



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
«Biotechnologie et Valorisation des PhytoRessources»

Effet des modes de séchage sur la teneur en flavonoïdes et l'activité anti-oxydante de *Matricaria chamomilla*

Présenté par : EL ABDALI Youness

Encadré par : Pr MIKOU Karima (Professeur à la FST de Fès)

Soutenu le : 15/6/2015

Devant le jury composé de :

- Pr MIKOU Karima (Professeur à la FST de Fès)
- Pr RACHIQ Saâd (Professeur à la FST de Fès)
- Pr BOUKIR Abdellatif (Professeur à la FST de Fès)

Année universitaire

2014/2015

DEDICACE

À mon Dieu, le tout puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail.

À mes parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et durant mes études.

*À mes frères : Mounir, Siham, Khadija.
À tous les membres de ma famille.*

À tous mes amis.

À toute personne qui me connaît.

Youness El Abdali

REMERCIEMENTS

*J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche dans le laboratoire de Molécules Bioactives sous la direction du Professeur **Mikou Karima**.*

*Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier Madame le Professeur **Mikou Karima** pour avoir accepté de m'accueillir au sein du Laboratoire, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Aussi pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.*

*Je remercie également les membres de jury Madame le Professeur **Mikou Karima**, Monsieur le professeur **Rachiq Saâd**, et Monsieur le professeur **Boukir Abdellatif** d'avoir accepté de juger mon simple travail.*

*Je remercie sincèrement Monsieur le professeur **Khalid Amrani** responsable de la filière (BVPR), pour son aide et ses conseils.*

Je remercie chaleureusement tous mes professeurs en filière « Biotechnologie et Valorisation des PhytoRessources » pour la bonne formation qu'ils m'ont accordée.

*Je remercie sincèrement Monsieur **Zakaria Hazzoumi** et Monsieur **Youssef Moustakim** doctorant au laboratoire de Molécules Bioactives pour leur aide, leurs conseils et commentaires mais aussi pour leur bienveillance qui a été fort utile.*

Merci aussi à tous mes collègues et amis du laboratoire.

Je tiens à remercier de tout mon cœur ma famille pour son soutien sans faille et permanent qui a été essentiel tout au long de mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Liste des figures et tableaux

Fig. 1: Photo de <i>Matricaria chamomilla</i> prise par Y. El Abdali.....	3
Fig. 2: Structures chimiques des composés majoritaires de <i>Matricaria chamomilla</i>	4
Fig. 3: Noyau flavone.....	5
Fig. 4: Noyau flavane	6
Fig. 5: Squelette de base des flavonoïdes.....	6
Fig. 6: Mécanisme général de biosynthèse des flavonoïdes.....	7
Fig. 7: Représentation des principales classes et sous-groupes des flavonoïdes au niveau de l'hétérocycle C.....	8
Fig. 8: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.	11
Fig. 9: Réduction du radical DPPH.....	12
Fig. 10: Effet du mode de séchage sur la teneur en flavonoïdes (%) de <i>Matricaria chamomilla</i>	14
Fig. 11: Inhibition du DPPH par l'acide ascorbique et les différents extraits de <i>Matricaria chamomilla</i>	16
Fig. 12: Valeurs de la CI50 de l'acide ascorbique et les différents extraits de <i>Matricaria chamomilla</i>	16
Tableau 1 : Teneur en flavonoïdes de <i>Matricaria chamomilla</i> séché à l'air libre ou à l'étuvemode	14

Sommaire

INTRODUCTION	1
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I Données sur <i>Matricaria chamomilla</i>	2
I.1 La famille des Astéraceae	2
I.2 Le genre <i>Matricaria</i>	2
I.3 Place de <i>Matricaria chamomilla</i> dans la Systématique	2
I.4 Description	3
I.5 Composition chimique	3
I.6 Usage de <i>Matricaria chamomilla</i>	5
II Les flavonoïdes	5
II.1 Généralités	5
II.2 Définition	5
II.3 Biosynthèse	6
II.4 Sous-classes des flavonoïdes	7
II.5 Rôle dans les plantes et intérêt pharmacologique	8
III L'activité anti oxydante	8
III.1 Définition de l'activité anti oxydante	8
III.2 Notion de radicaux libres et d'anti oxydants	9
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	10
I Matériel végétal	10
II Méthodes expérimentales	10
II.1 Séchage des plantes récoltées	10
II.2 Extraction	10
II.3 Dosage des flavonoïdes	11
II.4 Test de l'activité anti oxydante	11
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION	14
1- Séchage	14
2- Dosage des flavonoïdes	14
3- Test de l'activité anti oxydante	15
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	18
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	19

ANNEXES

INTRODUCTION

A travers les âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via les sources naturelles a donné des résultats dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [1].

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages [2].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols des végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires.

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins [3].

C'est dans ce contexte, que notre travail va s'inscrire vu l'implication de notre laboratoire (Molécules bioactives) dans cet axe de recherche. Il se veut une contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation biologique de plantes médicinales appartenant à notre flore. Dans notre cas c'est *Matricaria chamomilla* de la famille des Astéraceae, dont on va essayer de faire le dosage des flavonoïdes ainsi que tester l'activité antioxydante de cette plante dont l'usage est très répandu dans notre pays.

Notre choix repose sur le fait que le genre *Matricaria* est d'une part doué d'activités biologiques et d'autre part c'est un excellent accumulateur de molécules de type lactones sesquiterpéniques et flavoniques.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I Données sur *Matricaria chamomilla*

I.1 La famille des Astéraceae

Matricaria chamomilla, nommée communément la camomille allemande, appartient à la famille des Astéraceae. Cette dernière est l'une des plus distribuées dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces [4,5]. Une des propriétés typique de la famille des Astéraceae (Compositae) est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des térpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui présentent des principes amers typiques de cette famille [6].

I.2 Le genre *Matricaria*

La plupart des matricaires sont très fréquents dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, et en Amérique, ainsi que dans le nord et le sud de l'Afrique, et certaines sont naturalisées en Australie.

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué [7].

Ce genre renferme des espèces à réceptacle conique. Elles se distinguent par l'absence de poils sur leurs parties végétatives et par le manque de paillettes sur le réceptacle de leurs capitules [8].

I.3 Place de *Matricaria chamomilla* dans la Systématique

Matricaria chamomilla est classée dans le règne végétal [7,9] selon la systématique suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement : Phanerogamae (Phanérogames)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (Dicotyledones)

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae (Compositae)

Sous-famille: Asteroideae

Tribu: Anthemideae

Sous-tribu : Matricariinae

Genre : *Matricaria*

Espèce : *chamomilla*

Noms populaires : camomèle, camomille allemande, camomille commune, matricaire camomille, petite camomille, œil du soleil ...

Nom latin : *Matricaria chamomilla*

Nom arabe : Babounj (بابونج)

I.4 Description

Petite plante annuelle herbacée de 15 à 50 cm de hauteur, glabre, grêle, dégageant au froissement une forte odeur aromatique, de saveur amère. **Fig 1.**

Partie souterraine : Racine pivotante, grêle, fibreuse et chevelue.

Tige : Unique, fine, glabre, rigide, ascendante à dressée portant de nombreuses ramifications écartées.

Feuilles : Fines, alternes et sessiles, vert jaunâtre ou grisâtre. Feuillage à aspect découpé : les feuilles sont 2 à 3 fois pennatilobées formant des divisions très fines jusqu'au pétiole, en lanières étroites, allongées et pointues.



Fig. 1 : Photo de *Matricaria chamomilla* prise par Y. El Abdali.

Fleurs : Capitules paniculées, 10-25 mm, solitaires, terminaux à longs pédicules insérés sur des réceptacles coniques, creux et sans paillettes.

Fruit : Akène jaunâtre, un peu arqué, surmonté d'une petite couronne oblique, et sans aigrettes.

Graine : 0,2-0,4 X 0,9-1,5 mm, blanc-gris à brunâtre.

I.5 Composition chimique

Plus de 120 composés sont identifiés dans les fleurs de camomille. Ces fleurs contiennent 0,24 à 2% d'huiles essentielles. La majorité des métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* sont classés en 3 différentes classes chimiques : sesquiterpènes, coumarines et flavonoïdes [10]. Les composés majoritaires de son huile essentielle sont les sesquiterpènes (-)- α -bisabolole et α -farnesène dont le pourcentage est 0,4%. Les polyphénols constituent aussi une part importante de cette plante, représentés par les coumarines et les flavonoïdes. Les principales coumarines sont l'herniarine, l'umbelliférone, et l'esculetine couvrant 0,1% du total des composés. Les majeurs flavonoïdes sont l'apigénine, luteoline et la quercétine dont les pourcentages sont respectivement 16,8, 1,9 et 9,9% du total des flavonoïdes [11].

D'autres composés de l'huile essentielle de camomille incluant l'oxyde de (-)- α -bisabolole A et B, l'oxyde de (-)- α -bisabolone A, les spiroéthers (cis and trans in-yn-dicycloéther), cadinène, furfurale, spathulénole, et proazulène (matricarine et

matricine). Le chamazulène est aussi l'un des majeurs composés de la plante il se forme à partir de la matricine pendant la distillation de l'huile. La camomille contient aussi plus de 8% de flavone glycosides (apigénine 7-glycoside et son 6' acetyl dérivé) et de favonoles (luteoline glycosides, quercetine glycosides, et isohame-tine), et plus de 10% de mucilage de polysaccharides et encore plus de 0.3% de choline. Enfin, les tannins constituent seulement la moitié de 1% des composés de la camomille. Les structures des composés les plus importants de *Matricaria Chamomilla* sont représentées par la figure 2.

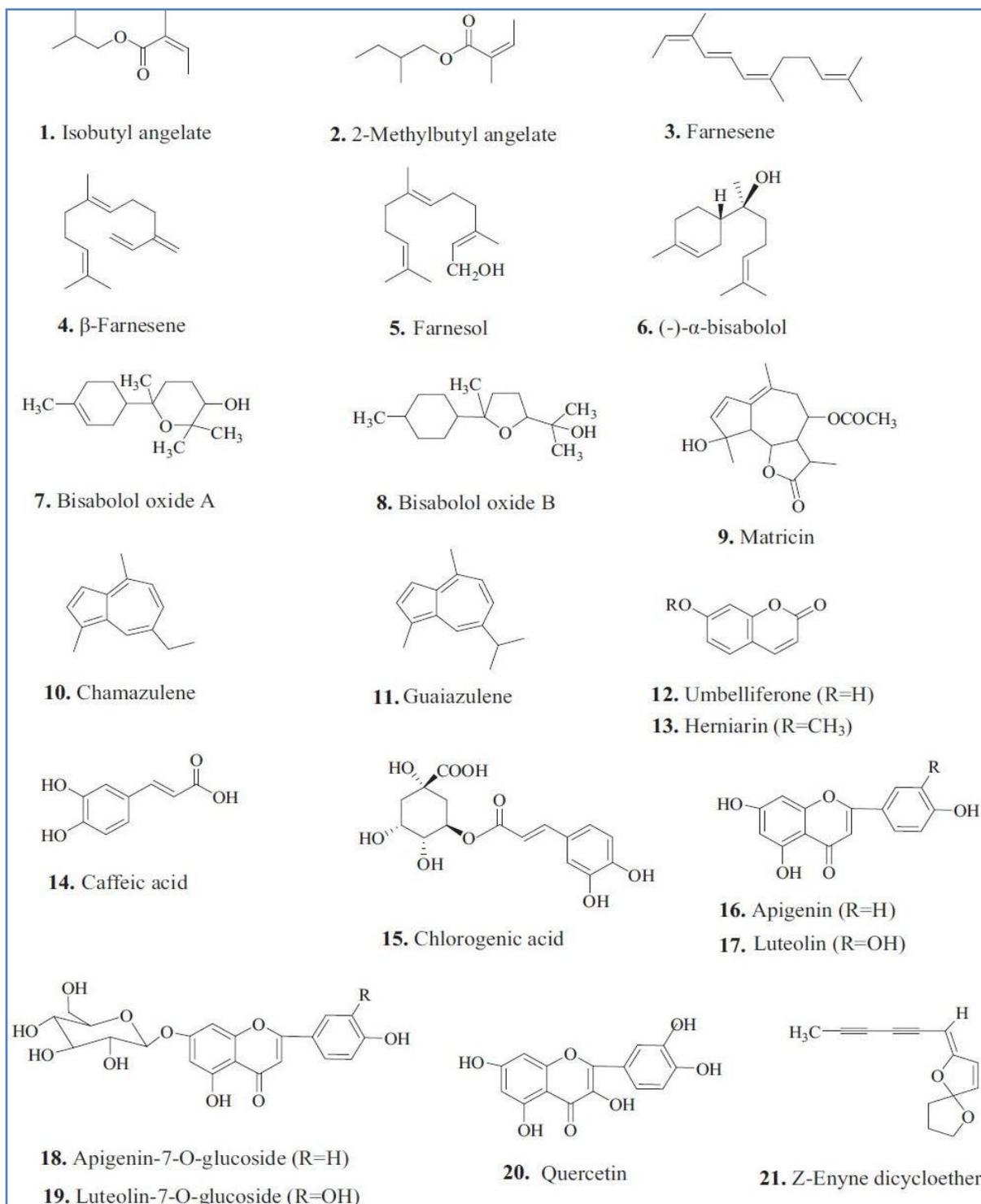


Fig. 2: Structures chimiques des composés majoritaires de *Matricaria chamomilla* [12]

I.6 Usage de *Matricaria chamomilla*

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques à la matricaire. Parmi les principales propriétés, il y avait l'usage en tant qu'antispasmodique, fébrifuge, anti-spastique des organes de la digestion, emménagogue, antinévralgique, antiallergique et bactéricide.

En usage externe, la Matricaire est un anti-inflammatoire, un cicatrisant de la peau et des muqueuses. Elle est prescrite contre les inflammations de la bouche, des oreilles, des yeux et contre diverses affections cutanées. L'huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal [13, 14].

La matricaire est couramment employée dans les préparations capillaires destinées à éclaircir la nuance des cheveux dont elle stimulerait aussi la croissance. C'est la plante la plus utilisée en cosmétologie où elle se montrerait émolliente, adoucissante, protectrice [15].

II Les flavonoïdes

II.1 Généralités

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [16], et aussi dans le miel [17].

II.2 Définition

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. **Fig 3.**

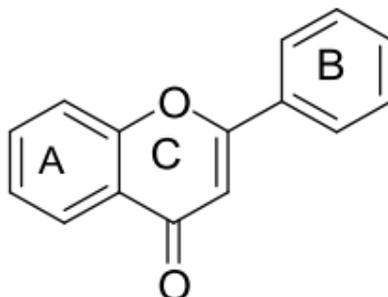


Fig. 3: Noyau flavone

Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base. **Fig 4**

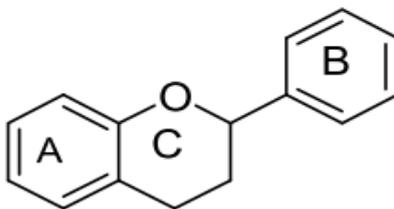


Fig. 4: Noyau flavane

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) [18].

II.3 Biosynthèse

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 [19]. **Fig 5** et **Fig 6**

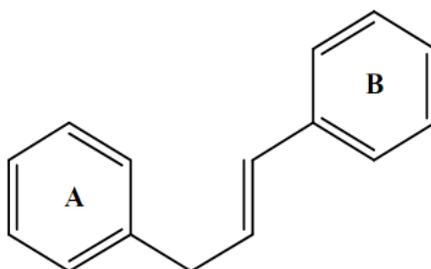


Fig. 5: Squelette de base des flavonoïdes

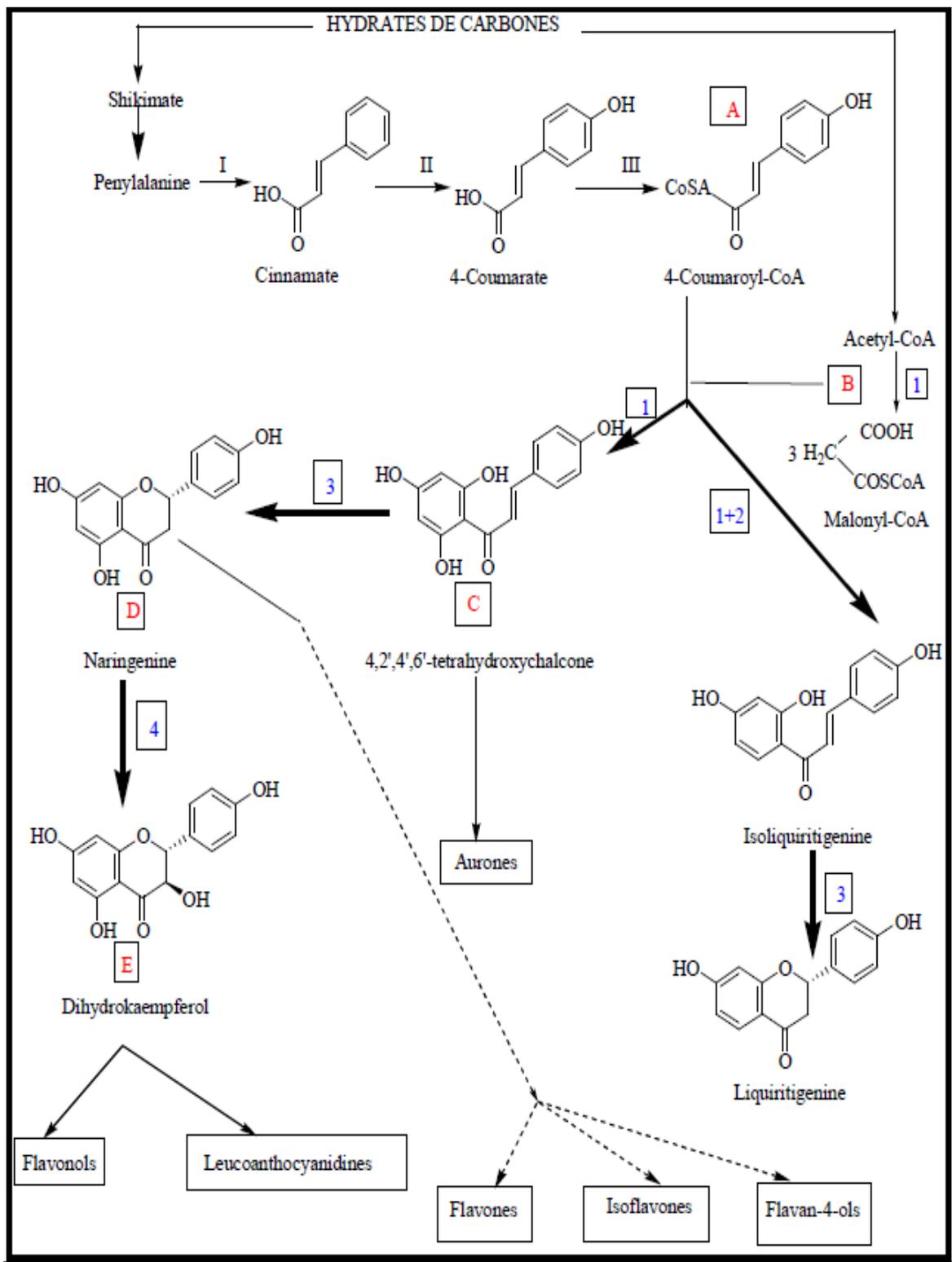


Fig. 6: Mécanisme général de biosynthèse des flavonoïdes [20]

II.4 Sous-classes des flavonoïdes

Selon les modifications du cycle-C₃ les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes structurales tels que les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavanols, les catéchines et les anthocyanidines [21]. **Fig 7.**

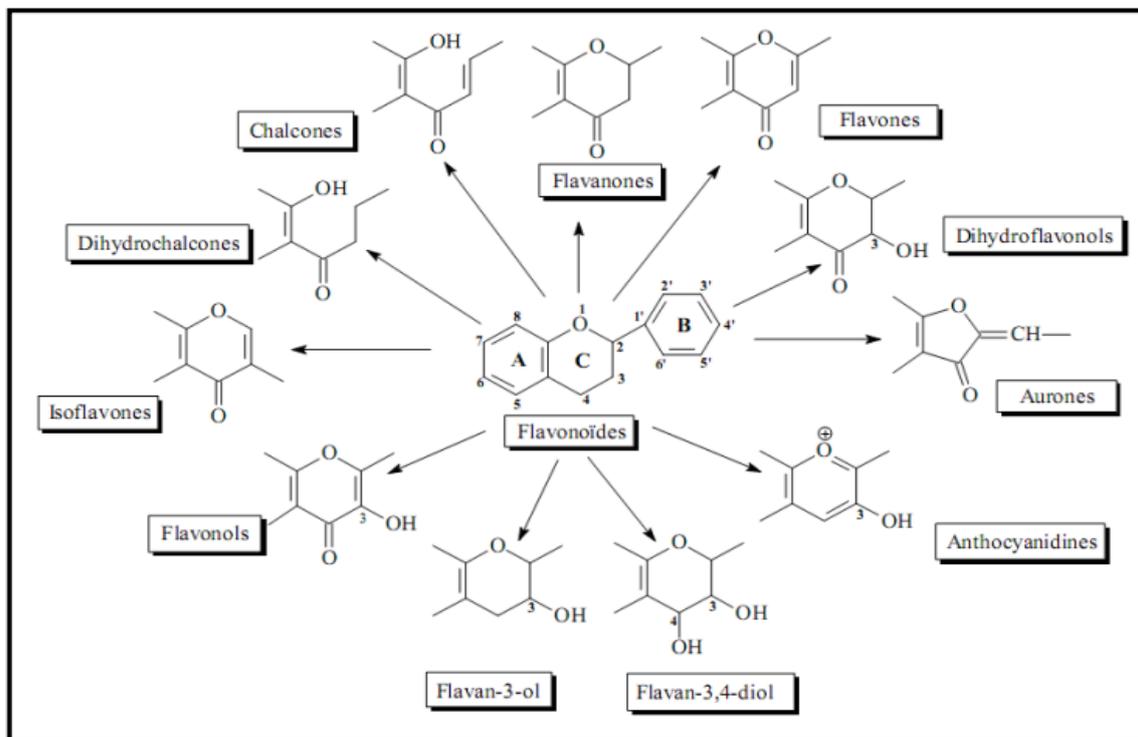


Fig. 7 : Représentation des principales classes et sous-groupes des flavonoïdes au niveau de l'hétérocycle C.

II.5 Rôle dans les plantes et intérêt pharmacologique

Dans les plantes, les flavonoïdes jouent un rôle important dans de nombreux processus biologiques telles que la pigmentation des fleurs, des fruits et légumes, pour attirer les pollinisateurs et disséminateurs de graines, la protection contre les rayons ultraviolets (UV), la défense des plantes contre les micro-organismes et la germination du pollen en agissant comme des molécules de signalisation dans les interactions plantes-microorganismes [22-24].

Les flavonoïdes sont connus pour de remarquables activités pharmaco-biologiques. De nombreux travaux semblent indiquer qu'ils possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales (spécialement lorsqu'ils sont utilisés conjointement avec d'autres agents chimiothérapeutiques), antiviraux, antibactériens et antiallergiques.

III L'activité anti oxydante

III.1 Définition de l'activité anti oxydante

L'activité antioxydante consiste en l'inhibition de réactions en chaîne de production de radicaux libres et limitant ainsi leur action. Cette propriété se retrouve souvent dans les familles polyphénoliques. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être destructrices. Les plantes et les animaux utilisent et produisent de nombreux antioxydants pour se protéger [25].

III.2 Notion de radicaux libres et d'anti oxydants

Les radicaux libres sont des molécules instables produites en permanence par le corps humain; ils peuvent s'associer à d'autres molécules et entrer en réaction comme ils peuvent endommager les parois des cellules. L'organisme humain pour se défendre possède des agents neutralisant les radicaux libres qui sont les enzymes et les vitamines "anti-oxydantes" (C, E, A) [19].

Des substances végétales bio-synthétisées comme les pigments végétaux et les huiles essentielles ont, également un effet protecteur neutralisant les radicaux libres. Ces derniers favorisent habituellement le bon fonctionnement de l'organisme humain, mais leur excès peut être néfaste pour la santé.

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques [26-28]. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [29].

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

I Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (tige, feuilles et inflorescences) de la plante *Matricaria chamomilla*, récoltée en pleine floraison pendant la fin du mois d'avril 2015 aux alentours de la région de Fès (Maroc).

Au cours de cette étude comparative, nous avons étudié l'effet de la variation du mode de séchage de *Matricaria chamomilla* sur :

- La teneur en flavonoïdes dans les sommités florales et dans les autres parties (tige et feuilles) ;
- L'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique des fleurs.

II Méthodes expérimentales

II.1 Séchage des plantes récoltées

Les plantes fraîchement récoltées sont débarrassées des impuretés et réparties en 3 lots de 50g chacun. Chaque lot est mis dans une des conditions suivantes :

- Séchage à l'air libre durant 7 jours (endroit sec et aéré avec une température moyenne de 19°C).
- Séchage à l'étuve à 60°C pendant 48h.
- Plante fraîche.

II.2 Extraction

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques (flavonoïdes) contenues dans les parties aériennes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction [30].

Pour une plus haute récupération de polyphénols (flavonoïdes), le méthanol est le solvant approprié [31].

Après séchage les échantillons de *Matricaria chamomilla* sont broyés à l'aide d'un mortier pour avoir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés.

Les extraits méthanoliques des différents échantillons de *Matricaria chamomilla* ont été préparés à partir de 1g de poudre (4g pour la tige de la camomille fraîche) végétale qui mélangée avec 90ml de méthanol. Après agitation pendant 10 min le mélange est chauffé à reflux pendant 50 min. Ensuite la solution a été filtrée sur papier filtre sous vide. Le filtrat est complété jusqu'à 100ml avec du méthanol pour constituer finalement l'extrait méthanolique.

De cet extrait méthanolique, on a prélevé 10ml et on a complété jusqu'à 100ml avec de l'eau distillée pour avoir la solution mère qui sera utilisée pour le dosage des flavonoïdes.

Le reste de notre extrait méthanolique est concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, à une température de 40°C. Le résidu obtenu est récupéré avec 10ml de méthanol et conservé au congélateur jusqu'à son utilisation **Fig 8**.

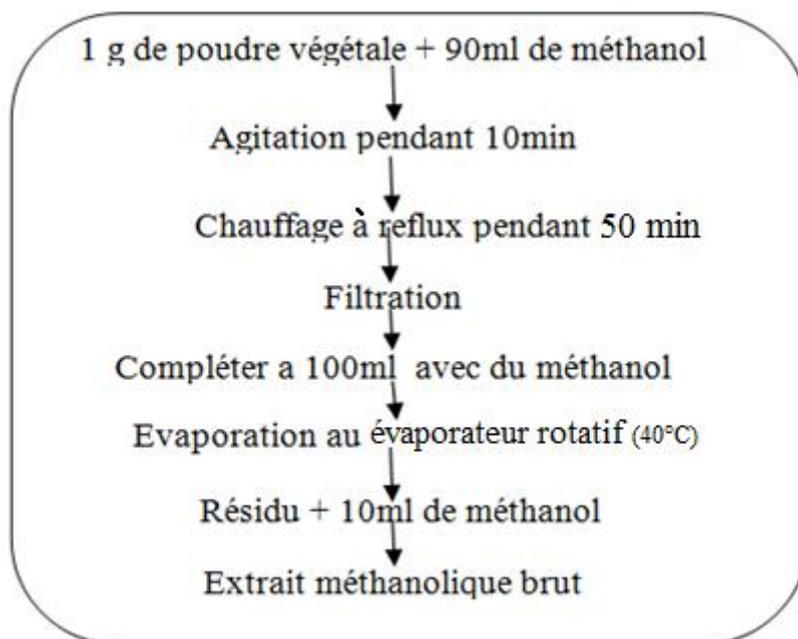


Fig. 8: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.

II.3 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) [32]. A 10ml de la solution mère préparée à partir de chaque extrait de *Matricaria chamomilla* on ajoute 10ml de la solution d'AlCl₃ à 20g/L (préparée dans le méthanol). Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est effectuée à 425nm contre un blanc (solution de compensation) qui ne contient que 10ml de la solution mère + 10ml de méthanol.

Le calcul de la teneur en flavonoïdes totaux exprimés en rutoside se fait à l'aide d'une gamme d'étalonnage déjà établie avec le rutoside, dont l'absorbance spécifique (à 1% 1cm) de ce dernier à 425nm est égale à 370 : **C = (DO/370) x1600**

Tous les dosages sont réalisés en 3 essais.

II.4 Test de l'activité anti oxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits volatils des plantes aromatiques. L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non couteux [33].

Fig 9.

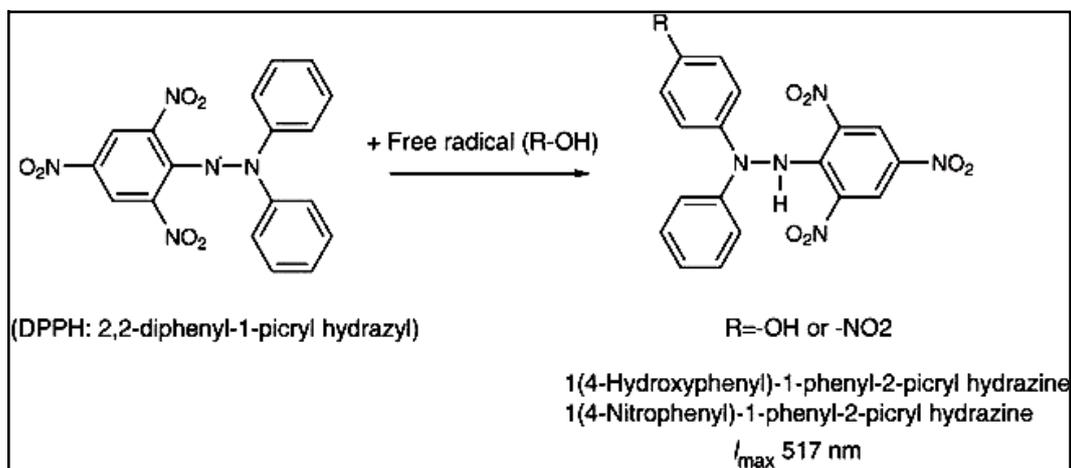


Fig. 9: Réduction du radical DPPH.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits [34]. Le DPPH est initialement de couleur violette, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques [33].

Le protocole utilisé est celui décrit par Chen et al. [35]: 2.5 ml de différentes concentrations des extraits méthanoliques (gamme de concentration de 0-200 µg/ml) des sommités florales de *Matricaria chamomilla* est additionné à 2.5ml d'une solution de DPPH (100µM) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été agité immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant 30min à température ambiante (25°C) pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc qui ne contient que le méthanol. Le contrôle est constitué d'un mélange réactionnel contenant 2.5ml de DPPH et 2.5ml de méthanol.

Egalement, le même test a été réalisé mais cette fois-ci avec un anti-oxydant de référence qui est l'acide ascorbique.

Les mesures de l'absorbance du DPPH des différentes substances antioxydantes (les extraits et l'acide ascorbique) permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition **PI** en appliquant la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = (1 - (\text{Abs}_{\text{test}} / \text{Abs}_{\text{control}})) \times 100$$

Où:

Abs control : Absorbance du contrôle à la longueur d'onde 517nm.

Abs test : Absorbance du radical après 30 minutes de contact à l'obscurité avec l'antioxydant à la longueur d'onde 517nm.

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre **CI₅₀** (concentration inhibitrice) qui représente la concentration de la substance (extrait ou acide ascorbique) nécessaire pour diminuer de 50% les radicaux libres dans le milieu réactionnel. Les valeurs **CI₅₀** ont été calculées par la régression linéaire où l'abscisse est représenté par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (PI%) [36].

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1- Séchage

Pour le séchage de *Matricaria chamomilla* à l'étuve le poids s'est stabilisé à 7.4g après 24h cela signifie que la teneur en eau est de l'ordre de 85.2%. Tandis que le poids pour le séchage à l'air libre qui a duré 7 jours s'est stabilisé à 10.5g montrant une teneur en eau de l'ordre de 79%.

Ces résultats indiquent que *Matricaria chamomilla* est très riche en eau dont la teneur dépasse les 80%.

2- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes de *Matricaria chamomilla* a été réalisé selon la méthode utilisant l' $AlCl_3$. Le **tableau 1** et la **fig 10** présentent les teneurs en flavonoïdes dans les extraits de la plante étudiée à différents modes de séchage, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg / g de matière sèche et en pourcentage.

Tableau 1 : Teneur en flavonoïdes de *Matricaria chamomilla* étudiée à différents mode de séchage.

Espèce	Organe	Mode de séchage	Teneur en flavonoïdes (mg/g matière sèche)	% en flavonoïdes (g/100g matière sèche)
<i>Matricaria Chamomilla</i>	Fleurs	Fraiche	30,4	3,04± 0,130
		Etuve	6,1	0,61± 0,036
		L'air libre	6,5	0,65 ± 0,017
	Autres parties (tige et feuilles)	Fraiche	24,5	2,45± 0,096
		Etuve	3,5	0,35± 0,017
		L'air libre	5,9	0,59± 0,008

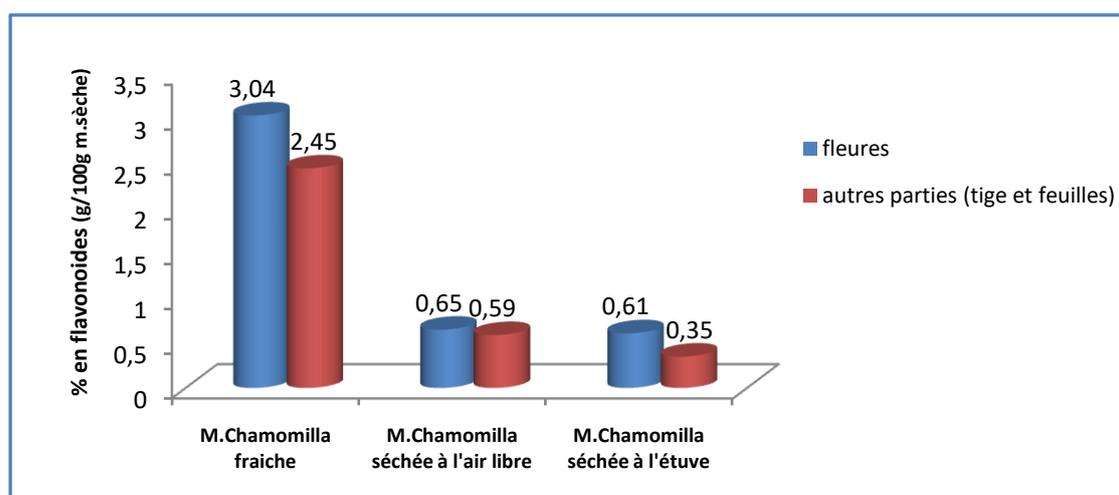


Fig. 10: Effet du mode de séchage sur la teneur en flavonoïdes (%) de *Matricaria chamomilla*.

Selon les résultats obtenus, on constate que *Matricaria chamomilla* à l'état frais est largement riche en flavonoïdes, que ce soit au niveau des fleurs (3,04%) ou des autres parties (tige et feuilles) (2,45%). Les plantes séchées présentent des valeurs plus faibles en flavonoïdes, avec des légères différences selon le mode de séchage. Le séchage à l'air libre (19°C), permet aux différentes parties de la plante de conserver une quantité plus importante des flavonoïdes que le séchage à l'étuve avec une température de 60°C. Où on a trouvé pour les échantillons séchés à l'air libre, la valeur des flavonoïdes est de 0.65% au niveau des fleurs et 0.59% au niveau des autres parties. Alors que la valeur la plus faible est enregistrée dans les extraits des plantes séchées à l'étuve, elle est représentée par 0.61% au niveau des fleurs et 0.35% au niveau des autres parties.

Nos résultats montrent bien que le mode de séchage pourrait altérer les principes actifs, tels que les flavonoïdes, des plantes. D'où les recommandations de Nsren Albitar, qui exigent que le séchage des plantes qu'on désire conserver, devrait être d'une manière à éviter l'altération des plantes, leur fermentation et la perte de leurs principes actifs [37].

Les résultats montrent aussi que les flavonoïdes sont abondants dans les fleurs de *Matricaria chamomilla*. Ce qui concorde avec les travaux de Djeridane et ses collaborateurs qui ont trouvé que cette abondance des composés phénoliques en général est caractéristique de la famille des Astéraceae [38]. Cela pourrait être relié aux conditions climatiques dures des endroits où elles poussent (température élevée, grande exposition au soleil, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols [31].

On constate aussi d'après les résultats que le mode de séchage affecte la teneur en flavonoïdes pour les fleurs et les autres parties (tige et feuilles). Ceci peut être expliqué soit par des phénomènes de biotransformations des flavonoïdes en d'autres métabolites secondaires grâce à l'activité enzymatique qui se maintient parfois surtout lors du séchage à l'air libre, soit par une redistribution des métabolites secondaires entre les différentes parties de la plante face aux conditions du séchage, car selon Falleh et al. [31], la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante.

3- Test de l'activité anti oxydante

Le pouvoir antioxydant de nos extraits de *Matricaria chamomilla* a été mesuré par la méthode spectrophotométrique au DPPH. Il possède une coloration violette foncée qui va se transformer en jaune pâle, ce qui diminue son absorbance à 517nm, lorsqu'il est réduit par les composés antioxydants en lui donnant un proton ou un électron [39].

La figure 11 représente le développement de l'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique et par les extraits des fleurs de la camomille étudiée à différents modes de séchage.

- La figure 12 représente les valeurs de la CI50 de l'acide ascorbique et des extraits des fleurs de la camomille étudiée à différents modes de séchage.

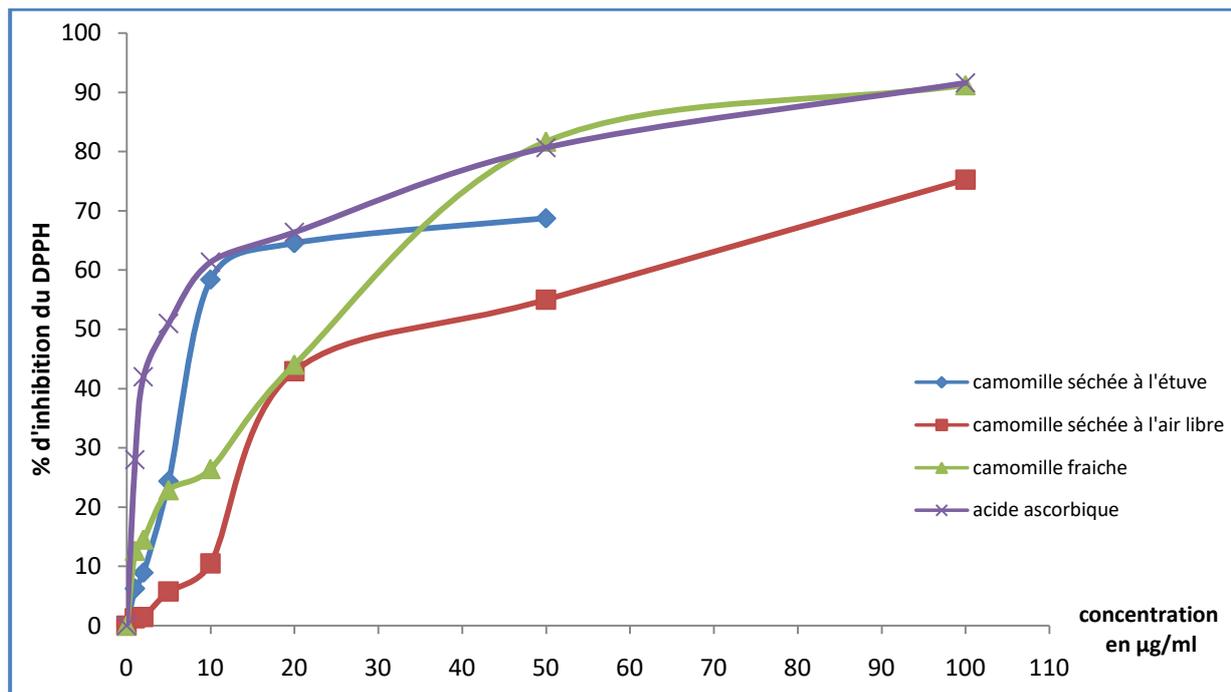


Fig. 11: Inhibition du DPPH par l'acide ascorbique et les différents extraits de *Matricaria chamomilla*.

Selon ces résultats et pour les petites concentrations (inférieur à 40µg/ml), l'effet anti-radicalaire des différents extraits de *Matricaria chamomilla* diminue selon l'ordre suivant : Vitamine C utilisée comme standard > extrait de *M. chamomilla* séchée à l'étuve > extrait de *M. chamomilla* fraîche > extrait de *M. chamomilla* séchée à l'air libre.

A la concentration de 30µg/ml, par exemple, l'inhibition résultante est de 71.9, 66.2, 59.4 et 48.8% respectivement. Cela montre que le mode de séchage influence le pouvoir antioxydant de *Matricaria chamomilla* surtout celui à l'air libre.

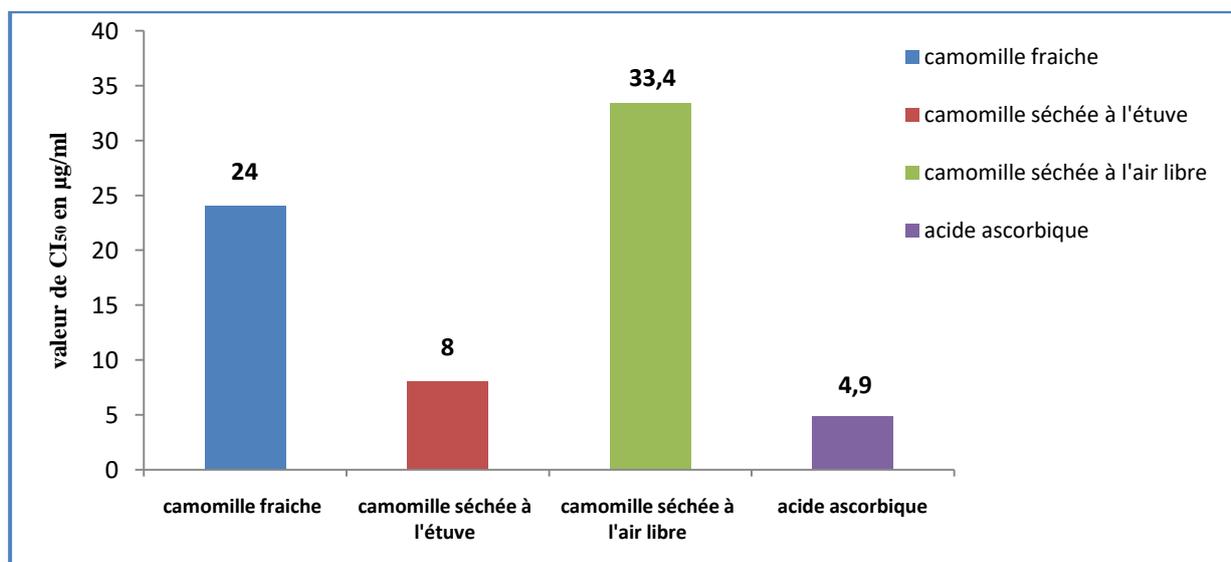


Fig. 12 : Valeurs de la CI50 de l'acide ascorbique et les différents extraits de *Matricaria chamomilla*.

La figure montre que l'acide ascorbique est un excellent piègeur de radicaux libres ($IC_{50}=4.9\mu\text{g/ml}$). Ainsi, les extraits des différents modes de séchage de *Matricaria chamomilla* ont aussi un bon effet anti-radicalaire avec des faibles valeurs de la concentration inhibitrice (IC_{50}) : $8\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait de la plante séchée à l'étuve, $24\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait de la plante fraîche et $33,4\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait de la plante séchée à l'air libre, ce qui se traduit par d'excellents effets anti-radicalaires.

Ces résultats suggèrent que les différents extraits de *Matricaria chamomilla* contiennent des agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants primaires, résultat qui concorde avec *Le et al.*, qui ont trouvé que l'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes [40].

En général et d'après la bibliographie, l'effet anti-radicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration des polyphénols dans l'extrait ce qui mène à suggérer que l'effet antioxydant d'un extrait de plante est en relation avec la quantité des polyphénols y présents. Cette hypothèse est démontrée par plusieurs chercheurs tel que: Jayaprakasha et Patil [41]. Falleh et ses collaborateurs ont montré qu'il existe une corrélation très significative entre la teneur en polyphénols (polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés) et l'activité anti-radicalaire contre les radicaux DPPH, de l'extrait méthanolique de *Cynara cardunculus*, une plante de la famille des Astéraceae [31]. L'effet antioxydant d'un extrait peut aussi différer selon la qualité des polyphénols y présents tels les flavonoïdes qui ont montrés des activités antioxydantes [42].

Ceci peut expliquer les différences de l'activité anti-radicalaire de *Matricaria chamomilla* trouvées à différents modes de séchage. L'effet anti-radicalaire lors du séchage à l'air libre diminue considérablement pour cette plante ceci peut être dû à une diminution de la teneur en polyphénols lors du séchage à cause d'une dégradation ou des biotransformations en d'autres métabolites secondaires surtout que l'activité enzymatique se maintient lors de ce mode de séchage. Contrairement au séchage à l'étuve qui limite cette activité enzymatique et par conséquent maintient une teneur élevée en polyphénols ce qui se traduit par une activité anti-radicalaire très élevée.

En conclusion, nos observations sur l'activité de piéger les radicaux libres par les différents extraits de *Matricaria chamomilla* viennent confirmer les données bibliographiques et orientent vers la présence d'un type de molécules bien déterminées dans ces extraits responsables de cette activité, probablement les flavonoïdes.

Enfin, cette étude montre le potentiel anti-radicalaire contre les radicaux libres de notre plante médicinale et elle pourrait être considérée comme une source d'antioxydants naturels.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets de différents modes de séchage sur la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante de l'extrait brut méthanolique de *Matricaria chamomilla*, plante largement utilisée en médecine traditionnelle.

Les résultats du dosage à l'aide d' AlCl_3 montrent que l'extrait le plus riche en flavonoïdes est celui de la camomille fraîche surtout au niveau des fleurs. Alors que le séchage à l'air libre conserve plus cette teneur en flavonoïdes que celui réalisé à l'étuve.

Par ailleurs, les différents extraits possèdent une activité antioxydante importante *in vitro*. Ils montrent une inhibition très importante vis-à-vis du radical DPPH, surtout les extraits de la plante fraîche et celle séchée à l'étuve. Tandis que le séchage à l'air libre diminue plus ou moins cette activité anti-radicalaire.

Cette étude nous a permis d'évaluer l'influence de la température de séchage sur l'un des principes actifs (flavonoïdes) d'une plante médicinale *Matricaria chamomilla*. Ce séchage de la plante surtout à l'air libre pourrait limiter la perte de quelques composés chimiques et ses principes actifs, mais parfois il a un effet négatif par dispersion ou modification des composés chimiques de la plante médicinale, ces résultats sont montrés surtout dans les tests d'activité anti-oxydante.

En perspectives :

La plante *Matricaria chamomilla* est une source prometteuse d'agents antioxydants, ce qui est expliqué par la nature des composés présents dans cette plante. D'autres études concernant l'identification des molécules bioactives, la confirmation de la capacité antioxydante de *Matricaria chamomilla* par des tests *in vivo* ainsi que l'évaluation d'autres activités biologiques intéressantes telle que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de cette plante sont recommandées afin de valoriser d'avantage *Matricaria chamomilla*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Gurib-Fakim A. (2006) , Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93.
- [2] Pelt J.M. (2001) , *Les nouveaux actifs naturels*. Marabout. Paris.
- [3] Kanoun K. (2011), "Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (rayhane) de la région de tlemcen (honaine)", Mémoire magister, Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen, 2. (Algerie).
- [4] Guignard.J.L. (1994), *Abrégé Botanique*, 9^{ème} Ed.204.
- [5] Gaussen.H, Leroy.H.F. (1982), *Précis de Botanique* (végétaux supérieurs), 2^{ème} Ed.426.
- [6] Harborne.J.B, Swain.T. (1969), *Perspectives In Phytochemistry*, Academic Press, London, New York.
- [7] fr.Wikipedia.org/wiki/Matricaire.
- [8] Guignard J.L. (1972-1998), *Abrégé de Botanique*, Ed. Masson, Paris Milan Barcelone.
- [9] Mezache N. (2010), "Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille asteraceae: *Senecio giganteus* Desf. et *Chrysanthemum myconis* L", Thèse doctorat, Université mentouri-Constantine, 4, 5, 17,23-26.
- [10] McKay DL and Blumberg JB. (2006), A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L). *Phytoterapy research*. 20, 519-530.
- [11] Kato A, Minoshima Y, Yamamoto J, Adachi I, Awatson A and Nash RJ. (2008), Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. *J. Agric. Food Chemistry*. 56, 8206-8211.
- [12] Gupta V, Mittal P, Bansal P, Khokra SL and Kaushik D. (2010), Pharmacological potential of *Matricaria recutita*-A review. *International journal of pharmacology science of drug research*. 2, 12-6.
- [13] Guignard J. L, Cossen L, llenry M. (1985), *Abrégé de phytochimie*, p.121.
- [14] Seaman F. C. (1982), *In the botanical Review. Sesquiterpènes lactones as taxonomie characters in Astérea-ceae* 48, p. 121, Botanical Garden, New York.
- [15] Park E. J, Kim J. (1998), *Planta Medica* 64, p. 752.
- [16] Middleton JR. E, Chithan K. (1993), The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne J.B., editor. *The Flavonoids: advances in research since 1986*. London, UK: Chapman and Hall.
- [17] Grange J.M, Davey R.W. (1990), Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.* 83:159–60.
- [18] Benguerba A. (2008), "Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L", mémoire magister, Université mentouri-constantine, 5-14.
- [19] Bruneton J. (1999), *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, (3^{ème} éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1120p.
- [20] Belkacem S. (2009), "Investigation phytochimique de la phase n-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de *Centaurea parviflora* (compositae)", Mémoire magister, Université Mentouri – Constantine, pages 1.
- [21] Bovy A, Schijlen E, Hal, R.D. (2007). Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): The potential for metabolomics. *Metabolomics* 3, 399-412.
- [22] Havsteen B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap* 96, 67-202.
- [23] Dixon R.A, Paiva N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7, 1085-1097.
- [24] Dooner H.K, Robbins T.P, Jorgensen R.A. (1991). Genetic and developmental control of anthocyanin biosynthesis. *Annual Review of Genetics* 25, 173-199.

- [25] **Popovici C. (2009).** *Journal Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- [26] **Al-Mamary M, Al-Meerri A. and Al-Haboui M. (2002)** - antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. 22: 1041-1047.
- [27] **Boyd B, Ford C, Koepke Michael C, Gary K, Horn E, McAnalley S et McAnalley B. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco. Science & Nutrition*. 4(6):7p.
- [28] **Karou D, Dicko M. H, Simpore J, Yameogo S, Sanon S and Traore A.S. (2005).** Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 106: 119-133.
- [29] **Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- [30] **Madi A. (2009).** "caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques", Mémoire magister, Université Mentouri Constantine. (Algerie).
- [31] **Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdely C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. **331**: 372-379.
- [32] **Bahorum T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin J.C, Pinkas M, Luycky M, Gazin M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittel-Forsch* 46, 1086-1089.
- [33] **Hadbaoui Z. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE.
- [34] **Wu H. (2007).** Isolation and characterization of natural products from *Inger* and *Allium Ursinum*. *ProQuest Edition*, p 28.
- [35] **Chen C.N, Weng M.S. Wu C.L. et Lin J.K. (2004).** Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources. *Evid Based Complement Alternat Med*, Vol1(2), 175-185.
- [36] **Mensor L.L, Menezes F.S, Leitão G.G, Reine A.S, Santos T.C, Coube C.S, Leitão S.G.(2001).** Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phytother.Res* 15, 127-130.
- [37] **Nsren Albitar. (2010).** Etude comparative des procédés de séchage couplés à la texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC, en termes de cinétique et de qualité nutritionnelle. Applications à la valorisation des déchets agro-industriels, THÈSE pour obtenir le grade de DOCTEUR de L'UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE, p 191(France).
- [38] **Djeridane M, Yousfi B, Nadjemi D, Boutassouna P and Stocker N 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*,**97**, 654-660.
- [39] **Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O. (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80, 1144-1152.
- [40] **Le K, Chiu F and Ng K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, **105**, 353-363.
- [41] **Jayaprakasha G.K, Patil B.S. (2007).** In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food. Chem* 101, 410-418.
- [42] **Wang J, Mazza G. (2002).** Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem* 50, 4183-4189.

ANNEXES



Annexe 1 : Concentration de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* à l'aide d'un évaporateur rotatif.



Annexe 2 : Préparation de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* avec un système de chauffage à reflux

Résumé

L'objet de ce travail est d'étudier l'impact de différents modes de séchage sur la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante de *Matricaria chamomilla*. Les résultats obtenus ont montré que la plante à l'état frais est la plus riche en flavonoïdes. Alors que le mode de séchage à l'air libre est le meilleur conservateur de ces composés chimiques. Concernant les résultats du test de l'activité antioxydante les sommités fleuries de *Matricaria chamomilla* sont douées d'une activité antiradicalaire très importante surtout lorsque la plante est séchée à l'étuve.

Mots clé : *Matricaria chamomilla*, Séchage, Flavonoïdes, Activité antioxydante.