frère Massinissa*

*Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de ma vie*

*À mes copines Lydia Sandra Hania et Anais*

*Pour leurs amour, leurs soutiens et leurs encouragements.*

*À mes camarades*

*Dahmane et Amine*

*À mon enseignant au lycée*

*Mr AZROU.M MERCI*

*À ma chère Binôme « Wissem » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail .*

*A toute ma famille, proche ou lointaine .*

*Sans oublier mon petit chat adoré qui me suit partout*

**CECYLIA**

---

# *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A mes parents, mes grands parents*

*A mes frères Mehrez et Mehdi, ma petite sœur Asma*

*A mes tantes, mes amis et à toute ma famille,*

*Et à tous ceux qui m'ont soutenu durant tout ce trajet*

*WISSEM*

---

# *Table de matière*

*Liste des abréviations*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| <b>Introduction.....</b> | <b>01</b> |
|--------------------------|-----------|

## ***Partie I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE***

|  |           |
|--|-----------|
| <b>I. Généralité sur <i>Matricaria chamomilla</i> .....</b>                          | <b>02</b> |
| I.1 Description botanique .....  | 02        |
| I.2. Localisation géographique .....   | 03        |
| I.3. Composition chimique.....   | 03        |
| I.4. Propriétés et usages thérapeutiques.....  | 04        |
| <b>II. Composés phénoliques : flavonoïdes et tanins de <i>M.chamomilla</i> .....</b> | <b>04</b> |
| II.1. Les flavonoïdes.....   | 05        |
| II.2. Les tanins.....  | 06        |
| II.3. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques.....                        | 07        |
| <b>III. Stress oxydant et antioxydant .....</b>                                      | <b>08</b> |
| III.1. Stress oxydant.....   | 08        |
| III.2. Les radicaux libres.....  | 08        |
| III.3. Antioxydants .....  | 09        |
| III.3.1 Antioxydants enzymatiques .....  | 09        |
| III.3.2. Antioxydants non enzymatiques .....   | 10        |
| III. 4. Exemples Plantes médicinales douées d'activités antioxydantes .....          | 12        |

## ***Partie II : ETUDE EXPERIMENTALE***

|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| <b>I. Matériels et méthodes .....</b> | <b>13</b> |
| I.1. Matériel .....                   | 13        |

---

|   |           |
|---|-----------|
| I.1.2. La camomille.....  | 13        |
| I.1.2. Le sang.....   | 13        |
| II.Méthodes .....   | 13        |
| II.1.Extraction des composés phénoliques.....                                 | 13        |
| II.1.1.Extraction aqueuse par décoction.....                                  | 13        |
| II.1.2.Extraction méthanolique par le soxhlet .....                           | 14        |
| II.1.3.Calcul du rendement.....   | 14        |
| II.2.Dosage des composés phénoliques .....                                    | 14        |
| II.2.1.Dosage des polyphénols totaux.....                                     | 14        |
| II.2.2.Dosage des flavonoïdes .....   | 15        |
| II.2.3.Dosage des tanins hydrolysable .....                                   | 16        |
| II.2.4.Dosage des tanins condensés .....                                      | 16        |
| II.3.Evaluation de la toxicité sur model cellulaire : érythrocytes .....      | 17        |
| II.3.1.Effet des extraits sur l'intégrité de la membrane érythrocytaire.....  | 17        |
| A. Préparation de la suspension érythrocytaire.....                           | 17        |
| B. Quantification de l'hémolyse par spectrophotométrie .....                  | 18        |
| C. Analyse cytologique par observation microscopique .....                    | 19        |
| II.4.Evaluation du pouvoir antioxydants.....                                  | 19        |
| II.4.1.Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP).....                            | 19        |
| II.4.2.Evaluation de l'activité anti radical DPPH.....                        | 19        |
| II.4.3.Evaluation de l'activité anti radical H2O2 .....                       | 20        |
| II.5.Analyse statistique .....  | 21        |
| <b>III.Résultats et discussion .....</b>                                      | <b>22</b> |
| III.1.Rendement d'extraction .....  | 22        |
| III.2.Teneur en composés phénoliques .....                                    | 23        |
| III.3.Cytotoxicité des extraits.....  | 24        |
| III.4.Pouvoir antioxydants des extraits de <i>Matricaria chamomilla</i> ..... | 26        |

---

|  |           |
|--|-----------|
| III.4.1.Pouvoir réducteur FRAP .....   | 26        |
| III.4.2.Activité antiradicalaire DPPH .....                                  | 27        |
| III.4.3.Piégeage du peroxyde d'hydrogène H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ..... | 28        |
| <b>Conclusion</b> .....  | <b>30</b> |
| <i>Références bibliographiques</i> .....                                     | <b>31</b> |
| <i>Annexes</i> .....   | <b>39</b> |
| <i>Résumé</i>  |           |

---

## *Liste des Figures*

| N° | Titre   | page      |
|----|---|-----------|
| 1  | Photographie de <i>Matricaria chamomilla</i>  | <b>02</b> |
| 2  | Principales classes des polyphénols   | <b>05</b> |
| 3  | Squelette de base des flavonoïdes   | <b>05</b> |
| 4  | Structure des tanins condensés et hydrolysables   | <b>07</b> |
| 5  | Réaction du test DPPH   | <b>20</b> |
| 6  | Histogramme des taux d'extraits aqueux et méthanolique de la camomille  | <b>22</b> |
| 7  | Taux d'hémolyse par l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de la camomille  | <b>24</b> |
| 8  | Observation au microscope optique des globules rouges   | <b>25</b> |
| 9  | Histogramme représentant les absorbances de la réduction du fer ferrique (Fe <sup>3+</sup> ) en fer ferreux Fe <sup>2+</sup> par différentes concentrations des extraits aqueux et méthanolique de la camomille | <b>26</b> |
| 10 | Taux d'inhibition du radical DPPH à différentes concentrations de l'extrait aqueux (A) et l'extrait méthanolique (B) de fleur de <i>Matricaria chamomilla</i>   | <b>27</b> |
| 11 | Tuyaux d'orgue représentant les taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène par différentes concentrations de l'extrait méthanolique des fleurs de <i>Matricaria chamomilla</i>                                   | <b>29</b> |

---

## *Liste des Tableaux*

| N°         | Titre  | page      |
|------------|--|-----------|
| <b>I</b>   | Exemples de Métabolites secondaires de <i>Matricaria chamomilla</i>  | <b>03</b> |
| <b>II</b>  | Principales classes des flavonoïdes avec des exemples  | <b>06</b> |
| <b>III</b> | Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) et de l'azote (ERNs)   | <b>09</b> |
| <b>IV</b>  | Principales enzymes à activité antioxydante  | <b>10</b> |
| <b>V</b>   | Antioxydants non enzymatiques  | <b>11</b> |
| <b>VI</b>  | Exemples des plantes médicinales à effets antioxydants   | <b>12</b> |
| <b>VII</b> | Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins hydrolysables et tanins condensés des aqueux et méthanolique de la fleur <i>Matricaria chamomilla</i> | <b>23</b> |

---

## *Liste des abréviations*

|                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| <b>AlCl<sub>3</sub></b> :             | Trichlorure d'aluminium                     |
| <b>DPPH</b> :                         | 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl               |
| <b>ERN</b> :                          | Espèces réactifs d'azote                    |
| <b>ERO</b> :                          | Espèces réactifs d'oxygène                  |
| <b>Eq.AG</b> :                        | Equivalent Acide Gallique                   |
| <b>Eq.AT</b> :                        | Equivalent Acide Tannique                   |
| <b>Eq.C</b> :                         | Equivalent Catéchine                        |
| <b>Eq.Q</b> :                         | Equivalent Quercétine                       |
| <b>FeCl<sub>3</sub></b> :             | Chlorure de fer                             |
| <b>FRAP</b> :                         | Ferric Reduction antioxidant Power          |
| <b>GSH</b> :                          | Glutathion réduit                           |
| <b>GSSH</b> :                         | Glutathion oxydé                            |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> :   | Peroxyde d'hydrogène                        |
| <b>IC<sub>50</sub></b> :              | Concentration d'inhibition à 50%            |
| <b>NADPH</b> :                        | Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b> : | Carbonate de sodium <b>10</b>               |
| <b>2</b> :                            | Oxygène singulet                            |
| <b>ROOH</b> :                         | Hydroperoxyde lipidique                     |
| <b>SOD</b> :                          | Superoxyde dismutase                        |
| <b>U.A</b> :                          | Unité d'absorbance                          |
| <b>% I</b> :                          | Pourcentage d'inhibition                    |

Au cours des dernières années, une grande importance a été accordée à l'étude des propriétés antioxydantes des plantes pouvant être intégrées à l'alimentation humaine. Les composés phénoliques présents dans les plantes suscitent un intérêt croissant dans les domaines de l'alimentation, de la chimie et de la médecine, en raison de leur potentiel antioxydant prometteur (**Kalia et al., 2008**).

Les antioxydants sont des composés capables de neutraliser les radicaux libres et de réduire les dommages oxydatifs dans le corps (**Koechlin, 2006**). Les radicaux libres, produits naturellement lors des processus métaboliques, peuvent causer des dommages cellulaires et jouer un rôle dans le développement de diverses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, le cancer et le vieillissement prématuré (**Sebbar et al., 2023**).

La camomille, une plante médicinale largement utilisée depuis des siècles, est réputée pour ses propriétés apaisantes et curatives. Parmi les différentes espèces de camomille, *Matricaria chamomilla* est l'une des plus étudiées pour ses composés bioactifs notamment les polyphénols de type flavonoïde (**Seddik et al., 2013**). Ces derniers sont connus pour être de bons antioxydants et pourraient jouer un rôle essentiel dans la protection contre les dommages oxydatifs (**Parcheta et al., 2021**). IL serait donc intéressant de développer des études pour identifier et caractériser les flavonoïdes de *Matricaria chamomilla* responsables de l'action antioxydante et de les valoriser surtout dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques.

Dans cet axe d'étude, s'insère le travail que nous avons réalisé dans le cadre d'un projet de mémoire de master en biochimie appliquée et dont l'objectif est d'évaluer *in vitro* le potentiel antioxydant des extraits aqueux et méthanolique des fleurs de *Matricaria chamomilla* et de tester leur toxicité sur un modèle cellulaire simple « l'érythrocyte ».

Le manuscrit est structuré en deux parties ; une partie de synthèse bibliographique englobant des données générales sur *Matricaria chamomilla*, les composés phénoliques, le stress oxydant, les antioxydants et une partie expérimentale où sont décrites les méthodes utilisées pour répondre à l'objectif de l'étude et les résultats obtenus.

**I. Généralités sur *Matricaria chamomilla***

**I.1. Description botanique**

*Matricaria chamomilla* est une plante herbacée annuelle avec des racines minces en forme de fuseau, une tige ramifiée et dressée qui atteint une hauteur de 10 à 80 cm, des feuilles étroites et longues bipinnées à tripinnées (Figure 1). Les capitules de fleurs de *M. chamomilla* sont pédonculés, hétérogames, placés séparément avec un diamètre de 10 à 30 mm. Ses fleurons sont tubulaires jaunes dorés avec 5 dents mesurant de 1,5 à 2,5 mm de longueur, se terminant toujours par un tube glanduleux. Son fruit est une cypsèle brune jaunâtre avec 3 à 5 côtes peu marquées. (Singh et al., 2011).

*M. chamomilla* peut être cultivée sur tout type de sol, mais il convient d'éviter de cultiver la plante dans des sols riches, lourds et humides. Elle peut pousser à des températures allant de 15°C à 26° C et nécessite une pluviométrie annuelle de 400 à 1400 mm par saison. La plante peut supporter le froid, mais elle se développe mieux en plein soleil et nécessite des journées d'été longues et des températures élevées pour obtenir un rendement optimal en huile essentielle (Singh et al., 2011)



**Figure 1:** Photographie de *Matricaria chamomilla* (Bahmani et al., 2015)

## **I.2. Distribution géographique**

*Matricaria chamomilla* connue sous le nom commun de camomille trouve ses origines dans le sud et l'est de l'Europe, ainsi que dans le nord et l'ouest de l'Asie. Elle a été introduite dans diverses régions et a réussi à s'acclimater en Australie, en Grande-Bretagne et en Amérique du Nord. En outre, elle est cultivée dans des pays tels que l'Allemagne, la Hongrie, la France, la Russie, la Yougoslavie et le Brésil. De nos jours, la camomille est largement répandue et bénéficie d'une culture étendue. On peut également trouver des spécimens en Afrique du Nord et en Nouvelle-Zélande. (El Mihaoui et al., 2022).

La camomille est connue pour son usage traditionnel dans le traitement de divers maux dans différentes parties du monde où elle porte les noms de Babuna camornile, Babuna, Babunj, Baboonig, camomille, camomille hongroise, camomille romaine, camomille anglaise, camomille allemande, camomilla, camomille fausse douce, camomille simple, camomille flos, la camomille à tête d'épingle, camomille de mai et camomille parfumée (Leung et Foster, 1996 ; Frank et Schilcher, 2005).

## **I.3. Composition chimique**

Le genre *Matricaria* se distingue par une diversité structurale de ses métabolites secondaires riches en composés tels que les coumarines, les flavonoïdes, les terpènes, les hétérosides, les sesquiterpènes et les lactoniques. Le tableau I sont présentés quelques métabolites secondaires qui sont présents dans *Matricaria chamomilla*.

**Tableau I** : Exemples de Métabolites secondaires de *Matricaria chamomilla* (Allais, 2008)

| <b>Métabolites</b>                   | <b>Propriétés</b>  |
|--------------------------------------|--|
| <b>Apigénine, Lutéoline, Santine</b> | Flavonoïdes hétérosidiques dérivés de flavones et flavonoïdes dérivés de flavonols méthylés lipophiles |

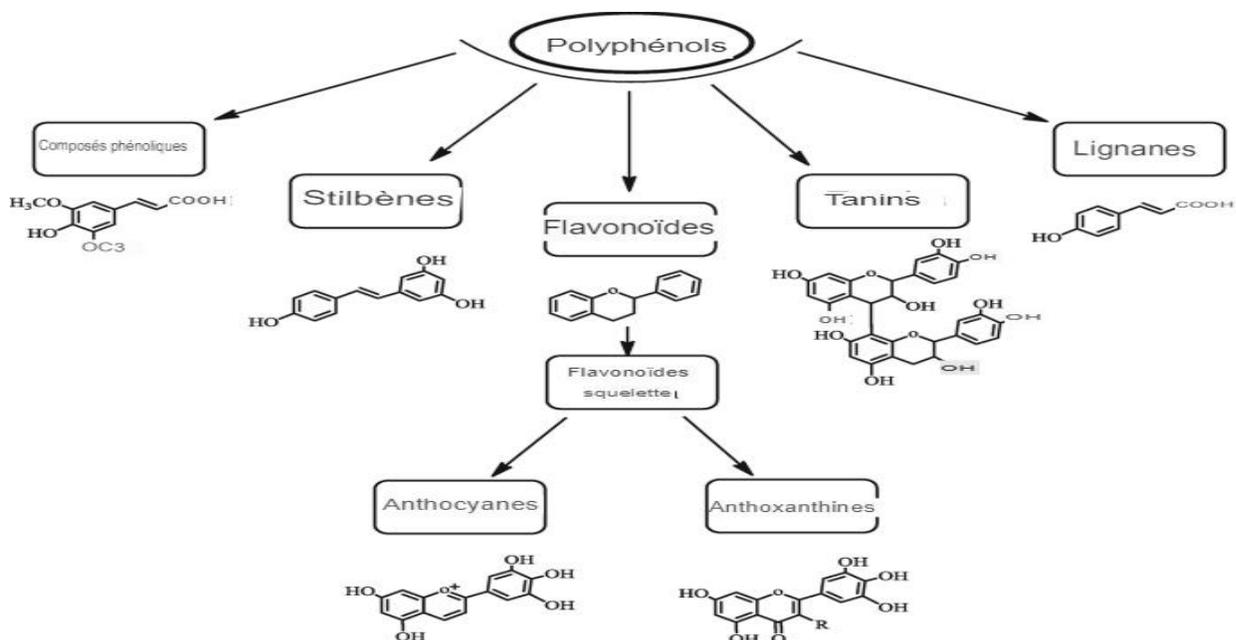
|  |   |
|--|---|
| <b>Parthénolide</b>                        | Lactones sesquiterpéniques (0,5-2%) comportent une fonction $\alpha$ -méthylène butyrolactone et responsables de l'activité antimigraineuse de la camomille |
| <b>Camphre ; Acétate de chrysanthényle</b> | Composants des huiles essentielles (Taux : 0,5 - 0,9 %) à très forte odeur puissante  |

#### **I.4. Propriétés et usages thérapeutiques**

*Matricaria chamomilla L.* est utilisée dans la médecine traditionnelle, ses fleurs séchées sont utilisées pour préparer l'un des thés les plus populaires et les plus consommés. Il a été scientifiquement prouvé que *Matricaria chamomilla L.* est bénéfique pour la santé en raison de ses multiples bioactivités : anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, antimicrobiennes et antiallergiques (Duan et al., 2022). En plus de ses effets antidiabétiques, antidouleurs, protecteurs du tractus gastro-intestinal et du système nerveux (Heidarianpour et al., 2021)

## **II. Composés phénoliques : flavonoïdes et tanins**

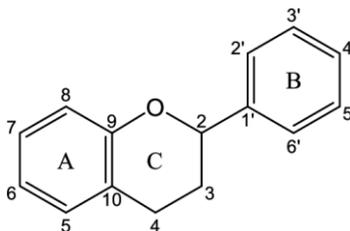
Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement présents dans les espèces végétales et se trouvent dans toutes les parties des plantes avec une répartition quantitative qui diffère entre les tissus (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011). Ils sont synthétisés par la voie métabolique shikimate/phénylpropanoïde, qui produit une vaste gamme de polyphénols sous forme de monomères et de polymères (Sharma et al., 2019). Ils jouent un rôle essentiel en participant à la réponse des plantes face à divers types de conditions de stress abiotiques comme les fluctuations de précipitations et l'exposition aux rayonnements ultraviolets. En plus, ils assurent leurs protections contre les agents pathogènes et les attaques des herbivores (Daglia, 2012). D'un point de vue structurel, les composés phénoliques sont constitués d'un ou de plusieurs cycles aromatiques attachés à un ou plusieurs groupements hydroxyle (-OH). Selon la structure squelettique de base et le nombre d'atomes constitutifs, ils se répartissent en différentes classes de polyphénols simples comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les coumarines aux composés fortement polymérisés comme les tanins et les lignines. (Figure 2) (Bruneton, 1999 ; Molino et al., 2016).



**Figure 2 :** Principales classes des polyphénols (Tijjani et *al.*, 2019)

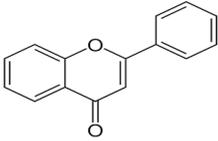
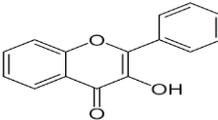
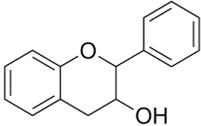
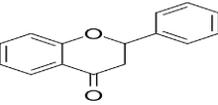
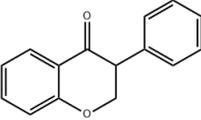
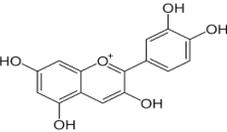
### II.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, qui sont le groupe de polyphénols le plus étudié, présentent plus de 6000 structures différentes. En fonction de leurs structures, les flavonoïdes peuvent être classés en six groupes distincts : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les flavanonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanes (tableau III). Ces groupes se distinguent par la configuration de leur cycle pyrane hétérocyclique central par rapport à la structure principale des flavanes (Figure 3) qui est composée de deux cycles benzéniques (A et B) qui sont reliés par trois atomes de carbone et un atome d'oxygène, formant ainsi un cycle pyrane central C (Šamec et *al.*, 2021).



**Figure 3 :** Squelette de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013)

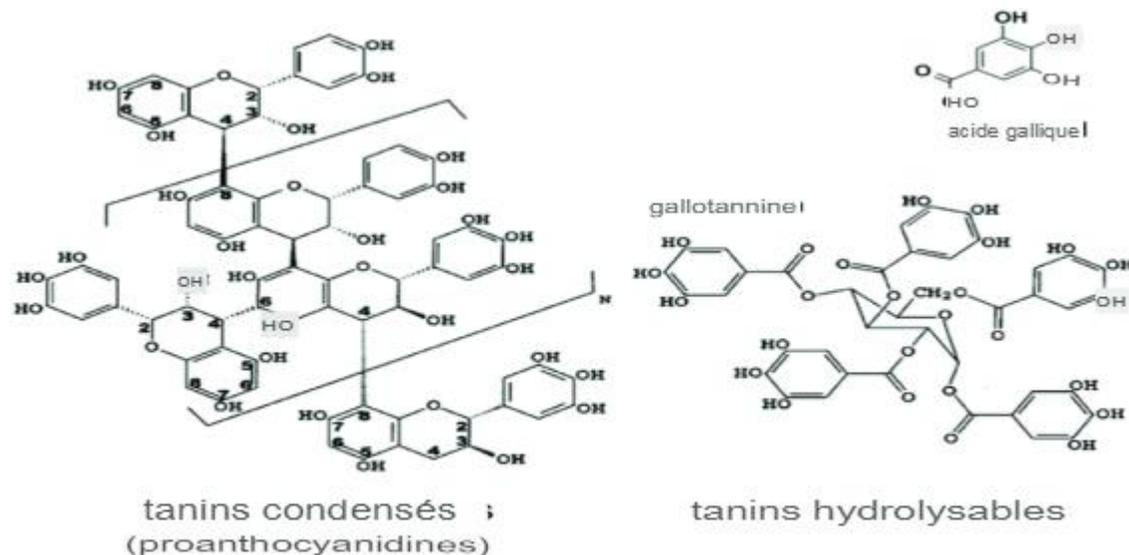
**Tableau II** : Principales classes des flavonoïdes avec des exemples. (Šamec et *al.*, 2021)

| Classes         | Structures  | Exemples                    |
|-----------------|---|-----------------------------|
| Flavones        |    | Apigénine ;<br>Luteolin     |
| Flavonols       |    | Quercétine ;<br>Kaempferol  |
| Flavan-3-ols    |    | Catéchine                   |
| Flavanones      |    | Naringénine ;<br>Hesperetin |
| Isoflavonones   |   | Génistéine ;<br>Daidzein    |
| Anthocyanidines |  | Cyandine                    |

## II.2. Les tanins

Les tanins sont des composés poly-phénoliques qui se présentent sous forme de structures variées avec un poids moléculaire élevé (>3000 Da). Ils sont polaires, ont une saveur astringente et ont la capacité de se lier aux protéines en solution, ce qui peut entraîner leur précipitation. Cette propriété leur confère la capacité de tanner la peau. (Macheix et *al.*, 2005). On distingue généralement deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. (Figure 4). Les tanins hydrosolubles sont des polymères constitués d'oligo- ou de polyesters formés par la liaison entre un sucre, généralement le glucose, et un nombre variable de molécules d'acide phénol. Dans le cas des tanins galliques, l'acide gallique est utilisé, tandis que dans le cas des tanins ellagiques, l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation sont impliqués. (Khanbaba et Ree, 2001 ; Bruneton, 2009). Les tanins condensés

également connus sous le nom de proanthocyanidines ou procyanidines, sont des composés qui ne contiennent pas de sucre dans leur structure moléculaire. Leur structure est similaire à celle des flavonoïdes. Ce sont des polymères flavoniques formés par la liaison carbone-carbone d'unités de flavan-3-ols (Bruneton, 1999).



**Figure 4** : Structure des tanins condensés et hydrolysables (Zak et al.,2019)

### II.3. Propriétés thérapeutiques

Les études récentes sur les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, sont très approfondies en raison de leurs nombreuses propriétés physiologiques. Ces composés présentent diverses activités thérapeutiques : antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, protectrices du système immunitaire, de la peau, de réduction de la pression artérielle, anticancéreuses et cardioprotectrices (Tijjani et al., 2019). Ces activités thérapeutiques sont principalement attribuées à leurs effets antioxydants reliés à leurs propriétés redox jouant ainsi un rôle important comme antioxydants par la neutralisation des radicaux libres, le piégeage de l'oxygène réactif, ou la décomposition des peroxydes (Nijveldt et al., 2001).

### **III. Stress oxydant, radicaux libres et antioxydants**

#### **III.1. Stress oxydant**

Le stress oxydatif ou le stress oxydant, se réfère à un déséquilibre au sein d'un organisme entre la production d'oxydants notamment les espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) et les mécanismes de défense antioxydants. Cela entraîne des dommages aux biomolécules tel que les lipides, les protéines et les acides nucléiques. (Niki, 2018 ; Tu et *al.*, 2019). Ces modifications moléculaires provoquent des altérations cellulaires, aboutissant éventuellement à la destruction des cellules cibles qui se traduit souvent par une cytolysse cellulaire. (Dausset, 1976). L'action cytotoxique des espèces réactifs notamment les ERO dépend de leurs concentrations et de la durée d'exposition. Un effet cytotoxique, s'il est suffisamment intense, compromet la viabilité de la cellule en perturbant son intégrité métabolique ou structurelle provoquant la mort de la cellule ou son intégrité reproductive (inhibition de la division cellulaire) (Shaw, 1994). Les dommages causés par altérations moléculaires et cellulaire sont impliqués dans le développement de diverses affections chroniques, notamment le diabète, le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le vieillissement (Matschke et *al.*, 2021).

#### **III.2. Les radicaux libres**

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que temporaire et est combiné par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre vers une autre molécule. Dans les conditions physiologiques, différentes variétés de radicaux libres sont produites par l'organisme, Cependant, dans certaines conditions pathologiques, la nature et la quantité de ces radicaux libres peuvent être modifiées. Il est important de noter que tous les radicaux libres ne sont pas hautement réactifs, leur réactivité dépendant de la nature spécifique du radical (Afonso et *al.*, 2007).

Les molécules libres dérivées de l'oxygène sont désignées sous le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) alors que celles engendrées par la réaction entre l'oxygène et l'azote sont appelées espèces réactives d'azote (ERN) (tableau IV) (Penna et *al.*, 2009).

**Tableau III :** Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) et de l'azote (ERNs) (Goudable et Favier, 1997 ; Beaudeau et *al.*, 2006)

| Les espèces réactives de l'oxygène (EROs)             |   |
|---|---|
| Espèces non radicalaires                              | Espèces radicalaires                              |
| Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) | Anion superoxyde (O <sub>2</sub> • <sup>-</sup> ) |
| Oxygène singulier ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )     | Radical hydroxyle (OH•)                           |
| Acide hypochlorique (HOCl)                            | Monoxyde d'azote (NO•)                            |
| Les espèces réactives de l'azote (ERNs)               |   |
| Espèces non radicalaires                              | Espèces radicalaires                              |
| Peroxynitrite (ONOO <sup>-</sup> )                    | Monoxyde d'azote (NO°)                            |
|   | Dioxyde d'azote (NO <sub>2</sub> °)               |

### III.3. Antioxydants

Un antioxydant est une substance ou une molécule ayant la capacité, même en faible quantité, de prévenir, retarder et de réduire l'oxydation d'un substrat. (Parihar et *al.*, 2008). Les antioxydants agissent de diverses manières : ils sont capables de capturer l'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), de désactiver les radicaux libres par une réaction d'addition, de servir également de chélateurs pour les métaux de transition, et de réduire les peroxydes et les radicaux libres (Favier, 2006). On distingue les antioxydants naturels enzymatiques et ceux non enzymatiques.

#### III.3.1. Antioxydants enzymatiques

Les Antioxydants enzymatiques sont des antioxydants endogènes qui jouent un rôle primordial en tant que première ligne de défense contre les radicaux libres. Cette défense inclut un ensemble d'enzymes qui sont données dans le tableau V (Baba et *al.*, 2008)

**Tableau IV :** Principales enzymes à activité antioxydants (Parihar et *al.*, 2008; Favier, 2003).

| ENZYME                     | REACTION   | PROPRIETES   |
|----------------------------|--|--|
| Catalase                   | Transforme l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en H <sub>2</sub> O selon la réaction :<br><br><b>2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -&gt; 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub></b>  | La catalase est associée au NADPH dans les peroxysomes, ce qui la protège et améliore son activité.  |
| Supéroxyde dismutase (SOD) | La SOD catalyse la dismutation de deux radicaux superoxydes pour former peroxyde d'hydrogène :<br><br><b>2H<sup>+</sup> + 2O<sub>2</sub><sup>-</sup> -&gt; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>.</b> | Trois isoformes : SOD1, SOD2 et SOD3.<br><br>Activité dépend de leurs localisations spécifiques dans l'organisme.<br><br>Enzymes à co-acteurs métalliques : Cu <sup>2+</sup> ou Zn <sup>2+</sup> |
| Glutathion Peroxydase      | Catalyse la réduction des peroxydes :<br><br><b>ROOH+2GSH -&gt; ROH+GSSH+ H<sub>2</sub>O</b>   | Localisée au niveau du cytosol et des mitochondries.<br><br>Fonctionnement favorisé en présence de glutathion réduit   |

### III.3.2. Antioxydants non enzymatiques

L'organisme dispose d'une seconde ligne de défense appelée "les piègeurs de radicaux libres" qui sont principalement d'origine nutritionnelle et jouent un rôle essentiel en neutralisant les effets toxiques des EOR limitant ainsi les dommages causés aux cellules et préservant leur intégrité (Koechlin, 2006). Les antioxydants non enzymatiques sont des vitamines, des oligoéléments, des polyphénols, ..... (tableau V).

**Tableau V** : Antioxydants non enzymatiques (Favier, 2003 ; Parihar et *al.*, 2008)

| <b>Antioxydants</b> | <b>Actions</b>  |
|---------------------|---|
| Vitamine C          | <ul style="list-style-type: none"><li>- Piégeur des radicaux libres tels que <math>O_2^{\circ-}</math>, <math>H_2O_2</math>, <math>OH^{\circ}</math> et <math>O_2^-</math>,</li><li>- Protection des biomembranes et des lipoprotéines.</li><li>- Régénère la vitamine E.</li></ul>   |
| Vitamine E          | <ul style="list-style-type: none"><li>- Protège les cellules en prévenant les dommages liés aux radicaux libres</li><li>- Inhibition de la peroxydation lipidique</li></ul>   |
| $\beta$ -carotène   | <ul style="list-style-type: none"><li>- Précurseur de la vitamine A</li><li>- Capacité de neutraliser l'oxygène singulet <math>O_2^-</math> et du radical peroxyde</li></ul>  |
| Glutathion          | <ul style="list-style-type: none"><li>- Tripeptide constitué de cystéine, de glutamine et de glycine</li><li>- Rôle dans la protection des lipides, des protéines et de l'ADN contre l'oxydation.</li></ul>   |
| Oligoéléments       | <ul style="list-style-type: none"><li>- Zn, Cu, Mg, Se et Fe</li><li>- Cofacteurs des enzymes antioxydantes.</li><li>- Favorisent la neutralisation des radicaux libres par enzymes antioxydantes.</li><li>- Protection des cellules contre les dommages oxydatifs.</li></ul>   |
| Polyphénols         | <ul style="list-style-type: none"><li>- Neutralisation des radicaux libres grâce à leur capacité à donner un électron ou un atome d'hydrogène.</li><li>- Neutralisation des ERO et des ERN.</li><li>- Capacité de complexer les métaux ioniques</li><li>- Inhibition des enzymes impliquées dans la production de radicaux libres</li></ul> |

### III.4. Exemples de plantes médicinales douées de pouvoir antioxydants

Les plantes médicinales sont des plantes ou des parties de plantes qui sont utilisées comme remèdes naturels pour quelques maladies (Sofowora, 2010). Dans le tableau VI sont présentés quelques exemples de plantes médicinales connues pour leurs effets antioxydants.

**Tableau VI : Exemples des plantes médicinales à effets antioxydants**

| Nom scientifique                          | Effets biologique   | Références                      |
|---|---|---------------------------------|
| <i>Camellia sinensis</i><br>(Thé vert)    | - Prévention du cancer<br>- Réduction du risque des maladies cardiovasculaires.           | Laib et <i>al.</i> , 2021       |
| <i>Thymus zygis</i><br>(Thym)             | - Favorise la digestion<br>- Dégage les voies respiratoires                               | Amarti et <i>al.</i> , 2011     |
| <i>Zingiber officinale</i><br>(Gingembre) | - Anti- infections,<br>- Antidouleurs musculaires<br>- Action sur les problèmes digestifs | Amir et <i>al.</i> , 2011       |
| <i>Verbena officinalis</i><br>(Verveine)  | - Lutter contre le stress<br>- Lutter contre les troubles intestinaux                     | Abebe et <i>al.</i> , 2017      |
| <i>Pistacia lentisque</i>                 | - Décongestionnante prostatique<br>- Antispasmodique                                      | Krishnaiah et <i>al.</i> , 2011 |

## **I. Matériels et méthodes**

### **I.1. Matériel**

#### **I.1.1. La camomille**

Dans cette étude on a utilisé les fleurs séchées de *Matricaria Camomilla*, communément appelées camomille, achetées chez un herboriste à la ville de Bejaia.

Les fleurs de camomille ont été mise dans une étuvé aérée réglée à 40°C pendant quelques jours pour éliminer toute trace d'humidité. Une quantité de camomille a été utilisée sans broyage pour l'extraction à l'eau. Et la seconde quantité a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre assez fine pour l'extraction par le méthanol.

#### **I.1.2. Le sang**

Le sang utilisé dans l'étude cytotoxique est issu d'un donneur sain a été gracieusement donné par le centre de transfusion sanguine de Sidi Ali Labher. Il a été transporté dans des conditions stériles, conservé au froid à 4° durant la période d'utilisation.

## **II. Méthodes**

### **II.1. Extraction des composés phénoliques**

Deux méthodes ont été utilisées pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la camomille : Extraction aqueuse par méthodes de décoction et extraction organique par le méthanol en utilisant le Soxhlet.

#### **II.1.1. Extraction aqueuse par méthode de décoction**

La méthode d'extraction utilisée est basée sur le protocole décrit par **Chavane et al. (2001)**. Une quantité de 50 g de fleurs séchées de camomille ont été placés dans 125 ml d'eau distillée, puis chauffées jusqu'à ébullition pendant 30 minutes. Le mélange obtenu a été rapidement refroidi puis filtré sur papier filtre. Le filtrat obtenu a été ensuite mis à évaporer dans une étuve réglée à 40°C pendant 7 jours.

### II.1.2.Extraction par méthode de Soxhlet

La méthode d'extraction utilisée est basée sur le protocole décrit par (Penchev,2010). Une quantité de 20 g de poudre de Camomille placé dans une cartouche en cellulose ont été extrait par 250 ml de méthanol 70% en utilisant le Soxhlet. L'extrait ainsi obtenu a ensuite subi une dilipidation par l'hexane puis mis à évaporer dans une étuve à 40°C.

### II.1.3.Calcul du rendement

Le rendement d'extraction a été calculé en utilisant l'expression suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{\text{Poids de l'extrait sec (mg)}}{\text{Poids de la quantité de plante initiale (mg)}} \times 100$$

## II.2.Dosage des composés phénoliques

### II.2.1.Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux présents dans les extraits aqueux et méthanolique de la camomille a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolibdique (H3PMo12O40), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). L'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans l'échantillon.(Ribéreau-Gayon, 1972).

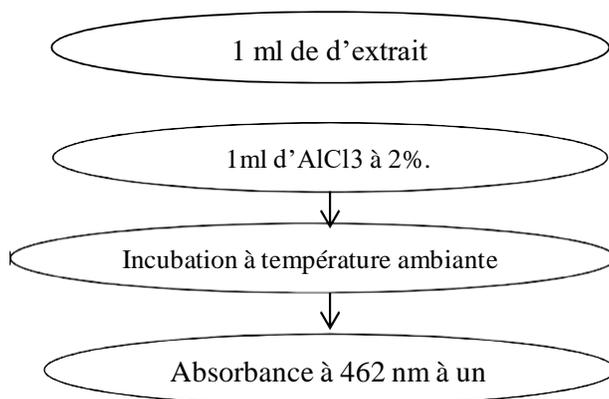
Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Ryan et al.,2013) en y apportant quelques modifications. Des quantités variées entre 10 à 25 µl de chaque extrait à concentration 1 et 5mg/ml ont été mélangé avec 1 ml de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé puis incubé directement à l'obscurité pendant 5 min. Ensuite, 4 ml de Na2CO3 à 6% sont ajouté puis le mélange est réincubé pendant une heure à l'abri de la lumière. Les absorbances sont ensuite lues contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.

Les teneurs en polyphénols totaux ont été exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait méthanolique et aqueux de la camomille (mgEqAG/gEM), calculées en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions réactionnelles avec l'acide gallique comme phénol standard (Annexe).

### **II.2.2. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes selon la méthode colorimétrique utilisant le chlorure d'aluminium comme le réactif. La quantification des flavonoïdes présents dans les extraits aqueux et méthanolique de la camomille a été déterminé par une méthode basée sur la formation d'un complexe jaune très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait est déterminée en fonction de l'intensité de cette coloration jaune, qui est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes (**Quettier et al., 2000**).

Le Protocole utilisé est celui décrite par **Djeridane et al. (2006)**. 1 ml d'extrait a été ajoutés à 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  à 2%. Le milieu est mélangé vigoureusement et mis à incuber à température ambiante pendant 2min. L'absorbance est lue à **462 nm** contre un blanc.



#### **Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane et al.,2006).**

- 🚩 Le blanc a été préparé avec 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  additionné d'1 ml d'eau ou de méthanol.
- 🚩 La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe) réalisée avec la quercitrine. Les résultats sont exprimés en mg EQ/g Extrait).

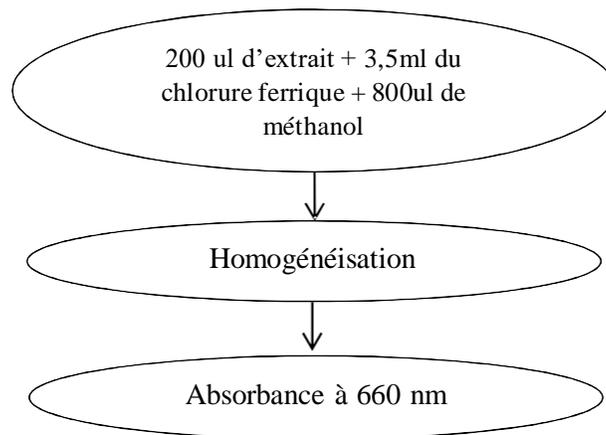
### II.2.3. Dosage des tanins hydrolysables

La teneur en tanins est estimée par la méthode du chlorure ferrique reportée par Mole et Waterman, (1987).

#### **Principe:**

Cette méthode est basée sur la quantification par spectrométrie d'un complexe bleue formé entre les tanins hydrosolubles et le chlorure ferrique (**Mamadou, 2002**),

Le protocole utilisé est celui décrite par **Mole et Waterman, (1987)** selon le schéma ci-dessous :



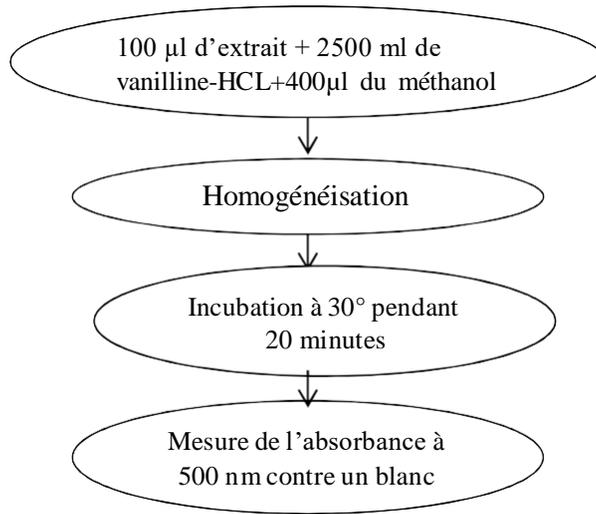
#### **Protocole du dosage des tanins hydrosoluble. Mole et Waterman, (1987)**

- ✚ Un blanc a été préparé de la même façon sans extraits.
- ✚ La courbe d'étalonnage (**annexe**) a été réalisée en utilisant l'acide tannique comme référent. Les résultats sont exprimés en mgEqAT/g Extrait).

### II.2.4. Dosage des tanins condensés

La quantité de tanins condensés a été estimée en utilisant la méthode de la vanilline avec HCl comme décrite par **Deshpande et al. (1986)**. Le principe de cette méthode repose sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés dans un milieu acide, formant ainsi un complexe rouge. La teneur en tanins condensés peut être estimée en fonction de l'intensité de la coloration rouge formée par cette réaction et le complexe est ensuite quantifié par spectrométrie.

Le Protocole utilisé est celui décrite par **Deshpande et al. (1986)** selon le schéma ci-dessous :



**Protocole de dosage des tanins condensés (Deshpande et al., 1986).**

- ✚ Le blanc est préparé de la même manière sans extrait.
- ✚ La teneur en tanins condensés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (annexe). Les résultats sont exprimés en (mg EqC/g d'extrait).

**II.3.Evaluation de la toxicité sur model cellulaire : érythrocytes**

Pour évaluer la toxicité des extraits aqueux et méthanolique, de la camomille deux tests ont été utilisés :

- Le test de la quantification l'hémolyse des érythrocytes pour mesurer l'effet des extraits de plante sur l'intégrité de la membrane érythrocytaire.
- Le test de l'analyse cellulaire microscopique pour évaluer l'effet des extraits sur lamorphologie cellulaire

**II.3.1.Effet des extraits sur l'intégrité de la membrane érythrocytaire**

**A. Préparation de la suspension érythrocytaire**

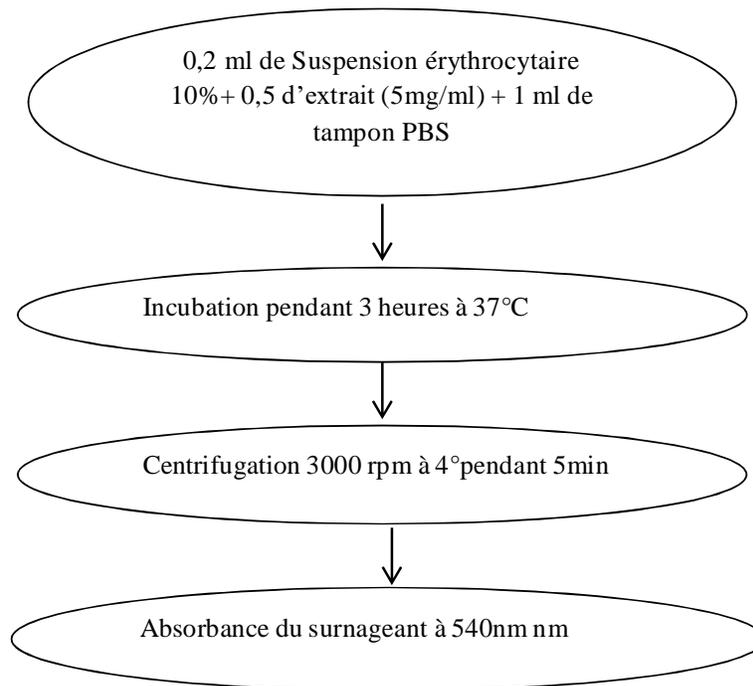
Une suspension érythrocytaire 10% dans du tampon PBS 0,9% de NaCl est préparée fraîchement avant chaque utilisation. Le sang a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes afin d'éliminer le plasma. Le culot est ensuite lavé trois fois avec du tampon PBS (pH 7,2) 0,9%

de NaCl et re-suspendu dans un volume du même tampon de manière à obtenir une suspension d'érythrocytes à 10 %.

### **B. Quantification de l'hémolyse par spectrophotométrie**

La méthode utilisée pour quantifier le taux d'hémolyse est celle décrite par **Guo-Xiang et Zai-Qun (2008)**. En présence d'une substance hémolytique, les hématies sont lysées, libérant ainsi l'hémoglobine et rendant le surnageant rouge. Les hématies qui restent intactes sédimentent. Le taux d'hémolyse est proportionnel à la quantité d'hémoglobine libérée quantifiée par mesure de l'absorbance à 540 nm.

La procédure suivie dans ce test pour évaluer l'effet hémolytique des extraits de la fleur de camomille est décrite dans le schéma ci-dessous :



### **Protocole du test hémolytique décrit par Sun et al. (2008)**

**Nb.**

- 🚩 Un blanc a été préparé de la même façon sans suspension érythrocytaire.
- 🚩 Le contrôle a été réalisé de la même manière mais sans extrait de plante

### **C. Analyse cytologique par observation microscopique**

Le test repose sur l'évaluation de la morphologie et la destruction des érythrocytes par observation microscopique d'un frotti sanguin. Le test a été réalisé comme décrit par **(Bleyer et al.,2020)**.

Des quantités de 0,3 ml de sang fraîchement recueilli dans des tubes d'EDTA (chaque tube en double) ont été mélangé avec 0,3 ml de tampon PBS 0,9% NaCl (tube control) ou 0,3 ml d'extrait aqueux ou méthanolique solubilisé dans du tampon PBS 0,9% NaCl. Les mélanges ont été incubés pendant 2 h et 24h à température ambiante.

Les frottis sanguins pour chaque tube ont été ensuite préparés, séchés à l'air libre puis fixés avec de l'éthanol. Une coloration par la méthode de méthode May-Grunwald-Giemsa a été ensuite réalisée en deux temps : une coloration avec du May-Grunwald dilué à 1/2, ensuite une coloration au Giemsa dilué à 1/10ème et les frottis ont été observés au microscope optique muni d'un camera au grossissement x 100

## **II.4.Evaluation du pouvoir antioxydants**

### **II.4.1.Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP)**

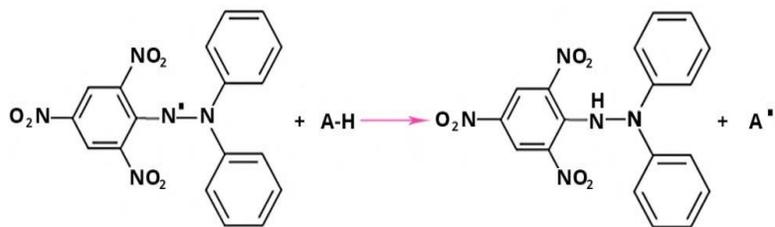
Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'**Oyaizu (1986)**, Cette méthode est basée sur la réduction du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du complexe ferricyanure-  $Fe^{3+}$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), en présence des antioxydants réducteurs. Cette réaction donne une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au potentiel réducteur.

Différentes concentrations d'extraits ont été mélangés avec 1 ml de tampon phosphate et 1 ml de ferricyanure de potassium puis incubés à 50° pendant 20 min, ensuite 1 ml d'acide trichloracétique a été ajouté. Le mélange a été ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 5min. 1 ml de  $FeCl_3$  (0,1 %) et 1,5 ml de méthanol ont été ensuite ajouté à 1.5 ml de surnageant. L'absorbance est lue immédiatement à 700 nm contre un blanc.

### **II.4.2.Evaluation de l'activité anti radical DPPH**

Le principe de ce test consiste à évaluer la capacité des molécules antioxydantes à réduire le DPPH, qui présente une teinte violette, en contrôlant la diminution de son absorbance

à 515 nm. Lorsque le DPPH est réduit, sa forme prend une couleur jaune (Figure 5) (Popovici et al., 2009).



**Figure 5** : Réaction du test DPPH (Popovici et al., 2009).

Différentes concentrations de l'extrait solubilisé dans l'éthanol ont été incubés avec 1ml d'une solution éthanolique de DPPH. Après 30 minutes d'incubation, les absorbances à 525 nm ont été enregistrées.

Le pourcentage d'inhibition (% I) du radical DPPH par l'extrait est calculé comme suit :

$$I = [(AbsC - AbsE) / AbsC] \times 100$$

**Avec :**

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

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

#### **II.4.3. Evaluation de l'activité anti radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Ce test a pour but d'évaluer la capacité de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par mesure de l'absorbance à 230 nm. La concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminue par piégeage ce qui va induire la diminution de son absorbance à 230 nm. Comme, il se peut que les échantillons puissent absorber à cette longueur d'onde, l'utilisation d'un blanc contenant l'extrait sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est exigé

Pour évaluer l'inhibition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1 ml de la solution H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluée auparavant à 1/7 avec du tampon Phosphate (pH7,4) a été mélangé à différents volumes de l'extrait aqueux (5mg/ml) ou organique (1mg/ml). Les volumes ont été ensuite ajustés à 3 ml avec du tampon phosphate et après 15 minutes d'incubation à température ambiante les absorbances ont été enregistrées à 240 nm contre un blanc.

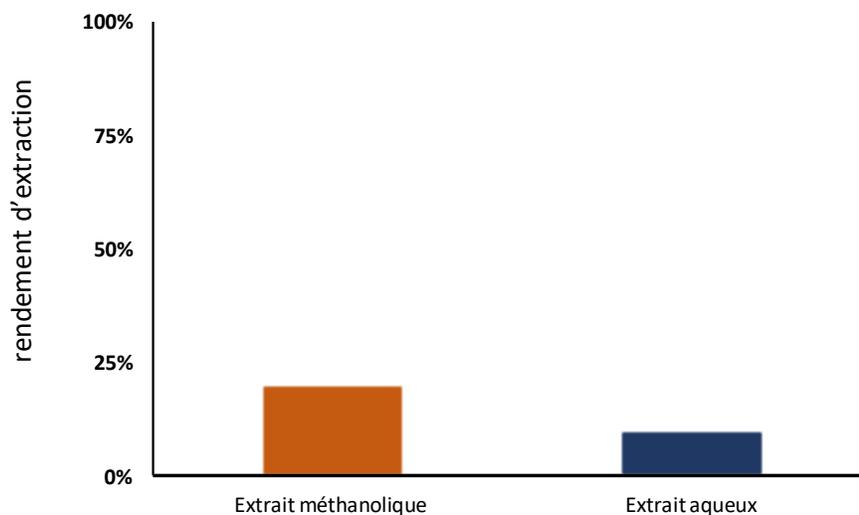
**II.5. L'analyse statistique:** est faite par les logiciels : graphpad et l'Excel



### III. Résultats et discussion

#### III.1. Rendement d'extraction

Les rendements obtenus des extractions des métabolites bioactifs de la camomille à l'eau par décoction et au méthanol par le Soxhlet sont représentés dans la figure 6



**Figure 6** : Tuyaux d'orgue représentant les taux d'extraits aqueux et méthanolique de la camomille.

Les pourcentages d'extraction ont été calculés en comparaison avec la poudre initiale, tant pour l'extrait méthanolique que pour l'extrait aqueux. Les résultats montrent des pourcentages d'extraction de 20 % pour l'extrait méthanolique, deux fois plus élevés que le rendement de l'extrait aqueux 10%.

Plusieurs paramètres, tels que le pH, la température et la durée de l'extraction, peuvent influencer le processus d'extraction des composés phénoliques (Wu et *al.*, 2011). De plus, les différences de polarité entre les composants peuvent expliquer les variations constatées dans les rendements d'extraction. En effet, la solubilité des composés phénoliques dépend du solvant utilisé ainsi que du degré de polymérisation du composé phénolique. Dans ce contexte, le

méthanol est couramment recommandé et utilisé pour l'extraction des composés phénoliques. (Falleh et *al.*, 2008).

### III.2. Teneur en composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins hydrolysables et tanins condensés extraits de la fleur *Matricaria chamomilla* ont été déterminé en se référant aux courbes d'étalonnage d'acide gallique, de quercétine, d'acide tannique et de catéchine (Annexes). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau VII

**Tableau VII** : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins hydrolysables et tanins condensés des aqueux et méthanolique de la fleur *Matricaria chamomilla*

|                             | <b>Polyphénols totaux</b><br>mgEq.AG/g ES. | <b>Flavonoïdes</b><br>mgEq.Q/g ES | <b>Tanins hydrosolubles</b><br>mgEq.AT/g ES | <b>Tanins condensés</b><br>mgEq.C/g ES. |
|-----------------------------|--|-----------------------------------|---|---|
| <b>Extrait Aqueux</b>       | 20,115 ± 0,41                              | 27,82 ± 0,01                      | 0,25 ± 0,008                                | 0,412 ± 0,002                           |
| <b>Extrait méthanolique</b> | 89,09 ± 0,01                               | 95,27 ± 0,73                      | 638,42 ± 0,04                               | 18,62 ± 0,001                           |

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart types

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique a une plus grande teneur en phénols totaux (89,09±0,01) par rapport à l'extrait aqueux (20,115± 0,41) avec une concentration plus élevée des flavonoïdes enregistrée pour l'extrait méthanolique (95,27 ± 0,73) par rapport à l'extrait aqueux

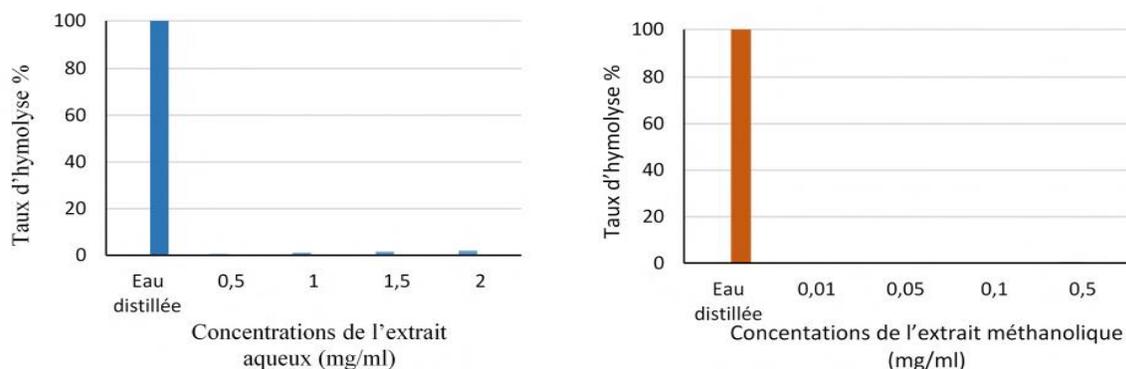
Les teneurs en tanins hydrosolubles de l'extrait aqueux (0,25 ± 0,008) sont extrêmement faibles par rapport à l'extrait méthanolique (638,42 ± 0,04). De même que pour les tanins condensés ou deux extraits aqueux et méthanolique présentent des

teneurs de  $0,412 \pm 0,002$  et  $18,62 \pm 0,00$  respectivement.

Les plantes peuvent contenir différents types de composés phénolique, Cette diversité structurale entraîne une grande variabilité des propriétés physico-chimiques qui influencent l'extraction des polyphénols. La solubilité des composés phénoliques est influencée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est difficile de développer un processus d'extraction adapté pour extraire tous les composés phénoliques présents dans une plante. (Bensaleh et al.2021)

### III.3. Activité cytotoxique

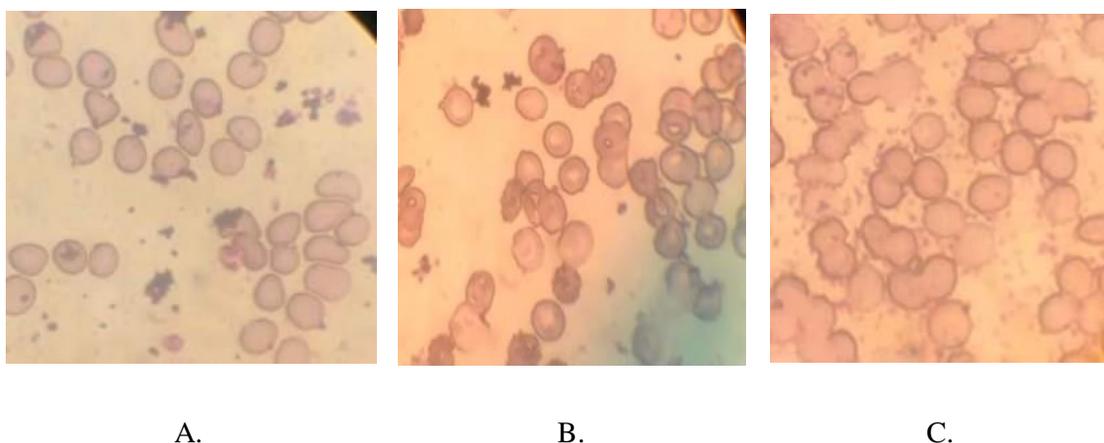
Pour évaluer la cytotoxicité des extraits, l'activité hémolytique des extraits méthanolique et aqueux de Fleurs de camomille a été testées sur des suspensions Érythrocytaires à différentes concentrations. Les taux d'hémolyse obtenus sont indiqués dans la figure 7. Les résultats montrent qu'aux concentrations utilisées, les deux extraits ne montrent aucun effet hémolytique (Taux d'hémolyse 0% pour les différentes concentrations testées). L'intégrité de la membrane érythrocytaire n'est pas affectée par les métabolites extraits de la fleur camomille au moins pour les concentrations  $\leq$  à 25 mg/ml



## Résultats et discussion

**Figure 7 :** Taux d'hémolyse par l'extrait aqueux (à gauche) et l'extrait méthanoliques (à droite) de la camomille

Ce résultat est confirmé par l'analyse cytologique. En effet, les résultats de l'observation microscopique des hématies réincubées avec 25 mg/ml d'extrait de camomille (figure 8), montrent que l'extrait aussi bien aqueux que méthanolique de la camomille ne fragilise pas les membranes érythrocytaires ni n'affecte pas la morphologie de l'érythrocyte. Les membranes des globules rouges sont restées bien lisses et les cellules sont de formes sphériques.



**Figure 8 :** Observation au microscope optique (grossissement x100) des globules rouges traitées pendant 2H à température 37°C par le tampon PBS 0,9% NaCl (A), 25mg/ml d'extrait aqueux de camomille (B) et 25mg/ml d'extrait méthanolique de camomille. (C)

Le test d'hémolyse a été évalué car, même si une plante possède un pouvoir antioxydant, son utilisation en médecine traditionnelle et dans les préparations pharmacologiques sera impossible en présence de leur effet hémolytique, qui est un indicateur de cytotoxicité (Chaouche et *al.*, 2015). Les résultats du pouvoir hémolytique des extraits montrent que les extraits étudiés ne représentent pas d'un effet hémolytique aux concentrations et au temps contact avec érythrocytes humains testées et ce qui pourrait être expliqué l'absence ou la présence d'une faible teneur en saponines dans les extraits . En effet, les saponines sont connues pour leur capacité à induire la formation de pores au travers des membranes cellulaires

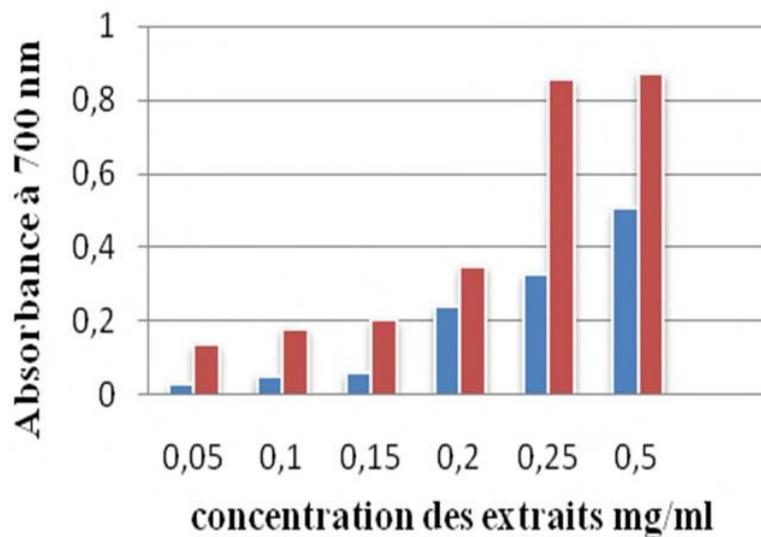
## Résultats et discussion

et ainsi entraîner l'hémolyse des globules rouges (érythrocytes) (Voutquenne et al., 2002), libérant ainsi l'hémoglobine, et rendant le surnageant rouge

### III.4. Pouvoir antioxydants des extraits de *Matricaria chamomilla*

#### III.4.1. Pouvoir réducteur FRAP

La réduction de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux  $Fe^{2+}$  est un test reproductible, rapide et facile à effectuer (Oyaizu, 1986). Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des extraits méthanolique et aqueux de fleurs de camomille sont présentés dans la figure 9



**Figure 9** : Histogrammes représentant les absorbances à 700 nm de la réduction du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux  $Fe^{2+}$  par différentes concentrations des extraits aqueux et méthanolique de la camomille

Selon les résultats obtenus, il a été constaté que le pouvoir réducteur des deux extraits aqueux et méthanolique augmentent avec la concentration des extraits. De plus, il a été observé que l'extrait méthanolique présente une activité réductrice plus élevée à chaque concentration. L'activité réductrice pour 0,5 mg/ml de concentration a enregistré une absorbance de 0,9 UA pour l'extrait méthanolique et une absorbance de 0,5 UA pour l'extrait aqueux. En comparant à l'acide ascorbique, antioxydant de

## ***Résultats et discussion***

référence, le pouvoir réducteur du fer ferreux de nos extraits est plus faible. En effet, une absorbance de 1UA est obtenue pour une concentration de 0,1mg/ml d'acide ascorbique.

La chélation des ions métalliques a des effets antioxydants car le fer qui est un métal de transition provoque l'oxydation des lipides insaturés et génère des espèces réactives de l'oxygène favorisant les dommages oxydatifs à différents niveaux (Meyer et Frankel, 2001)

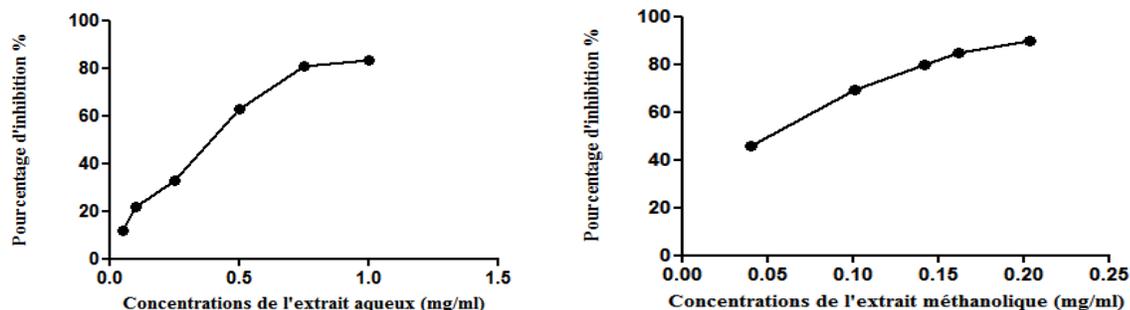
Le pouvoir réducteur de la fleur de *Matricaria chamomilla* est probablement attribué à la présence de groupes hydroxyle dans les composés phénoliques qu'elle contient. Ces groupes hydroxyle peuvent agir en tant que donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants présents dans la camomille peuvent être considérés comme des agents réducteurs qui neutralisent les oxydants en inactivant leur potentiel oxydant. (Siddhuraju et Becker, 2007)

### **III.4.2. Activité antiradicalaire DPPH**

La capacité antioxydante des divers extraits de la plante envers le radical DPPH° a été évaluée par spectrophotométrie en observant la réduction de ce radical par changement de sa couleur du violet au jaune qui se traduit par la diminution de l'absorbance. (Majhenic et al., 2007). Cette méthode est couramment employée pour évaluer le potentiel antioxydants en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de sa sensibilité (Jayaprakasha et Pati, 2007).

Les résultats de l'évaluation du potentiel antioxydants des extraits de camomille obtenus par cette méthode et exprimés en taux d'inhibition du radical DPPH sont représentés dans la figure 10

## Résultats et discussion



**Figure 10** : Taux d'inhibition du radical DPPH à différentes concentrations de l'extrait aqueux (A) et l'extrait méthanolique (B) de fleur de *Matricaria chamomilla*

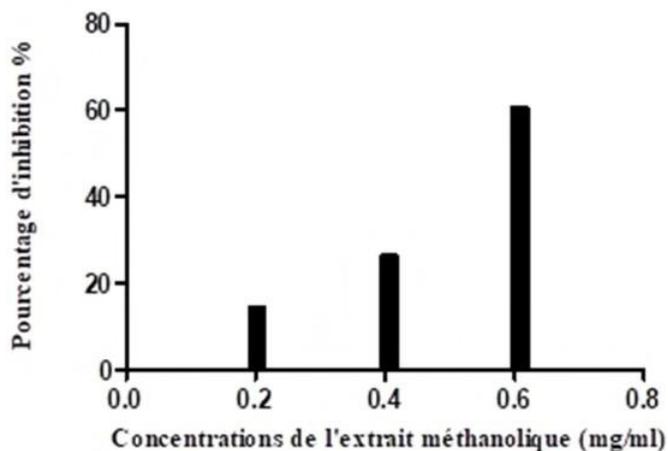
D'après les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmentent proportionnellement en fonction des concentrations des deux extraits. L'extrait méthanolique représente une efficacité antiradicalaire plus élevée ( $IC_{50} = 0,054 \pm 0,08,45$  mg/ml) par rapport à l'extrait aqueux ( $IC_{50} = 0,3 \pm 0,01$  mg/ml) mais toujours plus faible que celle de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 0,01$  mg/ml) utilisé comme molécule de référence.

Les variations dans l'efficacité antioxydante peuvent être liées au mécanisme de piégeage des radicaux, qui implique la réaction entre un antioxydant et le radical libre DPPH. Cette réaction dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés sont capables de réagir rapidement avec le radical DPPH, ce qui entraîne la réduction d'un nombre de molécules de DPPH équivalent au nombre de groupes hydroxyle présents dans l'antioxydant. Ainsi, la capacité d'un antioxydant à réagir efficacement avec le radical DPPH et à neutraliser ses effets peut être influencée par sa conformation structurale (**Bondet et al. ,1997**)

### III.4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Les résultats de l'activité de piégeage du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peroxyde d'hydrogène) par l'extrait méthanolique des feuilles de camomille à différentes concentrations sont représentée dans la figure 9.

## Résultats et discussion



**Figure 11** : Tuyaux d'orgue représentant les taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène par différentes concentrations de l'extrait méthanolique des fleurs de *Matricaria chamomilla*

Le résultat montre l'extrait méthanolique inhibe le radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec une efficacité correspondante à IC<sub>50</sub> ≈ 0,5 mg/ml.

Pour l'extrait aqueux, en raison de la forte absorbance de l'extrait à 240nm, de faibles concentrations par rapport à l'extrait méthanolique ont été testées (≤ 0.2mg/ml). Les taux d'inhibition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enregistrés pour ces concentrations sont très faibles (≤ 8%).

Le peroxyde d'hydrogène en lui-même n'est pas très réactif, mais il est parfois toxique pour la cellule parce qu'il est à l'origine des radicaux hydroxyles présents dans les cellules. Par conséquent, le retrait de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est très important pour la défense antioxydante dans la cellule (**Halliwell, 1991**). Les extraits de plantes ont démontré une action protectrice des cellules animale contre la cytotoxicité induite par le peroxyde d'hydrogène. Cette activité est principalement due aux composés phénoliques de type flavonoïdes (**Kumaran et Karunakaran, 2007**)

## Conclusion Générale

De nos jours, de nombreuses plantes médicinales possèdent diverses propriétés biologiques sans aucun doute liées aux vertus thérapeutiques attribuées à une vaste gamme de molécules bioactives produites par la plante issue généralement du métabolisme secondaire. Beaucoup de médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les flavonoïdes qui sont des composés très intéressants en raison de leur propriété d'antioxydants.

Au cours de cette étude, nous avons choisi les fleurs camomille « *Matricaria chamomilla* » comme sources de ces métabolites et nous avons réalisé deux types d'extractions une à l'eau par décoction et l'autre au méthanol par le Soxhlet. La quantification des teneurs en composés phénoliques dans ces extraits a montré que l'extrait méthanolique est riche en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins que l'extrait aqueux. L'analyse de toxicité réalisée ex vivo sur model cellulaire simple, l'érythrocyte, a révélé une absence de toxicité au moins pour des concentrations inférieures à 25mg/ml d'extrait. L'évaluation de l'activité antioxydants par divers test in vitro (test DPPH, FRAP, piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ont révélés un fort potentiel antioxydants (antiradicalaire, pouvoir réducteur ou piégeage de radical) aussi bien pour l'extrait aqueux que pour l'extrait methanolique. Néanmoins, ce potentiel reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique, antioxydants de référence.

La camomille contient des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter probablement une activité comparable à celle de l'acide ascorbique et pourraient constituer une alternative aux antioxydants synthétiques. Des travaux complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

### -A-

**Abebe, A., Abebe, M., & Mekonnen, A. (2017).** Assessment of antioxidant and antibacterial activities of crude extracts of *verbena officinalis* Linn root or Atuch (Amharic). *Chem Int*, 3, 172-184.

**Adli D.E.H. (2015).** Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Thèse de doctorat. Université d'Oran. P 44-67-91.

**Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

**Allais, D. (2008).** La partenelle (grande camomille). *Actualités pharmaceutiques*, 47(475), 57-59.

**Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., ... & Chaouch, A. (2011).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9(3), 149-157. *Syzygium aromaticum*

**Amir, M., Khan, A., Mujeeb, M., Ahmad, A., Usmani, S., & Akhtar, M. (2011).** Phytochemical Analysis and in vitro Antioxidant Activity of *Zingiber officinale*. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 75-81

### -B-

**Baba, L., & McGrath, J. M. (2008).** Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care*, 8(5), 256-264.

**Bahmani, M., Saki, K., Golshahi, H., Rafieian-Kopaei, M., Abdali, N., Adineh, A., ... & Bahmani, F. (2015).** Ethnobotanical and therapeutic uses of camomille. *J Chem Pharm Res*, 7(1), 640-5.

**Beaudeux, J. L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., & Legrand, A. (2006, November).** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote: Implication dans la transcription et la régulation des gènes. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 373-381). Elsevier Masson.

**Bondet V, Brand-Williams W, Berset C (1997)** Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmitt Wissenschaft Technologie Food Sci Technol* 30:609–615

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, Ed. Tec & Doc.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> éd. Lavoisier. ( Tech. de l'Ing., n o J2782).

### -C-

**Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., ... & Larbat, R.(2015).** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, 64, 182-187.

**Chavan, U. D., Shahidi, F., & Naczki, M. (2001).** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food chemistry*, 75(4), 509-512.

### -D-

**Dausset, J. (1976).** Le complexe HLA les associations entre HLA et maladies. *Nowpresse med*, 5:1477-1482.

**Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.

**Deshpande S. S., Cheryan M., et Salunkhe D. K. 1986.** Tannin analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 24 (4): 401–449.

**Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P et Vidal, N. (2006)..** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts compound. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

**Duan, X., Li, J., Cui, J., Li, H., Hasan, B., & Xin, X. (2022).** Chemical component and in vitro protective effects of *Matricaria chamomilla* (L.) against lipopolysaccharide insult. *Journal of Ethnopharmacology*, 296, 115471.

### -E-

**\*El Mihyaoui, A., Esteves da Silva, J. C., Charfi, S., Candela Castillo, M. E., Lamarti, A., & Arnao, M. B. (2022).** Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. *Life*, 12(4),

479.

### -F-

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. Vol(12) 108-111.

**Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques francaises*, 64 :390-396..

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray B. N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C. 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331:372-379

### -G-

**Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A. M. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Dossier, 2, 272.

**-Goudable, J., Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11:115-120.

**Guo-Xiang L, Zai-Qun L (2008)** The protective effects of ginsenosides on human erythrocytes against hemin-induced hemolysis. *Food Chem Toxicol* 46:886–92

### -H-

**Halliwell, B. (1991).** Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American journal of medicine*, 91(3), S14-S22

**Heidarianpour, A., Mohammadi, F., Keshvari, M., & Mirazi, N. (2021).** Effets améliorants de l'entraînement d'endurance et de l'extrait hydroéthanolique de fleurs de *Matricaria chamomilla* sur le déficit cognitif chez les rats diabétiques de type 2. *Biomédecine & Pharmacothérapie*, 135, 111230.

**Hernández I., Alegre L., Van Breusegem F. and Munné-Bosch S. 2009.** Trends in Plant Science, 14 (3), 125–132.

**Hodek, P., Trefil, P. & Stiborov, A. M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139, 1–21.

**-K-**

**Kalia, K., Sharma, K., Singh, H.P., Singh, B., 2008.** Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10129–10134.

**Khanbaba K., Ree T.R. (2001)** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18, 641-649.

**Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

**Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011).** A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.

**Kumar, S., Pandey, A.K. (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Hindawi The Scientific World Journal*, (ID: 162750), 1-16.

**Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007).** Antioxidant activity of *Cassia auriculata* flowers. *Fitoterapia*, 78(1), 46-47

**-L-**

**Laib, I., Kehal, F., Arris, M., Maameri, M. I., Lachlah, H., Bensouici, C., ... & Barkat, M. (2021).** Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante du thé vert *Camellia sinensis* L. issu de l'agriculture biologique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 35(3)

**Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L and Wul M. J. (2003).** Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol 11(1): 60-66.

**Lobstein A. 2010.** Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes.3-25.

### -M-

**Macheix, JJ, Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique . PPUR presses polytechniques.

**Messaoudi, M. (2022).** Mise en évidence des activités biologiques et des études minérales de certaines plantes médicinales cultivées en Algérie *Teucrium polium L, Matricaria chamomilla L et Mentha pulegium L* (Doctoral dissertation, University of Eloued جامعة الشهيد حمه لخضر).

**Meyer, AS, & Frankel, EN (2001).** Activité antioxydante des acides hydroxycinnamiques sur l'oxydation des lipoprotéines de basse densité humaines. Dans *Methods in Enzymology* (Vol. 335, pp. 256-265). Presse académique

**Molino, S., Dossena, M., Buonocore, D., Ferrari, F., Venturini, L., Ricevuti, G., & Verri, M. (2016).** Polyphenols in dementia: From molecular basis to clinical trials. *Life Sciences*, 161, 69-77

### -N-

**Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.

**Niki E. (2018).** Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress. ! *Free Radic Biol Med*. 124 :564.

### -O-

**Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44(6):307-315.

### -P-

**Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021).** Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, 14(8), 1984.

**\*Parihar, A., Parihar, MS., Milner, S. (2008).** Bhat S. Oxidative stress and antioxidative mobilization in burn injury. *Burns*, 34:6-17

**Penchev, P. I. (2010).** *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions* (Doctoral dissertation).

**Penna, C., Mancardi, D., Rastaldo, R., Pagliaro, P. (2009).** Cardio protection: A radical view Free radicals in pre and post conditioning. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1787: 781–793.

**Popovici C., Saykova I and Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4. P 25-39.

### -Q-

**Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., et Luyckx, M. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hull and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 35-42.

### -R-

**Ribereau-Gayon, P. (1972).** Propriétés chimiques des phénols. In "les composés phénoliques des végétaux". Edition Dunod Paris, p : 29-57.

**Ryan, I. (2013).** Polyphenol bioaccessibility and sugar reducing capacity of black, green, and white teas. *Int J Sci*.

### -S-

**Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Vujčić Bok, V., & Salopek-Sondi, B. (2021).** The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. *Plants*, 10(1), 118.

**Sebbar, E. H., Naji, I., El Mezgueldi, I., & Choukri, M. (2023).** Le stress oxydatif, une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(626), 36-37.

**Seddik, K., Dalila, B., Saliha, D., Saliha, D., Smain, A., Nouredine, C., ... & Lekhmici, A. (2013).** Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria chamomilla* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(2), 35-40.

**Sharma, A.; Shahzad, B.; Rehman, A.; Bhardwaj, R.; Landi, M.; Zheng, B.** Réponse de la voie des phénylpropanoïdes et rôle des polyphénols dans les plantes soumises à un stress abiotique. *Molécules* 2019 , 24 , 2452.

**Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007).** Les activités antioxydantes et de piégeage des radicaux libres des extraits de graines de niébé transformés (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Chimie alimentaire*, 101 (1), 10-19.

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

**Sofowora, A. (2010).** *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. KARTHALA Editions.

**Sun, Y., Li, M., & Liu, J. (2008).** Haemolytic activities and adjuvant effect of *Anemone raddeana* saponins (ARS) on the immune responses to ovalbumin in mice. *International immunopharmacology*, 8(8), 1095-1102.

### -T-

**Tijjani, H., Zangoma, MH, Mohammed, ZS, Obidola, SM, Egbuna, C., & Abdulai, SI (2020).** Polyphénols : Classifications, biosynthèse et bioactivités. *Aliments fonctionnels et nutraceutiques : composants bioactifs, formulations et innovations*, 389-414.

**Tu W., Wang H., Li S., Liu Q. & Sha H. (2019).** The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Disease*. 10(3): 673-648.

### -V-

**Valko, M., Rhodes, Cj., Moncol, J., Izakovic, M.M., Mazur, M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 140.

**Van Acker, S., Van Balen, G.P., Van Den, Berg D.J. & Van Der, Vijgh W.J.F. (1996).** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56, 935– 943.

**Viala, A., botta, A. (2007).** *Toxicologie*. Lavoisier. 2eme Ed. Tec & Doc, France p:54.

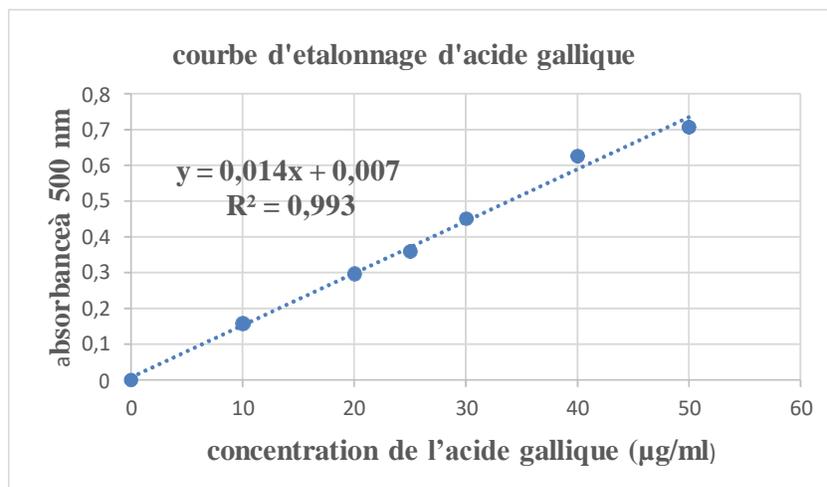
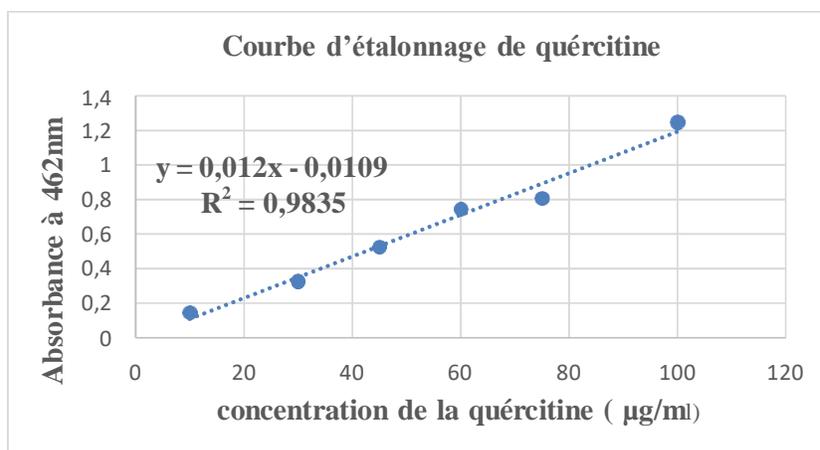
**Voutquenne, L., Lavaud, C., Massiot, G., & Men-Olivier, L. L. (2002).** Structure-activity relationships of haemolytic saponins. *Pharmaceutical biology*, 40(4), 253-262.

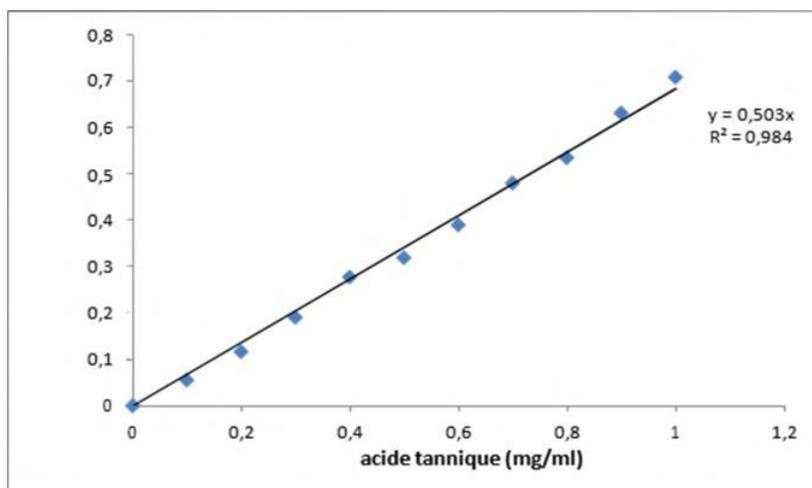
**Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (Eds.). (2010).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. CRC Press

**Wu, X., Yu, X., & Jing, H. (2011).** Optimization of phenolic antioxidant extraction from Wuweizi (*Schisandra chinensis*) pulp using random-centroid optimization methodology. *International journal of molecular sciences*, 12(9), 6255-6266.

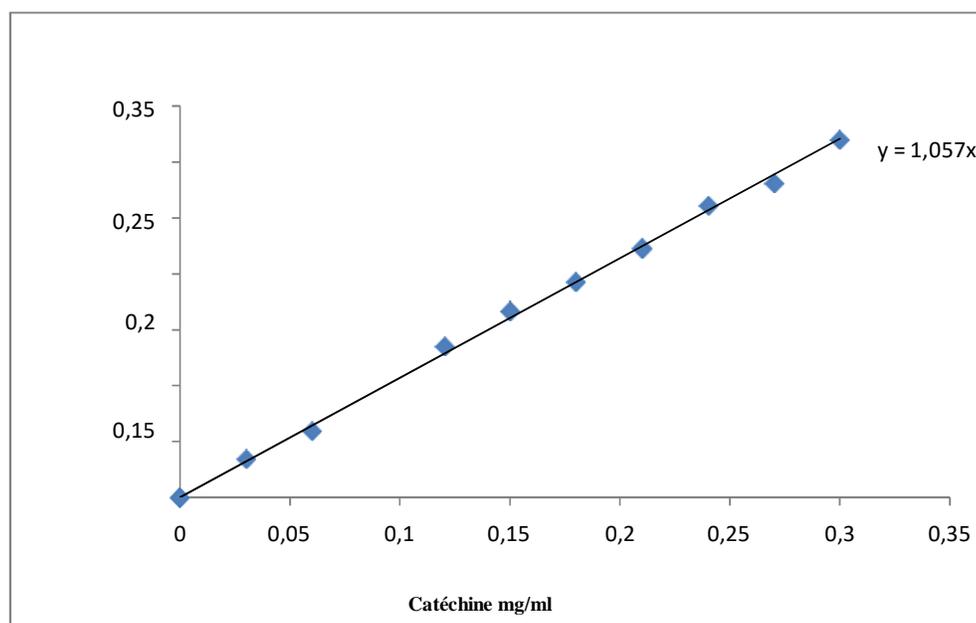
**-Z-**

**Zak, D., Roth, C., Unger, V., Goldhammer, T., Fenner, N., Freeman, C. et Jurasinski, G. (2019).** Dévoiler l'importance des polyphénols pour la minéralisation microbienne du carbone dans les tourbières riveraines remouillées. *Frontières des sciences de l'environnement*, 7, 147.

**Annexe 1 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des phénols totaux.**Annexe 2 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes**Annexe 3 :** Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour dosage des tanins hydrosolubles



**Annexes 4 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour dosage des tanins condensé



Préparation du tampon phosphate pbs

| quantités                      | Réactifs                        | déssolution            |
|--------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| 1,36g                          | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 100 ml d'eau distillée |
| 1,74                           | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 100ml d'eau distillée  |
| Melanger                       |                                 |                        |
| Ajouter 8,5 g de Nacl          |                                 |                        |
| Ajouter 100 ml d'eau distillée |                                 |                        |
| Ajuster le PH à 7,2            |                                 |                        |

## Résumé

*Matricaria chamomilla* connue en Algérie sous le nom vernaculaire de «Babounej» est une plante médicinale de la famille des astéracées , largement utilisée en médecine traditionnelle en raison ces propriétés apaisantes et curatives. Les propriétés médicinales de cette plante sont potentiellement dues aux propriétés antioxydants de ces métabolites secondaires comme les polyphénols. Dans ce travail, nous avons quantifié les composés phénoliques, testés *in vitro* le potentiels antioxydants et l'activité hémolytique, des extraits méthanoliques et aqueux des fleurs de *Matricaria chamomilla*. L'analyse phytochimique quantitative a montré la présence de quantités élevées de flavonoïdes et tannins dans l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux. L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée par les tests FRAP, piégeage du radical DPPH et du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont montré une bonne activité antioxydants surtout pour l'extrait méthanolique (IC<sub>50</sub>DPPH = 50µg/ml, IC<sub>50</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ≈ 0,5 mg/ml) et une absence de toxicité sur model cellulaire pour des concentration allant jusqu'à 25mg/ml. Les résultats obtenus suggèrent un potentiel effet bénéfique potentiel des fleurs de camomille surtout dans la prévention des affections liées au stress oxydant.

**Mots clés :** *Matricaria chamomilla*, polyphénols, flavonoïdes, potentiel antioxydants

## Abstract

*Matricaria chamomilla*, known in Algeria by the vernacular name "Babounej," is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family. It is widely used in traditional medicine due to its soothing and healing properties. The medicinal properties of this plant are potentially attributed to the antioxidant properties of its secondary metabolites, such as polyphenols in this study, we quantified the phenolic compounds, tested the *in vitro* antioxidant potential and hemolytic activity of methanolic and aqueous extracts of *Matricaria chamomilla* flowers. Quantitative phytochemical analysis showed the presence of high amounts of flavonoids and tannins in the methanolic extract compared to the aqueous extract. The evaluation of antioxidant power, performed using FRAP, DPPH radical scavenging, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging assays, showed good antioxidant activity, especially for the methanolic extract (IC<sub>50</sub>DPPH = 50 µg/ml, IC<sub>50</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ≈ 0.5 mg/ml), and no toxicity on a cellular model at concentrations up to 25 mg/ml. The results obtained suggest a potential beneficial effect of chamomile flowers, particularly in the prevention of conditions related to oxidative stress.

**Keywords:** *Matricaria chamomilla*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity

## ملخص

*Matricaria chamomilla* المعروف في الجزائر تحت الاسم العامي "Babounej" هو نبات طبي من عائلة Asteraceae، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لما له من خصائص مهدئة وعلاجية. من المحتمل أن تعود الخصائص الطبية لهذا النبات إلى الخصائص المضادة للأكسدة لهذه المستقبلات الثانوية مثل البوليفينول. في هذا العمل ، قمنا بتحديد كمية المركبات الفينولية ، التي اختبرناها في المختبر إمكانات مضادات الأكسدة والنشاط الانحلالي للمستخلصات الميثانولية والمائية لزهور *Matricaria chamomilla*. أظهر التحليل الكيميائي النباتي الكمي وجود كميات عالية من مركبات الفلافونويد والعفص في المستخلص الميثانولي مقارنة بالمستخلص المائي. أظهر تقييم قوة مضادات الأكسدة التي تم إجراؤها بواسطة اختبارات FRAP ، وحبس جذر DPPH وجذر H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> نشاطًا جيدًا مضادًا للأكسدة خاصة بالنسبة للمستخلص الميثانولي (IC<sub>50</sub>DPPH = 50 ميكروغرام / مل ، IC<sub>50</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.5 مجم / مل) و عدم وجود سمية في نموذج الخلية لتركيزات تصل إلى 25 مجم / مل. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى وجود تأثير مفيد محتمل لأزهار البابونج ، خاصة في الوقاية من الحالات المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: *Matricaria chamomilla*، flavonoids، polyphenols، إمكانات مضادات الأكسدة