

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Kasdi Merbah-Ouargla
Faculté des Mathématiques et des Sciences de la matière
Département de Chimie



Mémoire
Master Académique
Spécialité : Chimie
Option : Chimie appliquée

Présenté par : OUSAMEUR Nadia & KSIKIS Chahrazad

Thème :

*Fractionnement des extraits obtenus de deux
plantes spontanées sahariennes et évaluation de
leur activité antioxydante*

Soutenu le : 29 - 05 - 2016

Devant le jury :

M^r HADEF Deradji

M^{elle} HAMMOUDI Roukia

M^{me} BOUZIANE Mebarka

M^{me} DEHAK Karima

M. A. A, Univ. K. M. Ouargla

M. C. B, Univ. K. M. Ouargla

M. C. B, Univ. K. M. Ouargla

M. C. A, Univ. Boumerdès

Président

Examineur

Encadreur

Co-encadreur

Année universitaire : 2015/2016

*Je dédie ce travail,
À mes chers parents, à mes
frères et ma sœur.
À qui se tenait à côté de moi.
À tous mes amies, à M^{elle}
Smara Ouanissa et je n'oublie
pas M^{me} Bouziane.
En fin, à tous ceux qui tombés
de ma plume son inadvertance.*

O. Nadia



*Je dédie ce travail,
À ceux qui sont les plus
chères : ma mère et mon père,
à tous mes frères et mes sœurs.*

À toute la famille

*À tous mes amies et à tous
mes profs durant ces longues
années d'études, en spécifique
à M. Bouziane.*

K, Chahrazed



Remerciements

A vant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de nous avoir donné le courage et la santé pour finir ce travail.

Au moment où se finisse ce travail, permettons nous de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui nous ont dirigées, soutenues, aidées et encouragées.

Nous remercions sincèrement Mme BOUZIANE Mebarqa, Maître de conférence classe B, à l'université Kasdi Merbah Ouargla, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous accordée pour permettre de réaliser ce travail, et Mme DEHAK Karima, Maître de conférences classe A, à l'université de Boumerdès d'avoir accepté de co-encadrer ce travail.

Nous remercions également, les membres du jury : Melle : HAMMOUDI Roukia, Maître conférence classe B et Monsieur HADDEF Deradji d' Maitre-assistant classe A, d'avoir acceptés de juger notre travail.

Nous tenons à remercier, particulièrement, professeur HADJ-MAHAMMED Mahfoud, directeur du laboratoire Bio-géochimie des Milieux Désertiques à l'université Kasdi Merbah Ouargla, et son équipe pour nous avoir ouvert les portes de leur laboratoire.

Aux personnels du laboratoire de Bio-géochimie pour leur aide, en particulier Mme SLOUGUI Nabila, de nous avoir encouragé, sans oublier Melle Massrouk Houria, Habiba, Zohra, Fatiha et Khiria pour leur aide et disponibilité.

Nous adressons de sincères remerciements à tous nos collègues et amies du laboratoire : Amina, Nariman, Fatima, Ahlem, et les autres, et tous sans oublier les étudiants de master.

Nous tenons enfin à répéter le plaisir que nous avons eu à travailler au laboratoire Bio-géochimie des Milieux Désertiques à l'université Kasdi Merbah Ouargla.,

Enfin, pour leur soutien sans permanent, nous remercions de tout cœur nos parents, nos frères et sœurs pour leur amour, soutien et leur compréhension.

Merci à tous...

Table des matières

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Tableau des matières.

Introduction générale..... 1

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Principes actifs ciblés.

I.1.	Polyphénols.....	2
I.1.1.	Définition.....	2
I.1.2.	Classification et catégories des polyphénols.....	2
I.1.3.	Activités biologiques des polyphénols.....	4
I.2.	Flavonoïdes	5
I.2.1.	Définition	5
I.2.2.	Classification des flavonoïdes	6
I.2.3.	Biosynthèse des flavonoïdes	7
I.2.4.	Activités biologiques des flavonoïdes	9
I.2.4.1.	Relation activité-structure dans les flavonoïdes	9
I.2.4.2.	Relation structure-fluorescence dans les flavonoïdes.....	10

Chapitre II : Activité antioxydante

II.1.	Espèces chimiques responsables de l'oxydation.....	11
II.1.1.	Les antioxydants.....	11
II.1.2.	Classification des antioxydants.....	12

II.1.3.	Conditions d'utilisation des antioxydants.....	13
II.2.	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	13
II.2.1.	Méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH').....	13
II.3.2.	Méthode de réduction du Fer (FRAP).....	15

Chapitre III : Plantes étudiées.

III.1.	Plantes étudiées.....	16
III.1.1.	La plante <i>Brocchia cinerea</i> (Del.).....	16
III.1.1.1.	Position systématique.....	16
III.1.1.2.	Description botanique de la plante.....	17
III.1.1.3.	Composition chimique et propriétés biologiques.....	17
III.1.1.4.	Utilisations traditionnelles de la plante.....	18
III.1.2.	La plante <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.).....	18
III.1.2.1.	Position systématique.....	18
III.1.2.2.	Description botanique de la plante.....	19
III.1.2.3.	Compositions chimique et propriétés biologiques.....	19
III.1.2.4.	Utilisations traditionnelles de la plante.....	20

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes.

I.1.	Matériel et méthodes.....	21
I.1.1.	Matériel végétal.....	21
I.2.	Méthodes d'extraction.....	21
I.3.	Méthodes de séparations chromatographiques.....	25
I.3.1.	Chromatographie sur couche mince CCM.....	25
I.3.1.1.	Mode opératoire.....	25

I.3.2.	Chromatographie sur colonne CC.....	26
I.3.2.1.	Fractionnement l'extrait d'AcOEt par flash chromatographie.....	26
I.3.2.2.	Mode opératoire	27
I.3.2.2.1.	Fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>M. pubescens</i>	27
I.3.2.2.2.	Fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>B. cinerea</i>	29
I.3.3.	Chromatographie sur papier CP.....	31
I.3.3.1	Mode opératoire.....	31
I.4.	Évaluation de l'activité antioxydante.....	32
I.4.1.	Évaluation par la méthode DPPH.....	32
I.4.1.1.	Protocole.....	32
I.4.2.	Évaluation par la méthode FRAP.....	32
I.4.2.1	Protocole.....	32

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1.	Rendements des extractions.....	33
II.2	Résultats des fractionnements.....	35
II.2.1.	Analyse chromatographique par CP des fractions.....	36
II.2.1.1.	Cas de <i>M. pubescens</i>	36
II.2.1.2.	Cas de <i>B. cinerea</i>	41
II.2.2.	Analyse par CCM des extraits et des fractions.....	47
II.2.2.1.	Cas de <i>M. pubescens</i>	47
II.2.2.2.	Cas de <i>B. cinerea</i>	50
II.3.	Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante.....	53
II.3.1.	Résultats du test de DPPH.....	53
II.3.1.1.	Cas de <i>M. pubescens</i>	53
II.3.1.2.	Cas de <i>B. cinerea</i>	55

II.3.2.	Résultats du Test de FRAP.....	56
II.3.2.1.	Cas de <i>M. pubescens</i>.....	57
II.3.1.2.	Cas de <i>B. cinerea</i>.....	58
Conclusion	59
Références bibliographiques.		
Résumés.		

Liste des abréviations

[Abs]	Absorbance
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
BuOH	Butanol
BWA	n-butanol/eau/acide acétique
CC	Chromatographie sur colonne
CCM	Chromatographie sur couche mince
CP	Chromatographie sur papier
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EtOH	Éthanol
Etp	Éther de pétrole
Fb	Fractions de <i>Brocchia cinerea</i>
Fm	Fractions de <i>Matricaria pubescens</i>
FRAP	Ferric reducing antioxydant power
MeOH	Méthanol
%PI	Pourcentage d'inhibition
Rf	Rapport frontal
TPTZ	2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine
µg EAA/mg Ex	Micro gramme équivalent de l'Acide ascorbique / milligramme d'extrait sec

Liste des figures

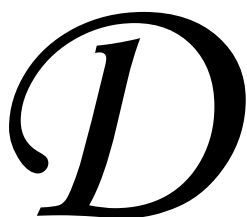
N° de figure	Titres	Pages
01	Exemples de polyphénols.....	2
02	Structure de base des flavonoïdes.....	5
03	Structures de base de quelques classes de flavonoïdes.....	6
04	Etape clé de la formation des flavonoïdes.....	7
05	Voie biosynthétique des flavonoïdes.....	8
06	Éléments structuraux essentiels d'un flavonoïde actif et stable.....	10
07	Structure chimique du radical DPPH*.....	13
08	Réaction du DPPH avec un polyphénol.....	14
09	Réduction et formation du Fe ⁺³ -TPTZ en Fe ⁺² -TPTZ	15
10	Photo de la plante <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.).....	17
11	Photo de la plant <i>Brocchia cinerea</i> (Del.).....	19
12	Protocole de préparation des extraits bruts de <i>M. pubescens</i>	23
13	Protocole de préparation des extraits bruts de <i>B. cinerea</i>	24
14	Schéma représentatif du fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>M. pubescens</i>	28
15	Schéma représentatif du fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>B. cinerea</i>	30
16	Représentation graphique des rendements des extractions (<i>M. pubescens</i>)....	33
17	Comparaison graphique des rendements des extraits de <i>B. cinerea</i>	34
18	Représentation des masses des fractions d'extraits AcOEt des deux espèces.	35
19	Résultats d'analyse de la fraction Fm1 par CP.....	36
20	Résultats d'analyse de la fraction Fm2 par CP.....	37
21	Résultats d'analyse de la fraction Fm3 par CP.....	38
22	Résultats d'analyse de la fraction Fm4 par CP.....	39

23	Résultats d'analyse de la fraction Fb1 par CP.....	41
24	Résultats d'analyse de la fraction Fb2 par CP.....	42
25	Résultats d'analyse de la fraction Fb3 par CP.....	43
26	Résultats d'analyse de la fraction Fb4 par CP.....	44
27	Résultats d'analyse de la fraction Fb5 par CP.....	45
28	Résultats de la CCM dans le cas <i>M. pubescens</i>	49
29	Résultats de la CCM dans le cas <i>B. cinerea</i>	52
30	%IP des extraits et des fractions de <i>M. pubescens</i> déterminés par le test DPPH.	53
31	%IP des extraits et des fractions de <i>B. cinerea</i> déterminés par le test DPPH.....	55
32	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique obtenu par le test FRAP.....	56
33	Résultats du test FRAP pour les extraits et les fractions de <i>M. pubescens</i>	57
34	Résultats du test FRAP pour les extraits et les fractions de <i>B. cinerea</i>	58

Liste des tableaux

N° de tableau	Titres	pages
01	Exemples de classes des polyphénols.....	3
02	Quelles propriétés des polyphénols.....	4
03	Exemples de propriétés biologiques des flavonoïdes.....	9
04	Relation structure-fluorescence des flavonoïdes.....	10
05	Exemples de tests réalisés sur les extraits AcOEt.....	26
06	Systèmes de fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>M. pubescens</i>	27
07	Systèmes de fractionnement de l'extrait AcOEt de <i>B. cinerea</i>	29
08	R _f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile AcOH 10%...	47
09	R _f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile AcOH 10%...	48
10	R _f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile BWA (4/1/1).....	50
11	R _f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile BWA (4/1/1).....	51

Introduction



De multiples études portent sur la recherche de nouvelles substances naturelles telles que les alcaloïdes, composés phénoliques, stéroïdes, saponines, qui sont d'un grand intérêt tant pour le domaine médicale et pharmaceutique que pour celui des industries : agroalimentaire, cosmétique, etc. [1, 2]

Parmi les métabolites secondaires très recherchés dans diverses spécialités, apparaissent les polyphénols des végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique en tant que vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires.

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. Parmi les plus réponsus sont cités les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. [1]

En dehors des plantes médicinales classiques, souvent officinales, connues et utilisées depuis plus ou moins longtemps, il reste encore beaucoup à faire pour dresser l'inventaire complet des espèces susceptibles d'application thérapeutique ou encore alimentaire.

Pour cela, on propose poursuivre notre contribution sur l'étude phytochimique et biologique des deux espèces sahariennes spontanées : *Matricaria pubescens* (Desf.) et *Brocchia cinerea* (Del.) de la famille des Asteraceae.

Ce thème rentre dans le programme de recherche de notre laboratoire (BGCMD), c'est un axe qui s'intéresse à la valorisation des plantes sahariennes à caractère médicinal.

Dans la présente étude, on vise la caractérisation qualitative de la composition phénolique contenue dans des fractions d'extraits de ces deux plantes et l'estimation de son capacité antioxydante.

Notre travail se répartit expérimentalement comme suit :

- I. Extraction des polyphénols par deux méthodes.
- II. Fractionnement de deux extraits par flash chromatographie.
- III. Analyse chromatographiques sur papier et sur couche mince des extraits et des fractions préparées.
- IV. Evaluation de leur activité antioxydante.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Principes actifs ciblés

I.1. Polyphénols :

I.1.1. Définition :

Les polyphénols sont des molécules organiques considérés comme quasi universels des végétaux ; ils sont issus du métabolisme secondaire. [3]

Ce sont des composés benzéniques définis par la présence de groupements hydroxyles sur un ou plusieurs cycles aromatiques. La figure 01 présente des exemples de structures phénoliques :

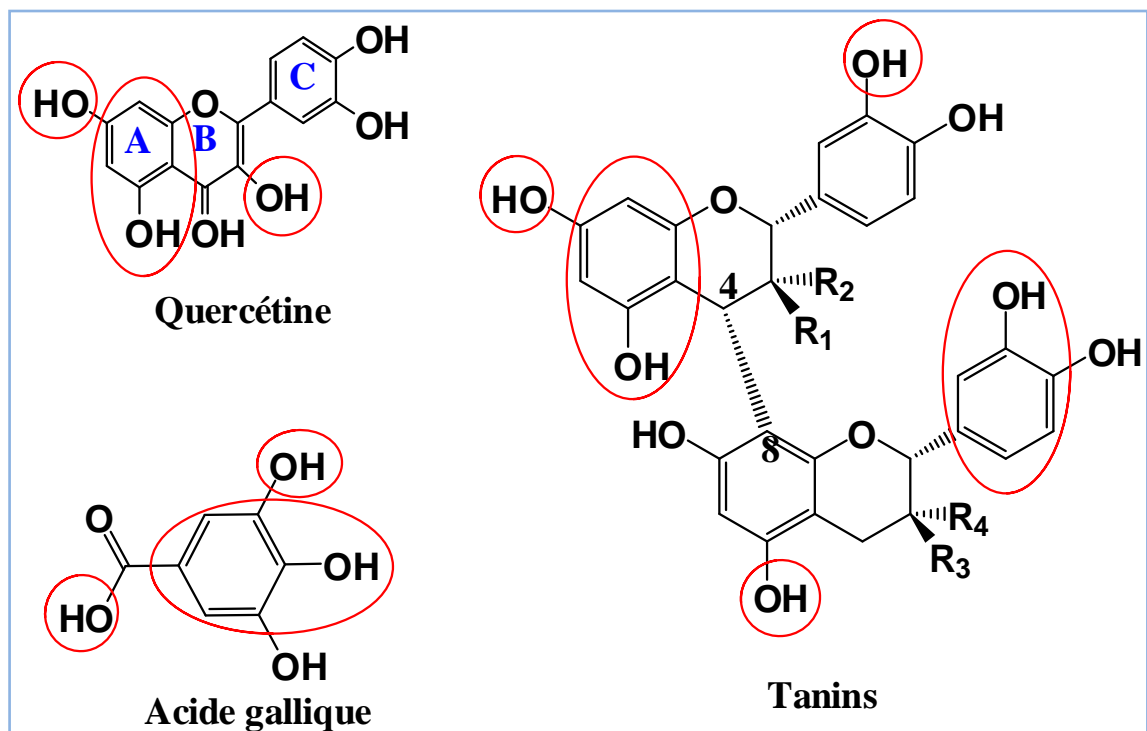


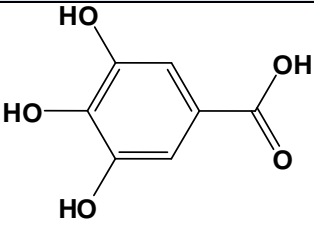
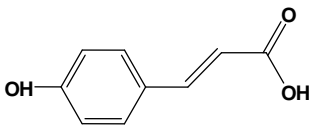
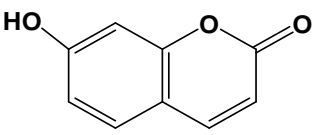
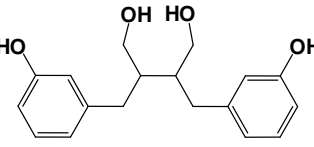
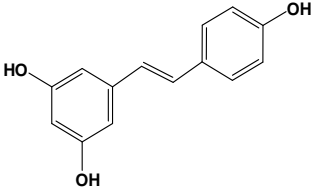
Figure 01 : Exemples structurales de polyphénols.

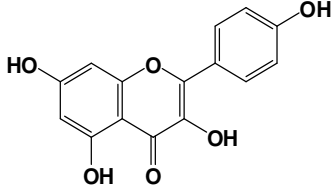
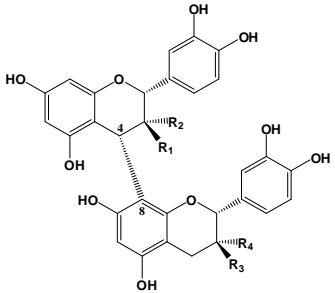
I.1.2. Classification et catégories des polyphénols :

En se basant sur le nombre d'atomes de carbone dans un polyphénol et aussi le type de son squelette, différentes classes de polyphénols sont distinguées, parmi lesquelles sont citées les catégories suivantes : acide phénols, acétophénones, flavonoïdes, tanins, coumarines, anthocyanosides [4].

Dans le tableau 01 sont mentionnés certaines de ces classes avec leurs structures chimiques :

Tableau 01 : Exemples de classes des polyphénols. [4, 5]

Classification des polyphénols	Squelettes	exemples	structure	Origine
Acide phénol	C6 – C1	Acide gallique		feuilles de thé
Acides hydroxy-cinnamiques	C6 – C3	Acide <i>p</i> -coumarique		Tomates, ail
Coumarines		Ombelliférone		Carottes.
Lignanes	(C6 – C3) ₂	Entérodiol		Lin
Stilbènes	C6 – C2 – C6	Resveratrol		Raisin

flavonoïdes	C6 – C3 – C6	Kaempférol		Fraises
Tanins	(C6 – C3 – C6)_n	Procyanidine		Raisins.

I.1.3. Activités biologiques des polyphénols :

Les polyphénols disposent une extrême variété d'activités biologiques [6], le tableau ci-dessous présente quelques propriétés :

Tableau 02 : Quelques propriétés des polyphénols

	Activités biologiques	Exemples des polyphénols	Références
polyphénols	Antioxydante	Coumarines, Lignanes, tanins Acides phénoliques	[6 - 9]
	Antimicrobienne	Flavonoïdes (Quercétine, Hespéridine) (apigénine)	[10]
	Anti-inflammatoire	Acides phénoliques, flavonoïdes (quercétine, astragaline, myricétine...)	[8- 10]
	antiseptique	Acides phénoliques (phénol simple)	[8, 9]
	Anti-radicalaire	Acides phénoliques, flavonoïdes	[8, 9]
	Anti-cancéreux	Stilbènes, flavonoïdes (La Catéchine)	[1, 5, 11]

Les polyphénols possèdent également diverses propriétés telles que :

- permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets.
- Certains d'entre eux jouent le rôle de phyto-alexines comme les iso-flavonol (permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries). [12]
- Protéger l'homme contre certaines maladies en raison de leurs nombreuses enzymes et de leurs différentes propriétés biologiques. [13]

I.2. Flavonoïdes :

I.2.1. Définition :

Les flavonoïdes occupent une place prépondérante parmi les polyphénols. Ce sont des pigments végétaux jaune orangés (*flavus* : jaune). Plus de 6500 flavonoïdes naturels ont été décrits. [3]

Ces molécules se présentent en 15 atomes de carbones arrangés comme suit : $C_6-C_3-C_6$. Elles sont composées de deux noyaux aromatiques de benzène **A** et **C**, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle **B**. [12]

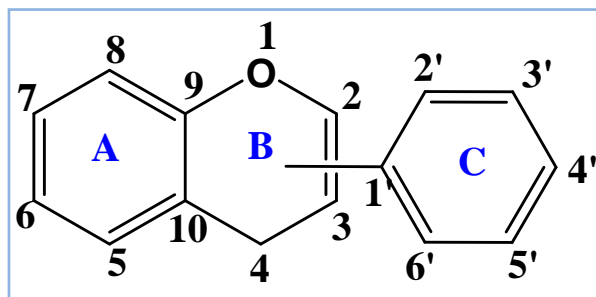


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes

Différentes substitutions touchant les noyaux **A** ou **C** peuvent survenir dans chaque classe des flavonoïdes, elles sont produites de différentes réactions par exemple de : l'oxydation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfonation de ces noyaux. [6, 14]

I.2.2. Classification des flavonoïdes : [15]

La figure 03 regroupe quelques classes des flavonoïdes les plus répandues :

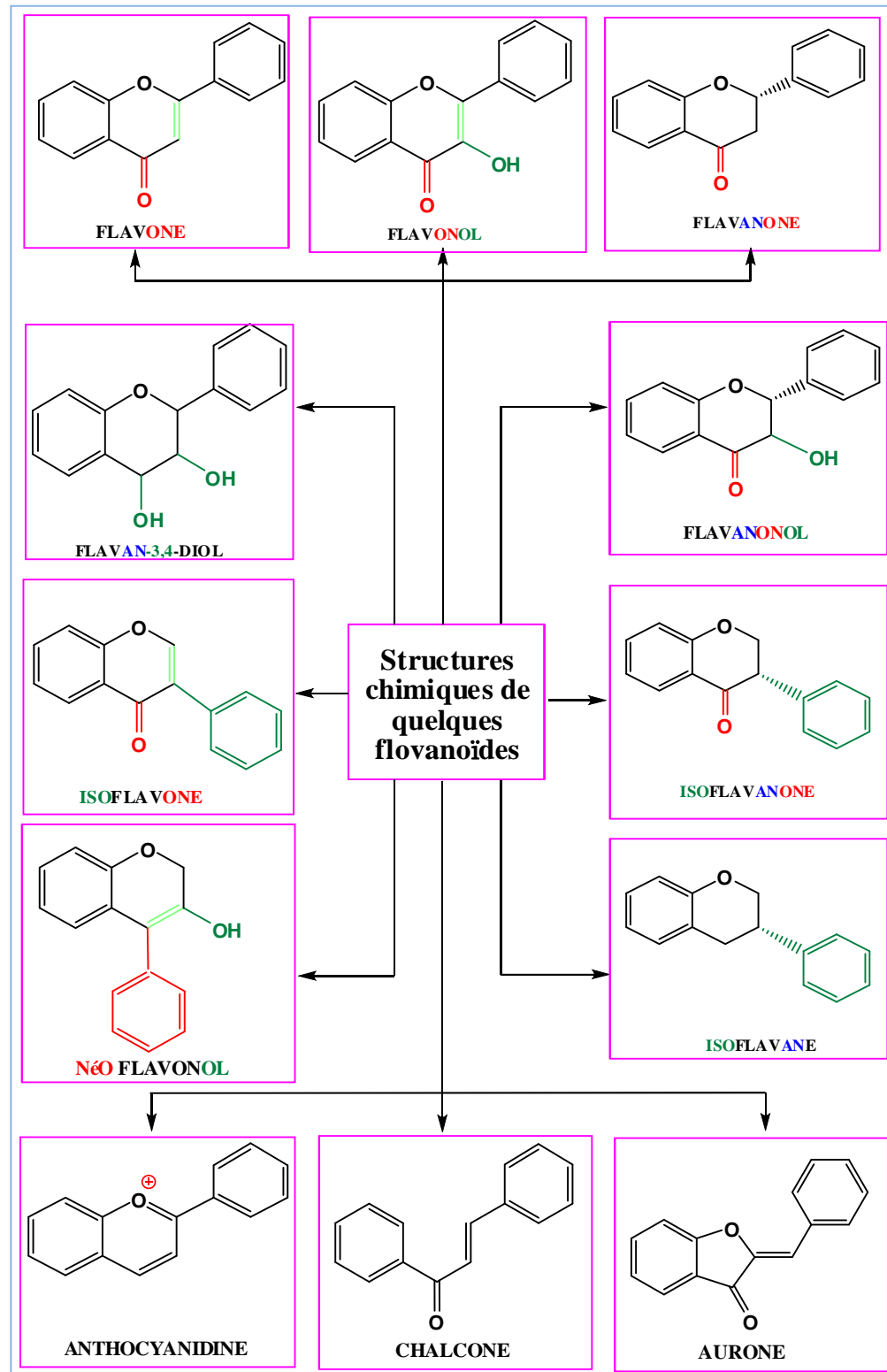


Figure 3 : Structures de base de quelques classes de flavonoïdes.

I.2.3. Biosynthèse des flavonoïdes : [1, 10, 16, 17]

Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base. Cela fait penser à une même voie biosynthétique. La condensation du phényl-propanoïde avec trois unités de malonyl-CoA à l'aide du catalyseur « chalcone synthase » produit la chalcone « 4,2',4',6'-tetrahydroxychalcone ». Cette dernière est considérée en tant que le précurseur de tous les autres flavonoïdes.

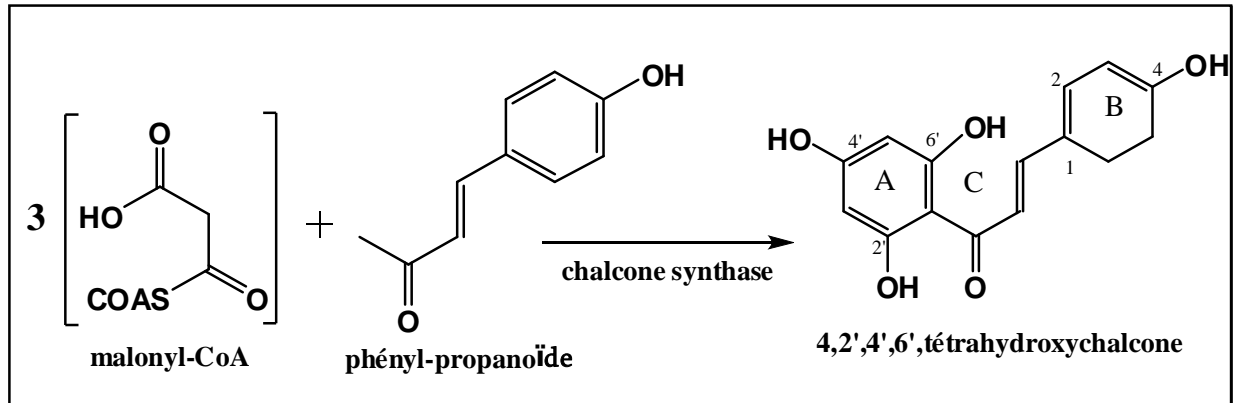


Figure 04 : L'étape clé de la formation des flavonoïdes. [9]

Cet intermédiaire est contrôlé par l'enzyme : « chalcone isomérase » qui fait fermer le cycle « C » pour aboutir à une flavanone. De cette dernière dérivent différentes classes de flavonoïdes.

Le schéma présenté sur la figure 05 montre l'élaboration de quelques flavonoïdes à partir de chalcone citée précédemment :

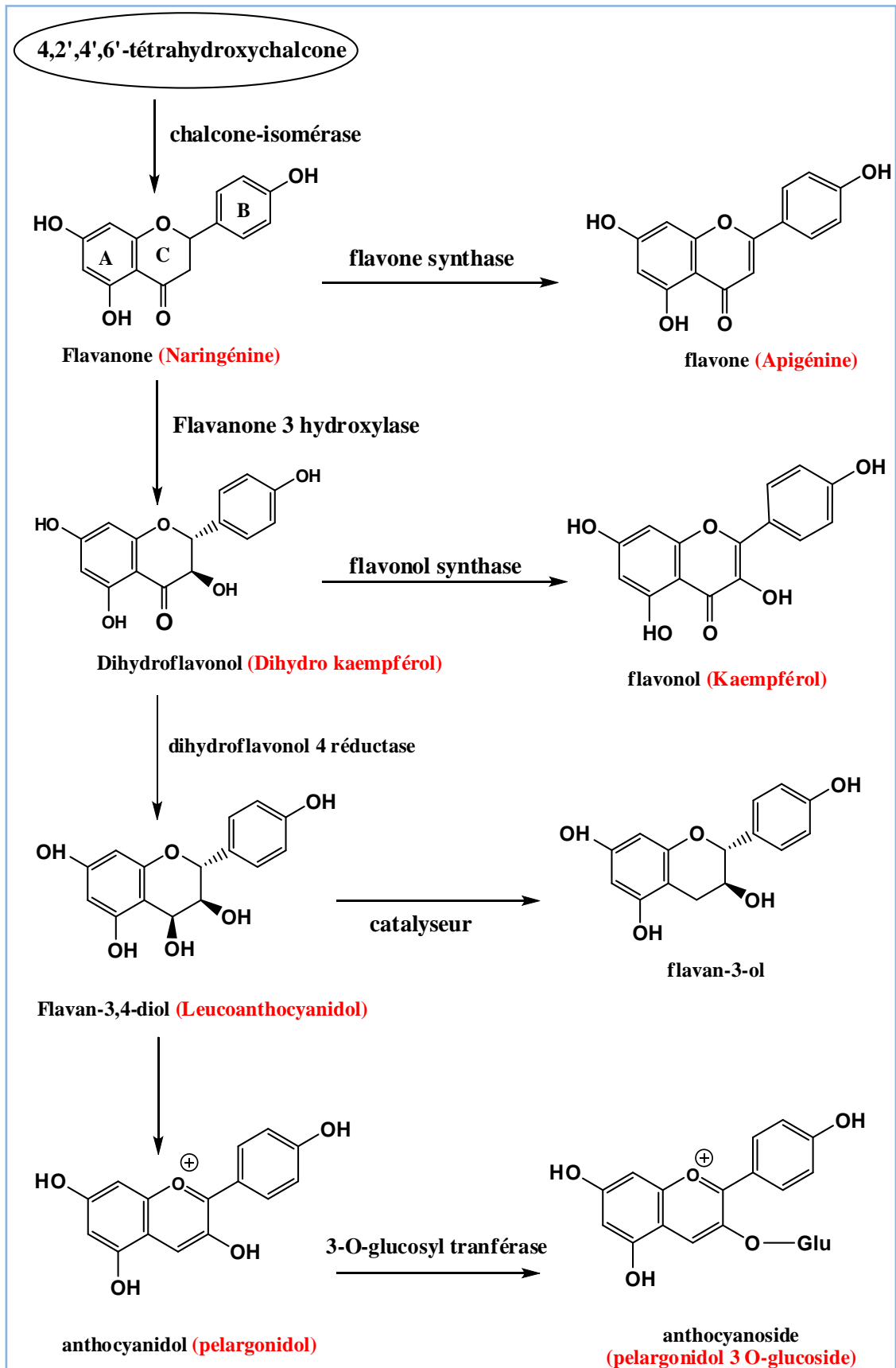


Figure 05 : Voie biosynthétique des flavonoïdes.

II.2.4. Activités biologiques des flavonoïdes :

En tant que produits naturels de structures chimiques très intéressantes, les flavonoïdes ont été largement étudiés. Ils sont doués d'une variété d'activités biologiques.

Certaines d'entre elles ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche, telles que : l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobienne, etc.

Le tableau suivant montre quelles que propriétés biologiques des flavonoïdes d'après plusieurs études mis en jeu :

Tableau 03 : Exemples de propriétés biologiques des flavonoïdes.

Activités biologiques	Exemples de Flavonoïdes	Références
Antioxydante	anthocyanines	[6, 8, 18]
Antimicrobienne	Rutine, Quercétine, Hespéridine, bi flavonoïde	[7, 10, 18]
Antiallergique	Quercétine,	[7]
Anti-inflammatoire	Astragaline, fisetine, kaempferal, Rutine.	[7, 10]
Anti-diabète	apigénine	[10]
Anti-tumorale	Anthocyanines, Catéchine, Quercétine, chalcone	[7, 8, 10]
Antifongique	narginine, noblétine, isoflavones, flavone, flavanone	[10]
antivirale	Narginine, luteolin,	[7, 10]

II.2.4.1. Relation activité-structure dans les flavonoïdes :

La plus part des flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydant à cause de leurs faibles potentiels Redox. Les flavonoïdes sont capables de réduire les radicaux libres, par le transfert d'hydrogène pour obtenir un radical du flavonoïde correspondant très stable et avoir un bon pouvoir piègeur des radicaux libres. [19]

D'après Rice-Evane et Al., en 1996 [16, 20], trois conditions structurales doivent exister chez un flavonoïde pour qu'il soit actif et stable, tel que la quercétine, à savoir :

- ✓ La structure ortho-di-hydroxy sur le cycle **C**, formant le noyau catéchol. [21]
- ✓ La double liaison **C₂-C₃** en conjugaison avec la fonction **oxo (C₄)** sur le cycle **B**. [22]
- ✓ La présence du groupe **OH** sur le **C₃** en combinaison avec la double liaison **C₂-C₃**. [22]

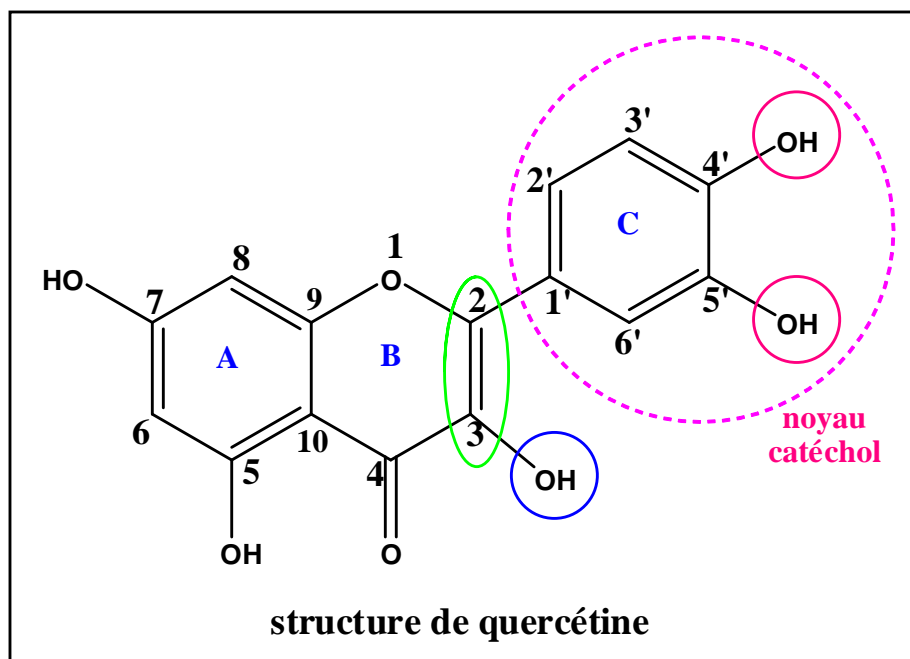


Figure 06 : Éléments structuraux essentiels d'un flavonoïde actif et stable. [20]

II.2.4.2. Relation structure-fluorescence dans les flavonoides. [16, 23]

Chaque flavonoides est caractérisé par une couleur qui oriente vers sa structure, le tableau 04 ci-dessous montre quelles que relation entre la structure des flavonoides et fluorescence.

Tableau 04 : Relation structure-fluorescence des flavonoides.

La couleur sous l'UV	Type des flavonoides
jaune	Flavone, Flavonol, Aurone, Chalcone Flavanone, Dihydroflavonol
Marron (brun)	Flavone, Flavonol, Chalcone, Tannins condensés
Mauve (violet)	Flavone, isoflavone, Dihydroflavonol, Chalcone
Bleue	Flavone, Flavonol
Verte	Aurone
orange	Flavonol, Isoflavone

Chapitre II :
Activité antioxydante

II.1. Espèces chimiques responsables de l'oxydation :

Le radical libre est une espèce chimique, molécule, fragment de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante « libre » en contenant un électron célibataire (électron non apparié). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte.

En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé. [1]

Parmi les plus dangereux radicaux qui peuvent exister ceux dérivant de l'oxygène. Ces espèces, couramment, appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou encore leurs homologues azotés (ERN) car elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même.

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies est maintenant largement démontrée. [21]

II.1.1. Les antioxydants :

Les antioxydants sont des composés chimiques peuvent être définis comme toute substance, qui lorsqu'elle est présente en concentrations faibles, comparés à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de façon significative ou empêche, l'oxydation de ce substrat. [23] Ces substances ont pour rôle, d'une manière directe ou indirecte, d'empêcher les ERO et ERN d'atteindre les cibles biologiques (acides nucléiques, protéines, lipides...), pouvant assister considérablement les mécanismes cellulaires. [1, 25]

Ils sont capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. [1]

II.1.2. Classification des antioxydants : [25, 26]

Les antioxydants sont souvent, classés selon leur origine dans des catégories différentes parmi les quelles on cite :

a- Antioxydants synthétiques :

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments le BHT (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur.

b- Antioxydant d'origine végétale :

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et **les polyphénols**.

Les composés phénoliques sont capables de neutraliser les radicaux libres. En effet, les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes. Ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactifs de l'azote.



La forme radicalaire produite, ayant une très grande stabilité structurale, est moins dangereuse que le radical initial. [1, 27 - 29]

II.1.3. Conditions d'utilisation des antioxydants : [1, 25, 26]

Il est habituel de dire qu'un bon antioxydant est un bon « capteur » de radicaux libres. Quoique, leur utilisation en alimentation doit répondre à quelques exigences, citons entre autres :

- Solubilité dans les graisses.
- Efficacité à faible dose.
- Non toxiques.
- N'entraînent ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable.
- Résistants aux processus technologiques.
- Stabilité dans le produit fin.

II.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante : [26, 30]

La capacité antioxydante n'est, souvent, conclue sur la base d'un seul type de test antioxydant. Plusieurs essais in vitro selon différentes procédures sont suivis pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons d'intérêt.

Plusieurs méthodes sont utilisées dont les noms dérivent, généralement, du nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, parmi celles-ci, on cite : le test DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), aux quels seront, brièvement, attribuées les explications suivantes :

II.2.1. Méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH[•]) : [31, 30, 33]

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques, Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

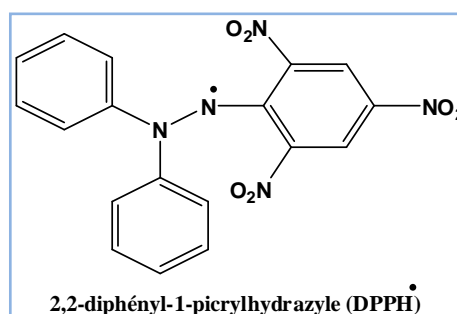


Figure 07 : Structure chimique du radical DPPH[•].

Du fait de la délocalisation, les radicaux ne forment pas des dimères. Le DPPH[•] reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violet bien caractéristique de la solution de DPPH[•].

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette vers le jaune, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie à 515-517 nm.

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- La libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques)
- La libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes).

Dans le cas des composés phénoliques le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H du polyphénol sur le DPPH[•] (figure 08), afin, de le transformé en une molécule stable DPPH-H.

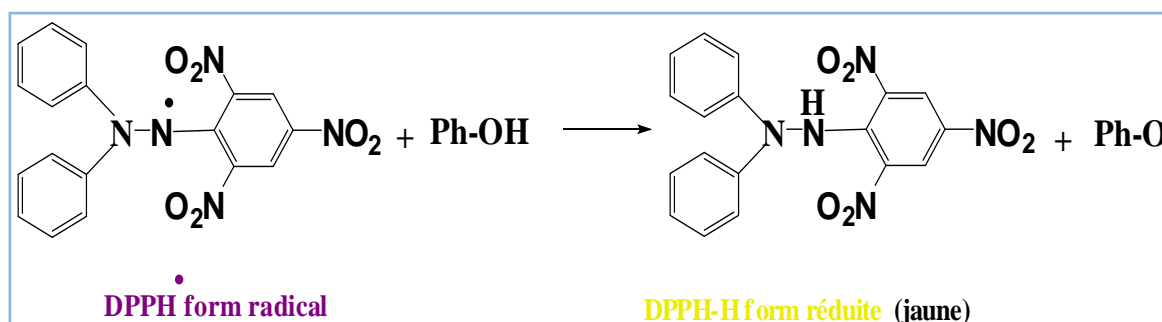


Figure 08 : Réaction du DPPH avec un polyphénol.

Les résultats de ce test sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (PI %) en utilisant la formule suivante : [33, 34]

$$PI \% = [(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{contrôle}}] \times 100\% \quad [35]$$

Où :

PI %: Pourcentage de piégeage.

Abs Échantillon(Extrait) : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

II.2.2. Méthode de réduction de Fer (FRAP) : [3, 36]

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (Oyaiz, 1986) (Bougandoura, 2013). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique dans le complexe Fe^{3+} -TPTZ en fer ferreux par les antioxydants qui donnent la couleur bleu pour le complexe produit Fe^{2+} -TPTZ selon la réaction résumé sur la figure 09 :

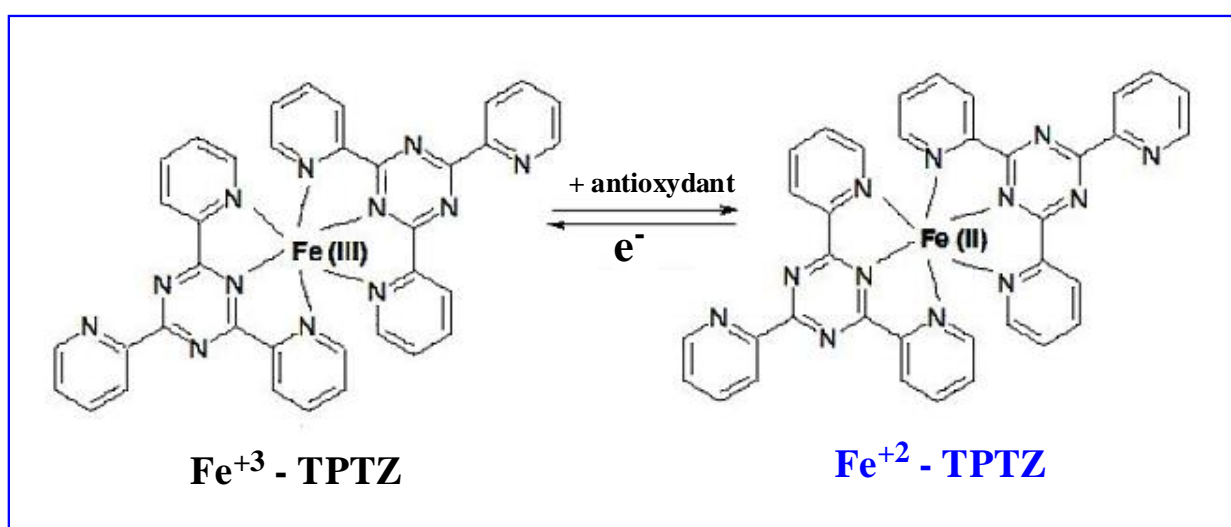


Figure 9 : Réaction et transformation du Fe^{3+} - TPTZ en Fe^{2+} - TPTZ.

Chapitre III :
Plantes étudiées

III.1. Plantes étudiées :

Brocchia cinerea (Del.) et *Matricaria pubescens* (Desf.) sont des plantes spontanées non toxiques, très répandues dans tout le Sahara, notamment celui du Maroc, la Tunisie, l'Algérie et la Libye [2]. Elles appartiennent à la même famille botanique, à savoir les Asteraceae. Elles sont largement utilisées dans les pratiques traditionnelles des habitants de ces régions, tantôt pour se soigner et tantôt pour des fins nutritionnelles.

III.1.1. La plante *Brocchia cinerea* (Del.) :

L'espèce est très commune dans les régions sahariennes Nord-Africaines, entre autres, la région d'Ouargla. Elle est connue pour ses applications thérapeutiques et alimentaires [2].

III.1.1.1. Position systématique : [2, 37]

Embranchement : Spermaphytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Astérales.

Famille : Asteraceae.

Genre : Cotula

Espèce : *Brocchia cinerea* (Del.)

Nom vernaculaire : Chihia

III.1.1.2. Description botanique de la plante :



Figure 10 : Photo de la plante *Brocchia cinerea* (Del.) [38, 39]

Cette plante possède des feuilles laineuses blanchâtres, épaisses, divisées de trois à cinq dents obtus. A des Tiges de 10 à 40 cm et a des capitules de 6 à 10 mm de diamètre, Les fleurs sont de petits demis pompons jaune d'or au bout d'une courte tige. [4, 37]

III.1.1.3. Composition chimique et propriétés biologiques :

Des études expérimentales spécialisées ont montré que *B. cinerea* est très riche en sesquiterpènes lactones [40, 41], sesquiterpènes coumarines et en flavonoïdes [2, 41 - 44], signalons entre autres : Kaempféritine, Quercétine, Quercitrine, Lutéoline, Lutéoline 6-OH-7-O- β -D glucoside, Apigénine 7-O- α -L-rhamnoside, 5, 3', 4'-trihydroxy -3, 6,7-triméthoxyflavone [18, 45, 46], saponiside, stéroles et en terpènes [2, 40, 41, 44].

Des travaux de recherche se sont intéressés aux propriétés biologiques de l'espèce, parmi celles qui ont été testé : Antioxydante, Antimicrobienne [2, 18, 40, 47], l'activité anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique et l'activité larvicide des extraits du n-butanol et autres [42, 43, 48].

III.1.1.4. Utilisations traditionnelles de la plante :

Les populations des régions sahariennes, où elle pousse, utilisent cette plante pour plusieurs raisons thérapeutiques. Elle est utilisée contre la colique, la diarrhée, la toux et aussi pour des applications broncho-pulmonaires.

Par ailleurs, elle est utilisée pour aromatiser le thé et le lait. Elle sert aussi comme nourriture pour leurs animaux. [2, 18]

III.2.2. La plante *Matricaria pubescens* (Desf.) :

M. pubescens appartient à la famille des Asteraceae. Distribuée dans le Sahara du Maroc, la Tunisie, l'Algérie et la Libye. [12, 26]

III.2.2.1. Position systématique : [37, 49]

Embranchement : Angiospermes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Astérales

Famille : Asteraceae

Genre : *Matricaria*

Espèce : *Matricaria pubescens* (Desf.)

Nom français : Camomille

Nom vernaculaire : Garetoufa, ouazouaza.

III.2.2.2. Description botanique de la plante :



Figure 11 : Photo de la plante *Matricaria pubescens* (Desf.). [50]

M. pubescens ne dure pas très long temps, sa période de végétation et de floraison se situe en Février-Mars. Elle se présente en petites touffes vertes sombres, elle ne dépasse guère 20 cm de haut. Ses feuilles sont très découpées et plus ou moins-values, ses fleurs sont de couleur jaune vif. Son habitat se réduit aux dépressions argilo-sableuse et les lits d'oueds. [33]

III.2.2.3. Compositions chimique et propriétés biologiques :

Des études chimio-systématiques, sur la famille des Asteraceae, ont montré la grande variété des métabolites secondaires et les procédés biosynthétiques différents qu'elle possède.

La plante *M. pubescens*, appartenant à cette famille, est très riche en ces substances naturelles telles que : les coumarines (herniarine, dihydro-herniarine) [52], les flavonoïdes, les terpènes, les hétérosides, les sesquiterpènes lactones, les amides ... [49, 52], les tannins, les saponines, les stérols [44, 53].

M. pubescens n'est pas signalée comme toxique par les nomades [12, 54], elle possède des propriétés médicinales et biologiques diversifiées, entre autres sont citées les actions antinévralgiques, antiallergiques, emménagogues, antispasmodiques, fébrifuges antiseptiques et bactéricides, antioxydants et antibactériennes. [53, 55, 56, 57]

III.2.2.4. Utilisations traditionnelles de la plante :

Elle est utilisée pour traiter les maladies oculaires, les troubles gastro-intestinaux et du calcul biliaire, pour traiter aussi la toux, la dysménorrhée, les maladies rénales et les douleurs des maladies infectieuses et rhumatismales. La poudre de ses tiges et ses feuilles est utilisée comme condiment, elle aromatise agréablement la soupe traditionnelle. Elle peut être ajoutée au thé pour la même raison. [12, 54, 56]

Deuxième partie :
Étude expérimentale

Chapitre I :
Matériel et méthodes

I.1. Matériel et méthodes :

I.1.1 Matériel végétal :

Le matériel végétal des deux plantes a été récolté au printemps, en stade de floraison. *Brocchia cinerea* (Del.) est apportée du Nord-Est de la ville d'Ouargla tandis que *Matricaria pubescens* (Desf.) a été ramenée de Still, Wilaya de Biskra.

La reconnaissance botanique a été faite par Mr. Oulad belkheir botaniste de la faculté de biologie à l'université d'Ouargla, des échantillons de référence ont été déposés au niveau de l'herbarium de notre laboratoire Bio-Géochimie à l'université d'Ouargla.

Après son séchage à l'ombre dans un endroit aéré, le matériel végétal de la *M. pubescens* été broyé puis utilisé. Celui de *B. cinerea* a été employé à l'état frais sous forme de très petits fragments.

I.2. Méthodes d'extraction :

Afin d'extraire le maximum de polyphénols contenus dans les deux plantes, une variété de solvants organiques a été utilisée en suivant deux protocoles d'extraction.

I.2.a. Dans le cas de *M. pubescens* :

Pour cette plante, le protocole suivit consiste à une macération de la poudre végétale (500 g) dans le mélange hydro-méthanolique (70%) pendant 24 h, cette étape a été répétée 3 fois.

Après filtration et l'évaporation du méthanol dans les extraits réunis, des extractions liquide-liquide ont été effectuées sur la phase aqueuse avec l'acétate d'éthyle (AcOEt) et puis avec le butanol (BuOH) pour obtenir à la fin les extraits d'AcOEt et du BuOH bruts.

I.2.b. Dans le cas de *B. cinerea* :

Une masse de (800 g) de *B. cinerea* fraîchement collectée a été soumise à des macérations successives dans différents solvants organiques en augmentant la polarité. La macération dans chaque solvant a duré 24 h répétée 3 fois. Les solvants ont été utilisés dans cet

ordre : CH₂Cl₂, AcOEt, BuOH et EtOH. Il est à signaler qu'avant l'utilisation d'un nouveau solvant, le matériel végétal doit être séché du solvant précédent.

Après la filtration et l'évaporation des extraits réunis de chaque macération, on a obtenu respectivement, les extraits bruts suivants : CH₂Cl₂, AcOEt, BuOH et EtOH.

Les étapes suivies dans les deux protocoles sont schématisés sur les figures 12 et 13 :

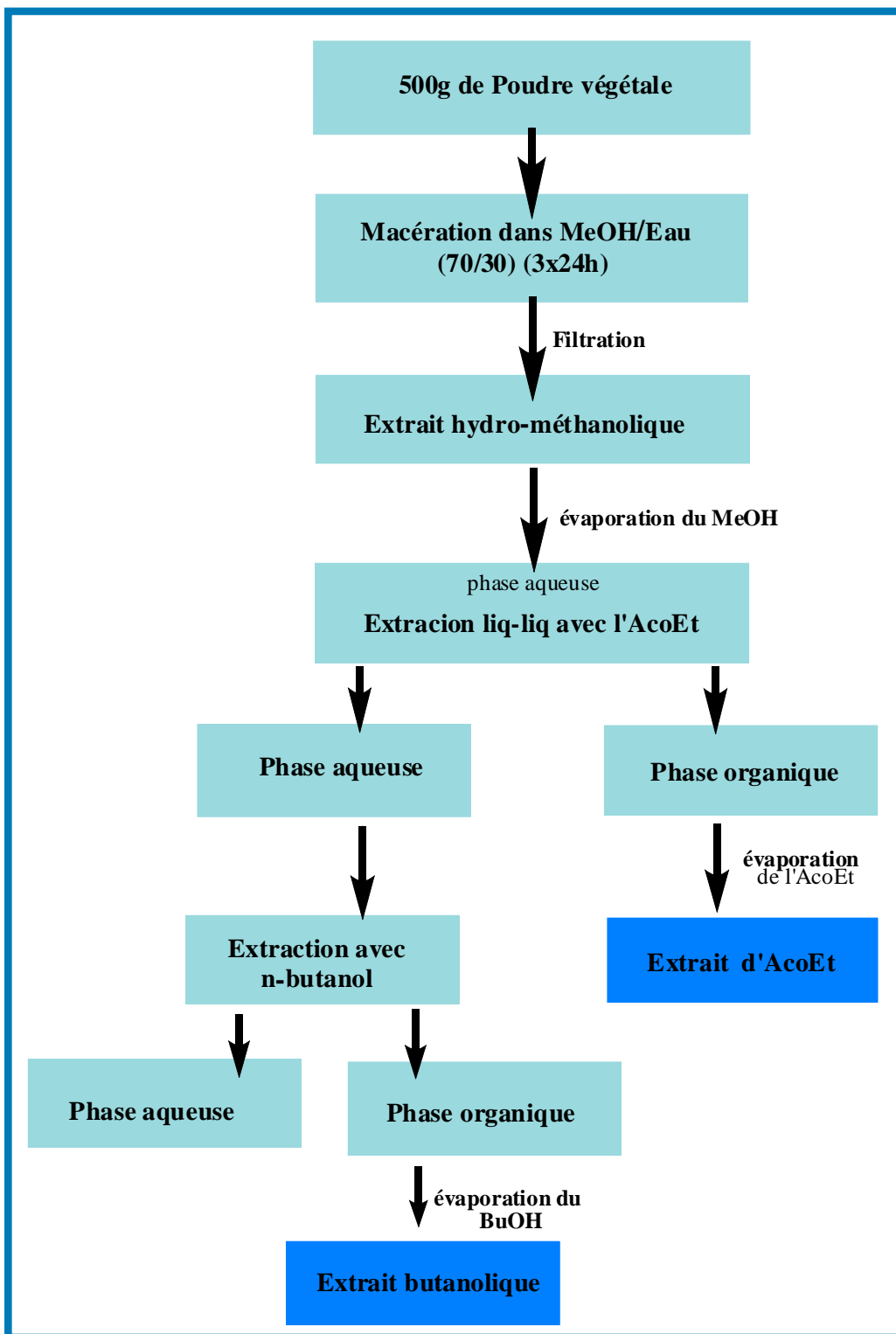


Figure 12 : Protocole de préparation des extraits bruts de *M. pubescens*.

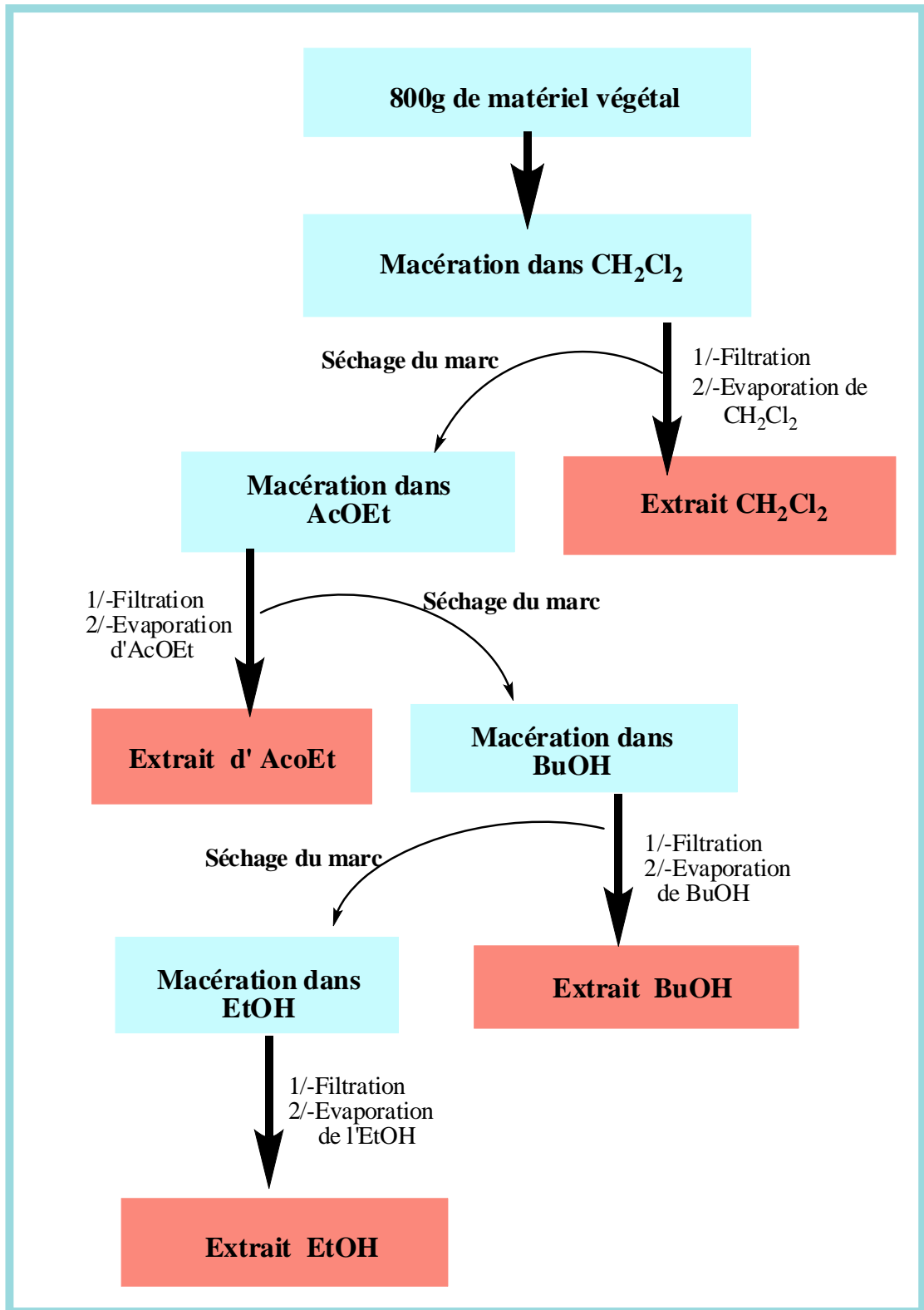


Figure 13 : Protocole de préparation des extraits bruts de *B. cinerea*.

I.3. Méthodes de séparation chromatographiques :

I.3.1. Chromatographie sur couche mince CCM :

Il s'agit d'une technique d'analyse, très utile et simple à mettre en œuvre. On l'utilise généralement pour :

- ✓ connaître la composition d'un échantillon.
- ✓ connaître la composition d'une fraction séparée sur colonne.
- ✓ visualiser la pureté d'un produit. [12, 58]

Dans une première étape de ce travail, la CCM a été très informative pour l'optimisation des conditions de fractionnement sur colonne des extraits AcOEt des deux espèces.

I.3.1.1. Mode opératoire :

Dans les deux cas, des plaques CCM commerciales ont été utilisées, il s'agit du gel de silice ou cellulose comme phase stationnaire. Plusieurs phase mobiles ont été testées à (50/50 : v/v) telles que : AcOH/MeOH, CH₂Cl₂/MeOH, acétone/Etp, CH₂Cl₂/EtOH, EtOH/Etp, CH₂Cl₂/Etp.

À la fin de chaque test, le chromatogramme produit a été visualisé sous la lampe UV à deux longueurs d'onde : 365 nm et 254 nm et puis après avec un des révélateurs : vanilline sulfurique, vapeur d'ammoniaque NH₃, AlCl₃.

Dans un premier temps, cette technique a été utilisée à fin d'optimiser les conditions de fractionnement des extraits AcOEt de chaque espèce.

Le tableau 05 présente les résultats d'éluion avec des phases mobiles testées pour les deux plantes :

I.3.2. Chromatographie sur colonne (CC) :

Généralement, les techniques chromatographiques sont employées pour la séparation des mélanges et la purification des produits chimiques. En effet, la chromatographie sur colonne (CC) est une méthode de base dans toute étude phyto-chimique, elle permet dans un premier temps de simplifier les extraits naturels en des fractions, comme elle est utilisée par la suite pour purifier les constituants de ces mélanges. L'élution peut être effectuée par différentes méthodes, soit à pression normale soit en appliquant de moyennes pressions.

I.3.2.1. Fractionnement des extraits d'AcOEt par flash chromatographie :

Dans cette étude, la flash chromatographie a été employée pour fractionner grossièrement les extraits AcOEt issus des deux plantes. Elle consiste à appliquer une pression faible à la tête de la colonne de séparation.

I.3.2.2. Mode opératoire :

I.3.2.2.a. Fractionnement de l'extrait AcOEt de *M. pubescens* :

À la lumière des résultats de la CCM, le système CH₂Cl₂/ MeOH a été choisi pour le fractionnement d'une masse de 2g d'extrait AcOEt obtenu de *M. pubescens*.

Une fois la colonne est préparée, la masse d'extrait a été déposée sur le front de la phase stationnaire (gel de silice) puis éluée par des volumes de 200 ml des différents pourcentages du système d'éluion précédemment signalé. Un schéma représentatif des étapes suivies est montré sur la figure 14.

Le tableau 06 rassemble les systèmes éluants utilisés et les fractions collectées :

Tableau 6 : Résultats de fractionnement de l'extrait AcOEt de *M. pubescens*.

Fraction	Fm0	Fm1	Fm2	Fm3	Fm4
% d'éluion CH₂Cl₂/ MeOH	100 / 0	75 / 25	50 / 50	25 / 75	0 / 100

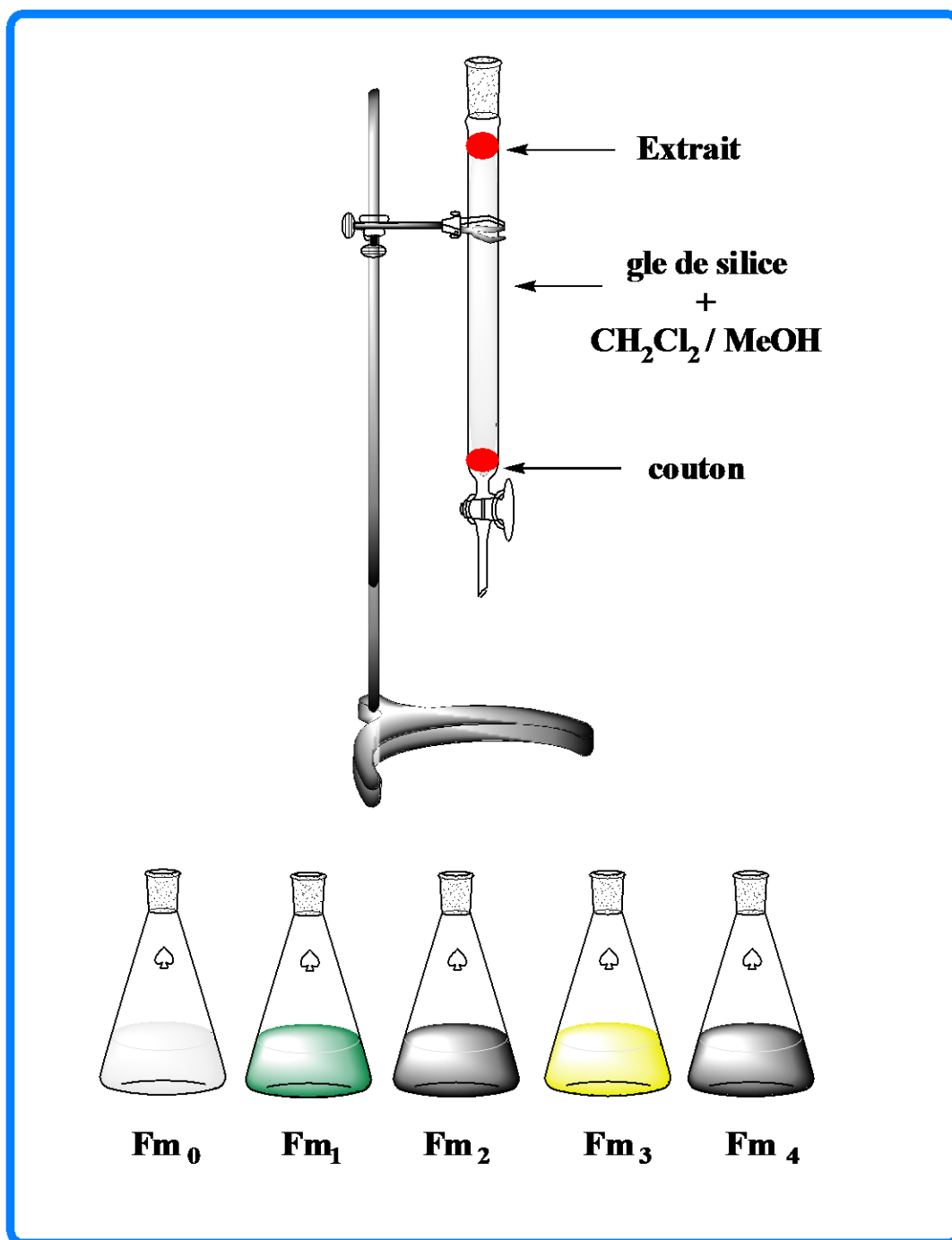


Figure 14 : Schéma représentatif du fractionnement de l'extrait AcOEt de *M. pubescens*.

II.3.2.2.b. Fractionnement de l'extrait AcOEt de *B. cinerea* :

Pareillement, les tests CCM nous ont orienté de faire le choix de la phase mobile de ce fractionnement, elle est formée de Etp / EtOH.

L'opération a été effectuée pour 0.9 g d'extrait sur la silice en tant que phase stationnaire avec des volumes de 200 ml de chaque pourcentage du système d'élution, précédemment mentionné.

Les étapes suivies sont schématisées sur la figure 15. Tandis que les fractions obtenues avec les différents pourcentages employés sont résumé dans le tableau 07.

Tableau 07 : Résultats de fractionnement de l'extrait AcOEt de *B. cinerea*.

Fraction	Fb0	Fb1	Fb2	Fb3	Fb4	Fb5
% d'élution Etp / EtOH	100 / 0	80 / 20	60 / 40	40 / 60	20 / 80	0 / 100

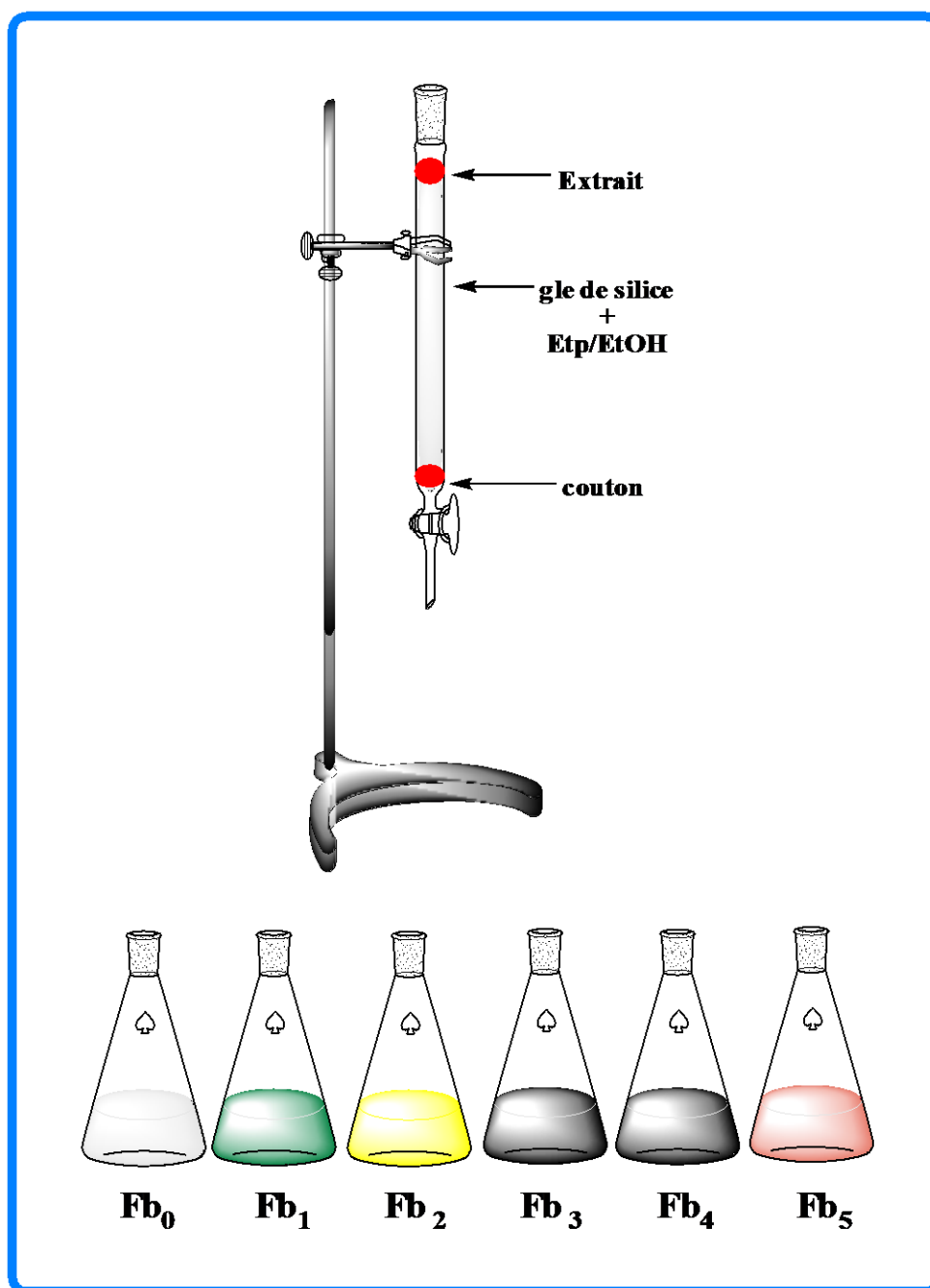


Figure 15 : Schéma représentatif du fractionnement de l'extrait AcOEt de *B. cinerea*.

I.3.3. Chromatographie sur papier CP :

Malgré son pouvoir séparateur limité dans le cas des mélanges complexes, la Chromatographie sur papier demeure une technique courante au laboratoire [17].

Cette technique est utilisée dans le cas de séparation des quantités moins importantes, elle peut informer sur les types de composés flavonoïdes présents.

I.3.3.1. Modes opératoire :

Dans ce travail, la CP bidimensionnelle est utilisée pour élucider la composition flavonique des différentes fractions obtenues des deux extraits AcOEt de *M. pubescens* et de *B. cinerea*.

Le papier Wathman N°1, préalablement imprégné dans l'eau puis séché, a servi comme phase stationnaire avec les phases mobiles suivantes : [5, 55, 59]

- 1^{ère} dimension : BuOH: AcOH: H₂O 4: 1: 1 (v/v)
- 2^{ème} dimension : AcOH / H₂O 10%

Après développement des chromatogrammes, les taches ont été délimitées sous la lampe UV à $\lambda = 254$ nm, $\lambda = 366$ nm. L'exposition des chromatogrammes aux vapeurs de NH₃ plus la lumière UV, a permis de noter les changements de couleurs observés.

I.4. Évaluation de l'activité antioxydante :

L'évaluation de cette activité peut être réalisée selon différents protocoles par piégeage de radicaux libres par différents méthodes telles que la méthode de DPPH• et la méthode de FRAP.

I.4.1. Évaluation par la méthode DPPH :

I.4.1.1. Protocole :

Une prise de 2900 µl de la solution DPPH préparée dans le méthanol absolu ($6.10^{-5}M$), a été mélangé avec 100 µl de l'échantillon à une concentration de 1mg/ml (choisie après des essais préliminaires).

Après l'incubation des solutions pendant 30 minutes à l'obscurité, les absorbances sont mesurées à 517 nm.

L'acide ascorbique, en tant que standard, à des concentrations : 5, 10, 15, 20, 30, 40, ... 100 µg /ml a servi pour tracer la courbe d'étalonnage. [34, 59]

I.4.2. Évaluation par la méthode FRAP :

I.4.2.1. Protocole :

150 µl de l'échantillon ou une solution de l'acide ascorbique (avec dilutions prises), ont été ajoutés à 2850 µl de la solution FRAP fraîchement préparée puis conservée à 37 °C [59]. Le mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'obscurité.

Les lectures par spectrophotomètre UV-vis sont faites à 593 nm. Pareillement, la courbe d'étalonnage a été tracée par une série de concentration de l'acide Ascorbique. Toutes les mesures ont été répétées 3 fois. [36, 60]

Chapitre II :
Résultats et discussion

II.1. Rendements des extractions :

II.1.a. Cas de *M. pubescens* :

L'extraction des parties aériennes de *M. pubescens* selon le protocole sur la figure 12,a permis d'obtenir les taux de rendements représentés graphiquement sur la figure 16.

L'extraction au n-butanol a été plus rentable, tandis que celle réalisée par l'AcOEt n'a permis d'obtenir que 0.53%. Il est a noté que l'extrait d'AcOEt a été d'une couleur marron claire et celui du BuOH d'une couleur marron foncé.

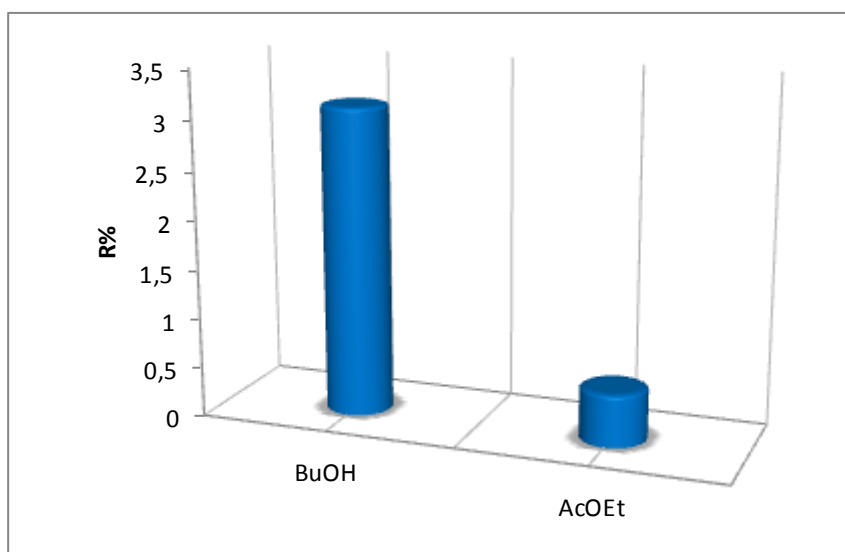


Figure 16 : Rendements d'extraction (*M. pubescens*).

Le rendement le plus élevé est obtenu par le solvant le plus polaire (BuOH), cela indique que *M. pubescens* contient une quantité importante de polyphénols polaires. Ces derniers ne peuvent être que des hétérosides phénoliques polyglycosylés, ce qui est confirmé par la couleur caractérisant l'extrait butanolique. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude [49].

Aussi, ces résultats informent que les mono-, di- glycosides sont, quantitativement, moins présents dans la composition polyphénolique de *M. pubescens*.

II.1.b. Cas de *B. cinerea* :

Le matériel végétal de *B. cinerea* soumis à des extractions successives avec une série de solvants, en graduant la polarité, a permis d'enregistrer les valeurs de rendements mentionnées sur la figure 17.

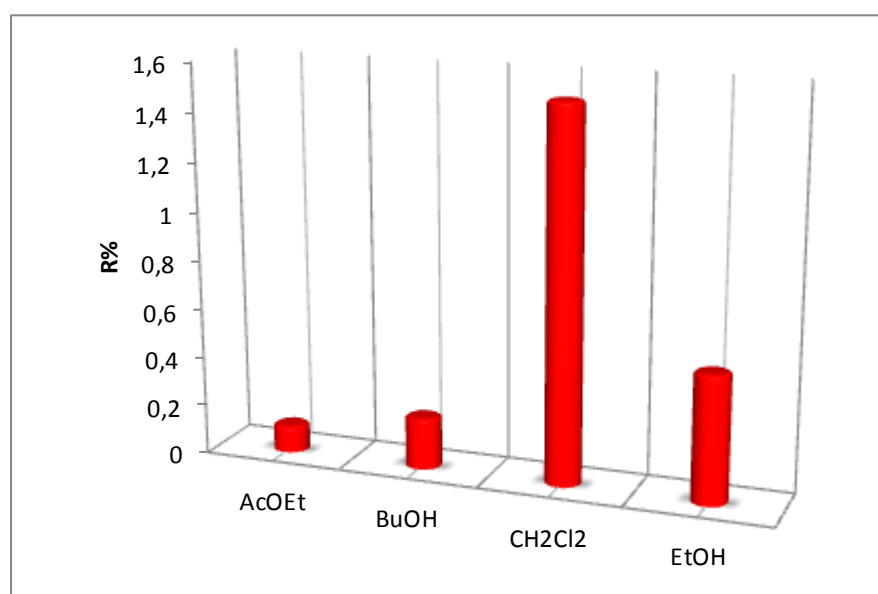


Figure 17 : Rendements des extractions (*B. cinerea*).

A vu des résultats obtenus, il est à noter que le CH₂Cl₂ a pu entraîner une masse importante par rapport aux autres solvants. Cependant, sa couleur verte très foncée indique la prédominance de la chlorophylle. Les produits qui avaient plus d'affinité pour le BuOH et l'AcOEt ont été moins présents dans la composition de *B. cinerea*. La non sélectivité de l'EtOH explique peut-être le rendement relativement élevée de son extrait et même la couleur foncé le confirme.

II.2. Résultats des fractionnements :

Sur l'optique des résultats des tests CCM figures (10 et 11), le système constitué de Etp / EtOH a été choisi pour fractionner l'extrait AcOEt de *B. cinerea*, tandis que, celui formé de CH₂Cl₂ / MeOH a été destiné pour l'extrait AcOEt de *M. pubescens*.

Selon les protocoles représentés sur les figures (14 et 15), quatre fractions pour *M. pubescens* et cinq fractions de *B. cinerea* ont été obtenues de chaque extrait. Les masses produites sont récapitulées sur la représentation graphique de la figure 18.

Figure 18 : Masses des fractions des extraits AcOEt des deux espèces.

Les résultats obtenus ont signalé que les fractions Fm1 et Fm2 dans le cas de *M. pubescens* ont donné les masses plus élevées estimées à respectivement 0.88 et 0.84 g. Tandis que, pour *B. cinerea*, la Fb2 qui a montré la grande valeur (0.46 g).

II.2.1. Analyses chromatographiques des fractions :

II.2.1.1. Cas de *M. pubescens* :

Les fractions obtenues de l'extrait d'AcOEt ont été analysées par chromatographie sur papier en mode bidimensionnel, sous les conditions opératoires suivantes :

- Phase stationnaire : papier Wathman N°1 préalablement saturé par l'eau.
- Phase mobile :
 - 1^{er} dimension : BuOH/AcOH/H₂O (4/1/1).
 - 2^{eme} dimension : AcOH/Eau (10%).
- Révélation : UV et UV+NH₃.

Les chromatogrammes obtenus par (CP) pour les quatre fractions analysées sont présentés sur les figures 19, 20, 21 et 22 :

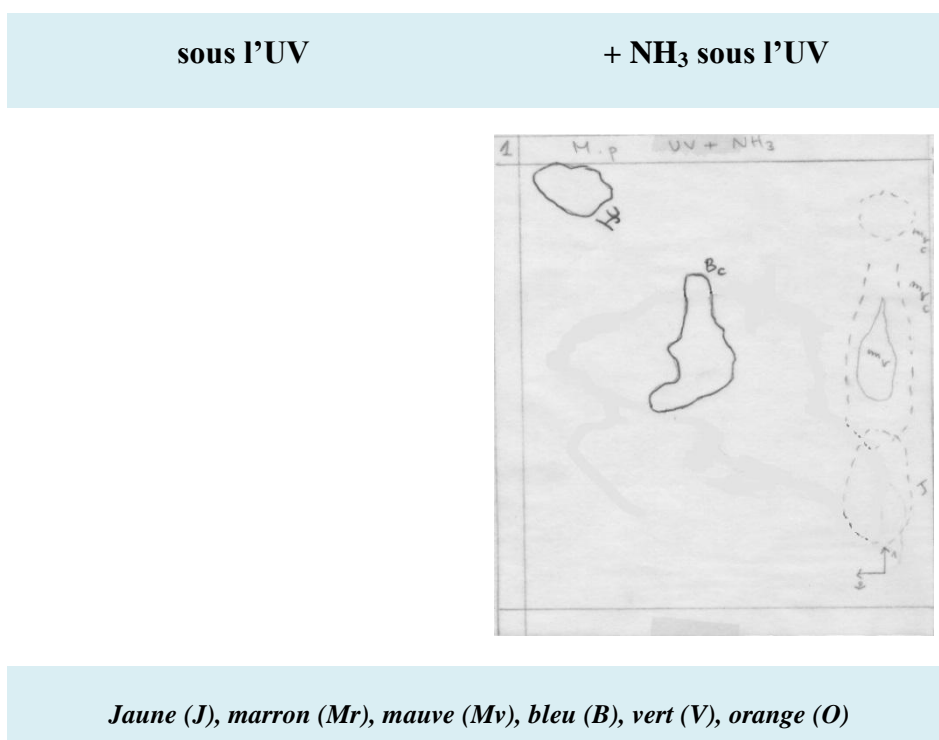


Figure 19 : Résultats d'analyse de la fraction Fm1 par CP.

Sur le chromatogramme de la fraction Fm1, il a été détecté sous la lampe UV trois taches marron, deux taches jaunes, une mauve et une autre bleue. Après l'exposition aux vapeurs de NH₃ plus la lumière UV, deux autres taches ont été apparues, un est de couleur jaune l'autre est

bleue. Celles-là peuvent être attribuées au groupe de flavonoïdes. Les produits semblent être bien séparés les uns des autres dans les deux dimensions.

Figure 20 : Résultats d'analyse de la fraction Fm2 par CP.

D'après les chromatogrammes de Fm2 sur la figure 20, il a été constaté une séparation moins bonne par rapport à celle de Fm1.

En effet, dans le sens de la phase organique et celui de la phase aqueuse les taches suivantes ont été observées sous la lumière UV : deux mauves, quatre taches marron, quatre taches jaunes et trois de couleur bleue.

La révélation par les vapeurs de NH_3 plus la lumière UV a permis de détecter plus de produits que la première fraction,. En effet, quatre taches mauves et trois jaunes ont été délimitées.

Figure 21 : Résultats d'analyse de la fraction Fm3 par CP.

Le chromatogramme de la fraction Fm3 a exposé une très grande richesse en produits, il a été détecté plus de composés dans les deux sens d'élution. En effet, sept taches marron, neuf taches jaunes, une tache bleue et cinq taches mauves sous la lumière UV. Avec la révélation ammoniacale, les fluorescences suivantes sont apparues : une marron, cinq jaunes et une vert-jaunâtre.

En réalité, dans la phase polaire (75% méthanol) beaucoup de produits polaires que nous supposons des polyphénols et/ou des flavonoïdes ont été élués.

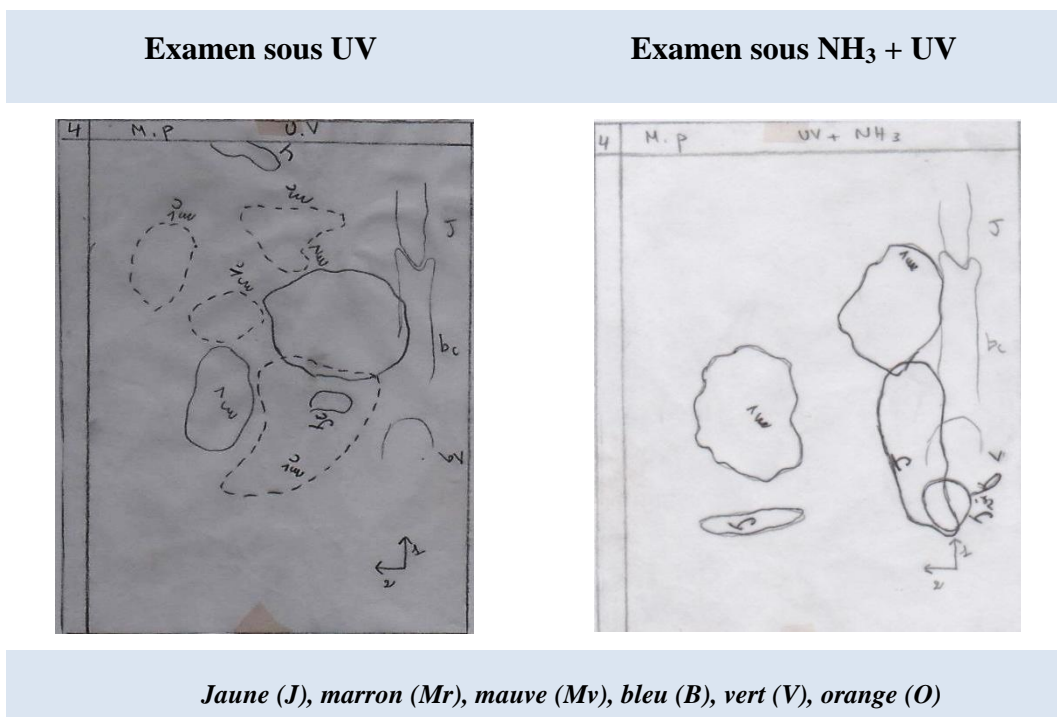


Figure 22 : Résultats d'analyse de la fraction Fm4 par CP.

Dans le cas de la fraction Fm4 figure 22, il est à noter que moins de couleurs ont été produites et même moins de composés retenus sur la ligne de départ de la deuxième élution. Ceci peut être expliqué par la diminution de concentration des produits absorbant à 254 nm et 366 nm dans cette fraction.

Globalement, son chromatogramme a montré une bonne séparation avec trois taches jaunes, deux taches bleues et cinq taches mauves, identifiées par UV et trois taches jaunes et deux taches mauves par les vapeurs NH₃ + UV.

En résumé, les chromatogrammes de ces fractions obtenus par CP, présentent une bonne séparation qui permet à une analyse qualitative des composés polaires.

Ils montrent une richesse considérable en substances. Les fluorescences qu'elles ont montrées permettent de supposer que ces fractions sont très riches en flavonoïdes. D'après les constatations enregistrées dans la littérature [35, 39, 40], les conclusions suivantes, concernant les classes flavonoides présentent, peuvent être tirées :

- Fm1 est plus riches en : flavone, (J, Mr, Mv, B), flavonol (J, Mr, B), chalcone (J, Mr, Mv), Dihydroflavonol (J, Mv) et d'autre...
- Fm2 est plus riches en : flavone, flavonol, chalcone, tanins condensés (plusieurs taches en Mr), isoflavone (les taches du couleur Mv) et d'autres...
- Fm3 riche en : flavone, flavonol, chalcone, flavanone (plusieurs taches J), aurone (J et la tâche en Verte) ...
- Fm4 riche en : dihydroflavonol (J et plusieurs taches en Mv), flavone (des taches J), isoflavone (Mv) et autres...

II.2.1.2. Cas de *B. cinerea* :

Pareillement, les fractions de *B. cinerea* ont été analysées par la chromatographie sur papier bidimensionnelle, sous les mêmes conditions opératoires précédentes.

Les chromatogrammes (CP) obtenus sont exposés sur les figures 23, 24, 25, 26 et 27 suivantes :

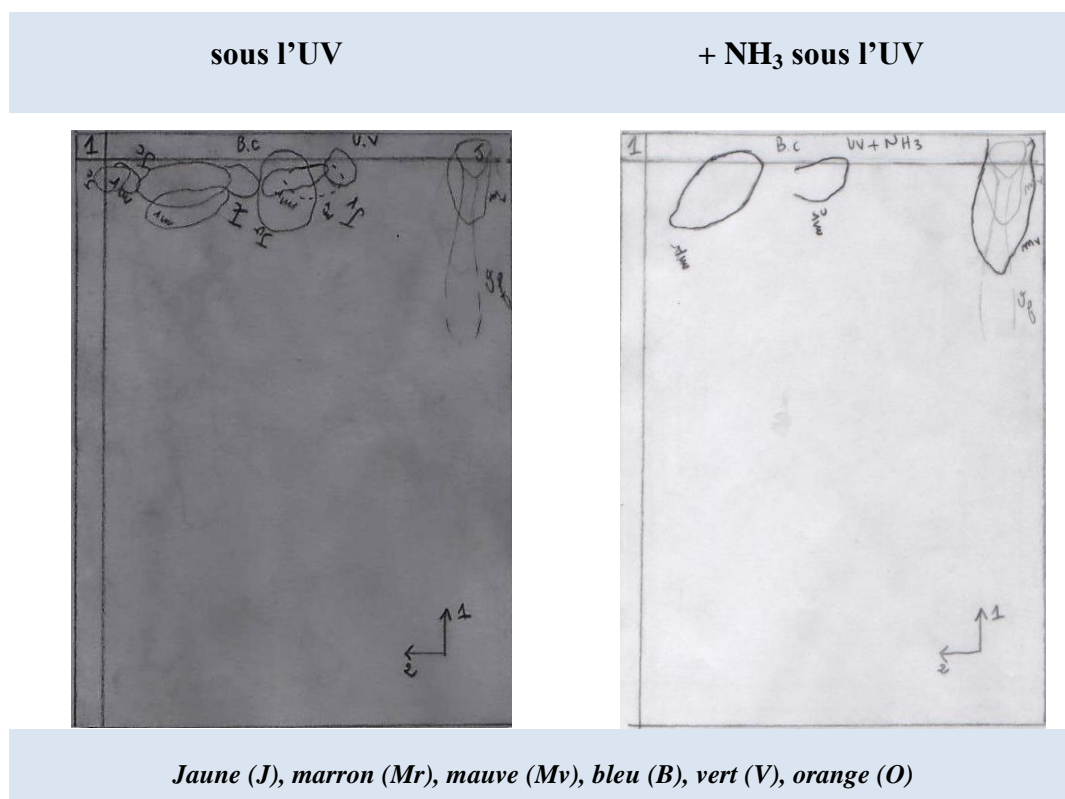


Figure 23 : Résultats d'analyse de la fraction Fb1 par CP.

D'après le système de son élution par la CC (20% éthanol), peu de produits polaires peuvent être contenus dans cette fraction Fb1. Ceci est apparu sur son chromatogramme qui a été montré une mauvaise séparation.

Figure 24 : Résultats d'analyse de la fraction Fb2 par CP.

D'après le chromatogramme de Fb2 (40% éthanol), il a été constaté une assez bonne séparation, avec une richesse en composition de nature polaire.

En effet, dans la phase organique on a noté sous la lumière UV, dix taches jaunes, trois taches vertes, une tache bleue, trois taches marron et une tache mauve. Les vapeurs de NH₃ plus avec lampe UV on a pu délimiter cinq taches jaunes, une verte, une bleue, une marron et une mauve.

Les fluorescences détectées supposent avoir une composition riche en produits phénoliques dans cette fraction.

Figure 25 : Résultats d'analyse de la fraction Fb3 par CP.

Il a été observé une bonne séparation sur le chromatogramme de Fb3, meilleure à celles de Fb1 et Fb2.

En effet, dans la phase organique les produits ont été élués mieux que dans la phase aqueuse, probablement ces constituants ne sont pas d'une grande polarité.

Permis de noter deuze taches jaunes, cinq taches marron, quatre taches bleues et deux taches l'un de vert et l'autre de mauve sous l'UV, trois taches jaunes et une tache marron à partir de vapeurs NH_3 + UV

Figure 26 : Résultats d'analyse de la fraction Fb4 par CP.

Le chromatogramme de la fraction Fm1, il a été détecté sous la lampe UV : quinze taches jaunes, treize taches marron, deux taches mauves et trois taches bleues. Sous les vapeurs de NH₃ plus la lumière UV permis de noter deux taches jaunes et une tache bleue.

Cette fraction est polaire que les autres fractions précédentes, beaucoup de produits polaires ont été élués par ce système d'élution qui contient 80% en éthanol.

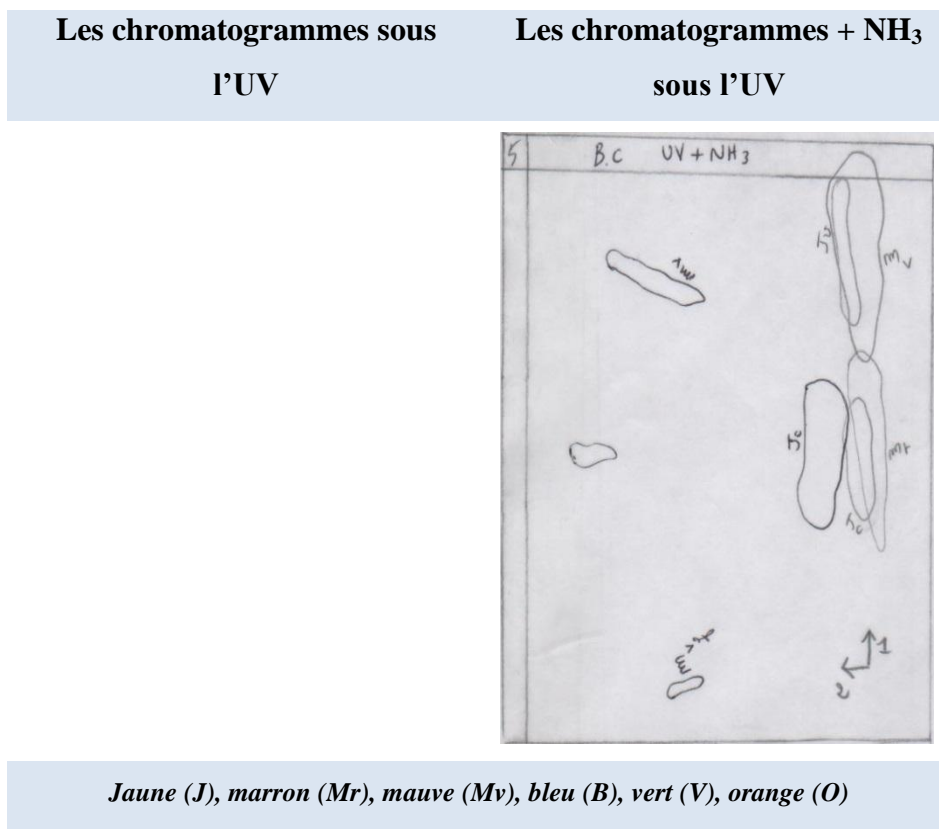


Figure 27 : Résultats d'analyse de la fraction Fb5 par CP.

Le chromatogramme dans la figure 27 celle de fraction Fb5 est plus polaire par rapport à les autres fractions. Il a été détecté sous la lampe UV : neuf taches jaunes, trois taches marron, trois taches mauves et deux taches bleues, par les vapeurs NH₃ plus UV signé quatre taches : deux jaunes et deux mauves.

En effet, beaucoup de produits polaires ont été élués par ce système d'élution qui est 100% éthanol.

Globalement, les chromatogrammes de CP présentent une bonne séparation des composés flavonoïdes.

D'après la littérature [15, 22], la relation entre la structure des flavonoïdes et les couleurs des taches obtenus sur les chromatogrammes, on peut dire que nos fractions sont riches en flavonoïdes.

- Fb1 est riche en : chalcone (J, Mr, Mv), dihydroflavonol (J, Mv), flavone, flavanone (J).
- Fb2 est plus riche en : aurone (la tache vert), flavone (J, Mr, Mv, B), flavonol (la tache B).
- Fb3 riche en : flavone, flavonol, aurone (la tache vert), flavonone ou peut-être avait un tanin condensée.
- Fb4 peut-être avait des : flavone, flavonol, flavanone (d'après les plusieurs taches jaune) ou peut-être possédait un tanin condensée (à savoir les plusieurs taches marron).
- Fb5 possiblement avait les : flavone, flavanone, dihydroflavonol (J, Mv).

II.2.2. Analyse par CCM :

Sur la lumière des résultats de séparation obtenus par la CP, des analyses complémentaires sur couches minces plus performantes ont été effectuées pour les deux extraits AcOEt des deux plantes ainsi que leurs fractions.

II.2.2.1. Cas de *M. pubescens* :

Sur des plaques analytiques (20 cm x 20 cm) recouvertes de cellulose, des éluions monodimensionnelles ont été réalisées pour les échantillons : Ex. AcOEt, Fm1, Fm2, Fm3, Fm4, sous les conditions opératoires suivantes :

- **Phase mobile:** AcOH/H₂O (10/90).
- **Révélation :** UV, UV + NH₃.

Les figures 28 et les tableaux 08, 09 résument les résultats d'analyse :

Tableau 08 : R_f et fluorescences des tâches détectées.

Ext. AcOEt/ φ _m : H ₂ O : AcOH 10%			
UV		UV+NH ₃	
Mauve		Mauve	
Bleu- claire		Bleu- claire	
Marron-foncé		Marron-foncé	
—		Mauve-claire	
Jaune-vert		Jaune-vert	
—		Mauve claire	
Marron- foncé		Marron- foncé	
Jaune-vert		Jaune-vert	
—		Marron	

Dans la phase aqueuse (AcOH 10%) avec un extrait moins polaire (AcOEt), il a été montré une bonne séparation avec un peu des produits polaires selon la fluorescence et les R_f des taches (deux taches marron foncé).

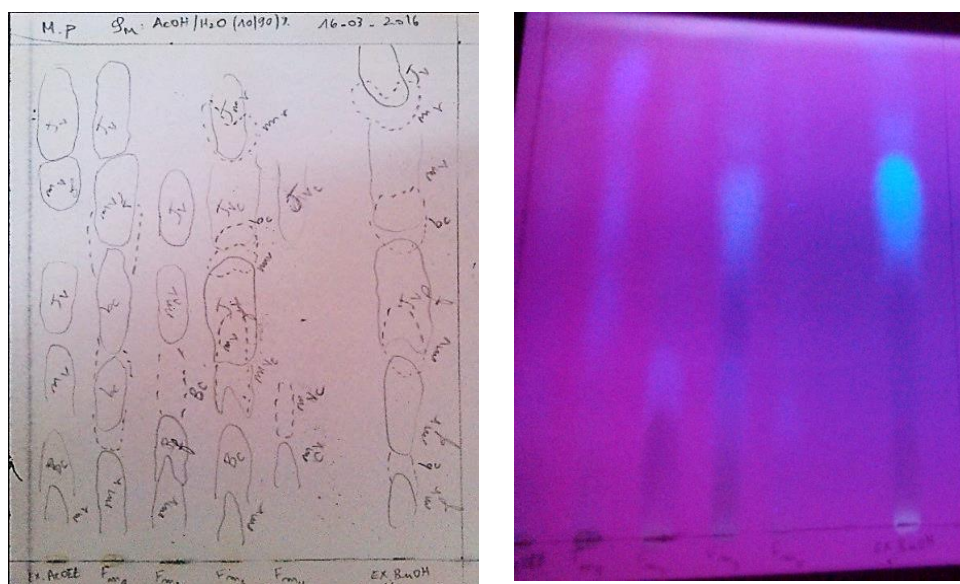
Tableau 09 : R_f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile AcOH 10%.

UV		UV+NH ₃		UV		UV+NH ₃	
Fm1				Fm2			
Mauve		Mauve		Mauve		Mauve	
Bleu- claire		Bleu- claire		Bleu- foncé		Bleu- foncé	
Mauve-foncé		Mauve-foncé		Bleu-mauve –		Bleu-mauve –	
Bleu- claire		Bleu- claire		claire		claire	
Jaune-claire		Jaune -claire		Bleu-mauve –		Bleu-mauve –	
Mauve-foncé		Mauve -foncé		claire		claire	
Jaune-vert		Jaune -vert		—		Jaune-vert	
—		Jaune -vert		Jaune-vert		Jaune-vert	
				—		Jaune-vert	
Fm3				Fm4			
Mauve		Mauve		Mauve-claire		Mauve-claire	
Bleu-claire		Bleu-claire		Marron-claire		Marron-claire	
—		Marron-claire		—		Jaune-vert	
Mauve		Mauve		Jaune-vert		Jaune-vert	
Jaune-vert -		Jaune-vert-					
foncé		Foncé					
Mauve		Mauve					
Bleu-claire		Bleu-claire					
Mauve		Mauve					
Jaune-marron		Jaune-marron					

Le tableau 09 présente les différentes taches des fractions, à fin, de signé que Fm1 est moins polaire, moins des produits polaires ont été élués (deux taches mauve foncé).

Les deux fractions Fm2 et Fm3 (moins polaire et polaire) un peu des produits polaires ont été élués par rapport ou 1^{er} fraction (une tâche jaune-vert foncé et celle de l'autre bleu foncé).

La fraction Fm4 est le plus polaire avec 100% méthanol marque une absence totale des produit polaire par rapport aux autres fractions (absence des taches foncé).



1= Sous l'UV et 2= sous l'UV+ NH₃. Phase mobile : AcOH/Eau (10/90).

Figure 28 : Résultats de CCM dans le cas de *M. pubescens*.

Généralement, Les chromatogrammes obtenus sur cellulose, présents une bonne migration et bonne séparations.

*

II.2.2.b. Cas de *B. cinerea* :

Sur des plaques analytiques (20 cm x 20 cm) recouvertes de cellulose, des éluions monodimensionnelles ont été réalisées pour les échantillons : Ex. AcOEt, Fb1, Fb2, Fb3, Fb4, Fb5, sous les conditions opératoires suivantes :

- **Phases mobile** :BWA (4/1/1) (v/v/v)
- **Révélation** : UV, UV + NH₃.

La figure 29 et les tableaux 10, 11 résument les résultats d'analyse :

Tableau 10 : R_f et fluorescences des tâches détectées.

Ext. AcOEt/φ _m : BWA (4/1/1) (v/v/v)			
UV		UV+NH ₃	
Jaune		Jaune	
Marron foncé		Marron foncé	
—		Marron claire	
Mauve- claire		Mauve- claire	
—		Mauve claire	
Jaune		Jaune	
Marron foncé		Marron foncé	

Dans la phase organique (BWA 4/1/1) avec un extrait moins polaire (AcOEt), il a été présenté une bonne séparation avec moins des produits polaires selon la fluorescence et les R_f des taches détecté dans le tableau 10 (deux tache marron foncé).

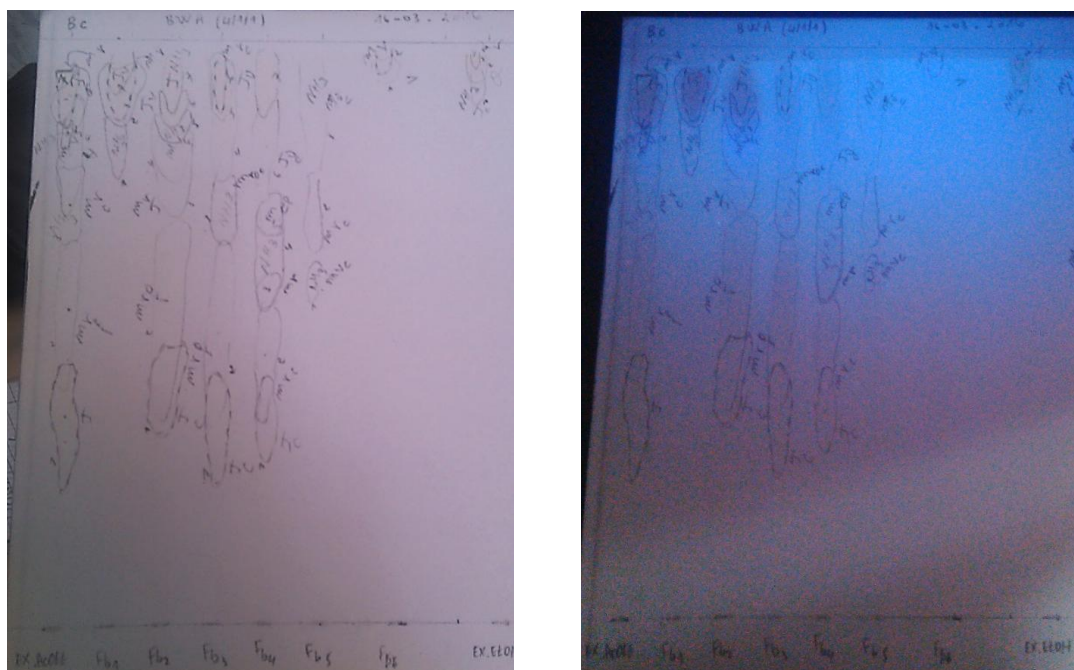
Tableau 11 : R_f et fluorescences des tâches détectées avec la phase mobile BWA (4/1/1).

Le tableau 11 présente les différentes taches des fractions, à fin, que Fb1 est moins polaire (20% éthanol), marque une absence des produits polaires ont été élués (aucun taches foncé).

Les trois fractions Fb2, Fb3 et Fb4 (de moins polaire à polaire avec 40, 60, 80 % d'éthanol) ont été signé la présence d'une petite quantité des produits polaires qu'ont été élués

par rapport ou 1^{er} fraction les trois taches marron foncé ont été remarquées sur plaque CCM le confirmés.

La fraction Fb5 est le plus polaire a été fractionné par 100% éthanol marqué aussi une absence totale des produit polaire comme la 1^{er} fraction (Fb1) (absence des taches foncé).



1= Sous l'UV et 2= sous l'UV + NH₃. Phase mobile : BWA (4/1/1)

Figure 29 : Résultats de la CCM dans le cas de *B. cinerea*.

II.3. Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante :

II.3.1. test de DPPH :

L'activité antioxydante des extraits et des fractions des deux plantes étudiées a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH.

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence.

Ou :

$$\text{- \%IP} = [(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Extraits}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Les pourcentages de piégeage des extraits et des fractions des deux plantes sont représentés graphiquement sur les figures 30 et 31.

II.3.1.1. Cas de *M. pubescens* :

Figure 30 : %IP des extraits et des fractions de *M. pubescens* déterminés par le test DPPH.

L'histogramme sur la figure 30 présente les pourcentages des pouvoirs d'inhibition des radicaux DPPH par l'extrait de l'AcOEt et ses fractions.

II.3.1.2. Cas de *B. cinerea* :

Cet histogramme (figure 31) présente les pourcentages d'inhibition (%IP) de l'extrait AcOEt et les fractions de *B.cinerea*. Globalement, les échantillons testés ont montré d'assez faibles valeurs, quoique la fraction Fb3 et Fb5 ont pu inhiber plus de 25% de radicaux DPPH.

Fb1 a montré un %IP presque nul (0.41%), en fait elle est obtenu par de l'éther de pétrole (100%) lors de son fractionnement, sûrement elle ne contient pas les produits recherchés, d'ailleurs son chromatogramme le confirme.

Généralement, la composition chimique des échantillons testés influe directement sur leur activité antioxydante notamment, si ces composés ont une bonne réputation telle que polyphénols et leurs dérivés. Sans oublier les effets synergiques entre ces substances. Ceci justifier peut être les résultats enregistrés dans les cas de *M. pubescens* et *B. cinerea*.

Pour s'affranchir de l'effet de la concentration sur les taux d'inhibition, les EC50 des extraits et de leurs fractions ont été déterminées. En comparaison avec la EC50 de l'acide ascorbique (0.45 µg/ml) mesurée dans les mêmes conditions, on a enregistré de grandes valeurs pour les extraits testés telles que celles des extraits AcOEt des deux espèces 1.22 µg/ml pour *M. pubescens* et 2.23 µg/ml celle de *B. cinerea*. Ceci exprime un faible à moyenne capacité antioxydante pour nos échantillons.

II.3.2. Test de FRAP :

Le test FRAP est l'un des plus utilisés pour déterminer la capacité antioxydante des extraits de végétaux. Il est basé sur leur capacité à réduire le fer ferrique Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺².

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un échantillon, l'acide ascorbique est souvent, utilisé comme antioxydant standard [37]. Dans cette étude, il a servi pour obtenir la courbe d'étalonnage exposée sur la figure 32 :

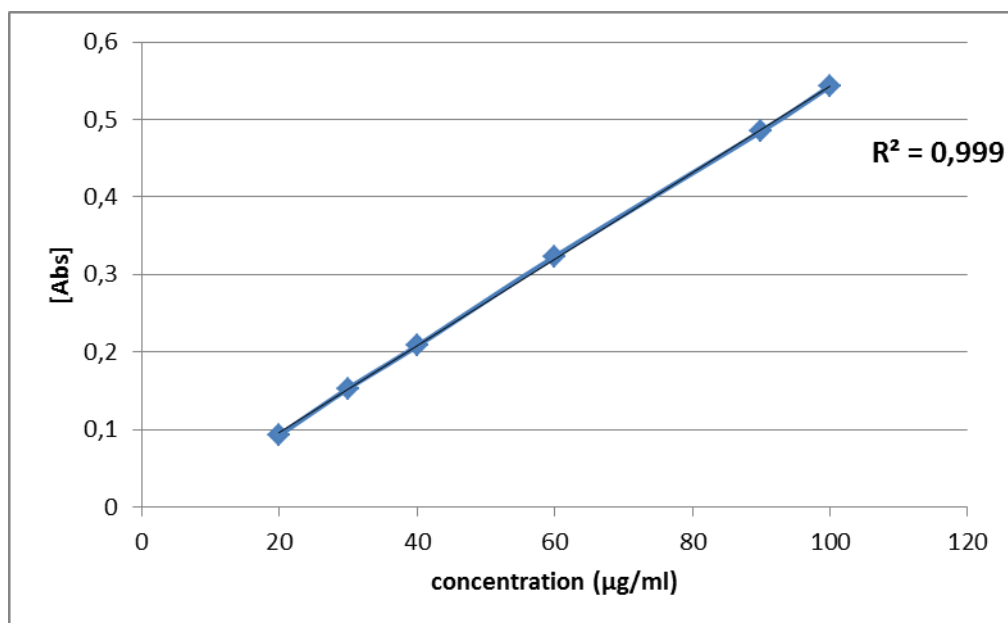


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique, obtenu par le test FRAP.

Les graphiques sur les figures 33 et 34 présentent les résultats de ce test appliqué sur des extraits et des fractions des deux plantes étudiées.

II.3.2.1. Cas de *M. pubescens* :

Le test de FRAP est parmi l'un des tests les plus répandus pour déterminer le pouvoir antioxydant des extraits naturels.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce thème est basé principalement sur la valorisation des deux Asteraceae : *Matricaria pubescens* (Desf.) et *Brocchia cinerea* (Del.) largement, connues dans les régions sahariennes d'Algérie par leurs vertus thérapeutiques et applications traditionnelles.

En outre, sur l'importance des polyphénols en tant qu'alternatifs naturels potentiellement bioactifs.

Dans cette étude, deux méthodes d'extraction ont été appliquées sur le matériel végétal sec de *M. pubescens* et celui de *B. cinerea* frais, par lesquelles on a ciblé les composés phénoliques qui peuvent être contenus dans ces plantes. La première consiste à une macération à chaud dans le méthanol 70%, suivie d'extraction liquide-liquide par l'AcOEt puis par le butanol. Tandis que la deuxième comprend des macérations à froid par des solvants, en graduant la polarité du CH_2Cl_2 jusqu'à l'éthanol, passant par l'AcOEt et le BuOH.

Les extraits d'AcOEt issus des deux plantes ont été soumis à des fractionnements grossiers par flash chromatographie, en utilisant deux systèmes d'élution, à savoir : Etp/EtOH (*B. cinerea*) et $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (*M. pubescens*). Par le premier on a obtenu cinq fractions et quatre dans le deuxième cas. Les extraits et leurs fractions ont été caractérisés par leurs couleurs et leurs masses.

Afin d'avoir une idée sur la composition phénolique des échantillons préparés, des analyses chromatographiques qualitatives par la CP et la CCM sur cellulose ont été effectuées.

La mise en évidence et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits et de leurs fractions, ont été réalisées par deux tests, couramment utilisés dans ce domaine. Le premier qui utilise le radical libre 2, 2 -diphényl-1- picrylhydrazyle (DPPH) et le FRAP a été le deuxième en utilisant 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ).

Le test DPPH a révélé que *B. cinerea* avec %IP équivalent à 16.1% est moins efficace à piéger les radicaux libres que *M. pubescens* dont le %IP égale à 39.82%. Pareillement, le test FRAP a montré que *B. cinerea* possède une capacité à réduire le fer plus faible avec 50 μg EAA/ml par rapport à celle d'extrait de *M. pubescens* avec 170 μg EAA/ml.

Notons enfin que ce travail nous a permis d'avoir une bonne expérience dans le domaine de la phytochimie, en terme de préparation d'extraits et leur fractionnement, analyse chromatographique et même de maîtriser les techniques des dosages spectrophotométrique.

Notre contribution va ouvrir des horizons de recherche très ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle dans les zones arides, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]. C. Bou Behri., « étude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimique », 2014, Univ. Biskra.
- [2]. M. Bouziane., « Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : *Cotula cinerea* de la région de Ouargla », 2002, thèse de Magister, Univ. Kasdi Marbeh, Ouargla.
- [3]. K. Dehak., « Cours de méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles Polyphénols », 2013, Univ. Kasdi Merbah, Ouargla.
- [4]. N. Belyagoubi., « Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien », 2012, thèse de Doctorat, Univ. Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.
- [5]. Les Propriétés Des Plantes Medicinales, site : <http://www.medicinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=3&page=3> ; Consulté le 05/05/2016.
- [6]. Z. Mohammedi., « Étude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen », 2011, thèse de Magister, Univ. Tlemcen.
- [7]. T. Midoun., « Extraction des composés phénoliques et études leurs activités antioxydants par le voltamètre cyclique », 2011, Univ. Kasdi Marbeh, Ouargla.
- [8]. A. Djouadi., « Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de deux variétés de *solan ummelongena* (L.) de la région d'El-oued par voltampérométrie cyclique et ondes carrées », 2012, Univ. EL-Oued.
- [9]. J. Brumeton., 1999, « Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales », *Technique et documentation lavoisier*, 3rd Edu, Paris.
- [10]. S. Akroum., « Etude Analytique et Biologique des flavonoïdes Naturels », 2011, Univ. Constantine.
- [11]. E. Demelin., « Le raisin et ses applications thérapeutiques », 2012, thèse de Doctorat, Univ. Limoges.
- [12]. B. Zarrour., « Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria Pubescens* (Asteracées) et évaluation de leur activité antioxydante », 2012, Mémoire master, Univ. Kasdi Merbah, Ouargla.
- [13]. K. Benarous., « Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase », Mémoire d'Ingénieur d'état, 2006, Univ. Amar Telidji, Laghouat.
- [14]. S. Mouffok., « Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens* (ssp.) *omphalotricha* (Asteraceae) », 2011, thèse de Magister, Univ. Batna.
- [15]. A. Manallah., « Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L », 2012, thèse de Magister, Univ. Ferhat Abbas, Sétif.

- [16]. N. Mezache., « détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille asteraceae: *senecio giganteus* (Desf.) et *chrysanthemum myconis* (L.) », 2010, thèse de Doctorat, Univ. Constantine.
- [17]. A. L'huilier., « Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia hook Fexoliver*, *Agauria polyphlia baker* (ericaceae), *tambourissa trichophylla baker* (monimiaceae) et *Embelia concinna baker* (myrsinaceae), 2007, thèse de Doctorat, Univ. Toulouse.
- [18]. A. Makhloufi., « Étude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales pouvant à l'état spontané dans la région de Bechar et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru », 2000, Univ. Aboubuker Beelkaid, Tlemcen.
- [19]. D. Robert, A. M. Catesson., 2000, « caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative », *J. Wolters Kluwer*, France Edition, 2, p : 320.
- [20]. C.A. Rice-Evans., N.J. Mille., P.G. Bolwell, P.M. Bramley, J.B. Pridham., 1995, «The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids», *J. Free Radical Research*, 22, p: 375-383.
- [21]. M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore., 2003, « Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? », *Journal mécanisme biochimique*, p : 91-96.
- [22]. N. Balasundram, K. Sundram, S. Samman., 2006, « Phenolic compound in plants and agri-industrial by products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses», *J. Food Chemistry*, 9, p: 191-203.
- [23]. B. Halliwell, J. M. Gutteridge., (1995), « The definition and measurement of antioxydante in biological system », *J. Free Radical Biol Med*, 18 (1), 125-126.
- [24]. A. Boutiti., « Etude phytochimique de l'espèce *Globularia Alypum L.* », 2004, mémoire Magister. Univ. Mentouri, Constantine.
- [25]. K. Bouhadjra., « étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge », 2011, thèse de Magister, Univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- [26]. F. Bouras et A. Houchi., « Etude de l'activité antioxydante de la plante *rumex vesicarius L.* », 2013, mémoire Master, Univ. Kasdi, Marbeh, Ouaragla.
- [27]. M. J. Laughton, B. Halliwell, P. J. Evans, J. Robin, S. Houl., 1989, «Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolic quercetin, gossypol and myricetin», 38 (17), p: 2859-2865.
- [28]. R. Apak, K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker, D. Özyurt., 2007, «Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay Molecules», 12, p: 1496-1547.
- [29]. D. M. Pereira, P. Valentão, J. A. Pereira, B. P. Andrade., 2009. *Phenolic: From chemistry to biology*, 14, p: 2202-2211.
- [30]. L. Iagnika., « étude photochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises », 2005, thèse de Doctorat, Univ. Louis Pasteur, Strasbourg.

- [31]. C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski., 2009, « Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », *J. Revue de génie industriel*, 4, p : 25-39.
- [32]. D. Huang, B. Ou, R. L. Prior., « The chemistry behind antioxidant capacity assays », 2005, *J. Agricultural and Food Chemistry*, 53, p: 1841-1856.
- [33]. A, Chahma., « Catalogue des plantes spontanées du sahara septentrional algerien », 2006, Dar elhoda, Ain mlila.
- [34]. K. Bouhadjra., « étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge », 2011, thèse de Magister, Univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- [35]. A.Meddour, M.Yahia, N.Benkiki, A.Ayachi., 2013, « Étude de l'activité antioxydante et antibacterienne des extraits d'un ensemble des parties de là fleurs du *Capparis Spinosa* (L.) », *J. Lebanese Science*, 14 (01), p : 49-60.
- [36]. G. Alyafi Alzhri., « Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field», 2007, Univ. Damascus.
- [37]. P. Ozenda., « Flore et végétation du Sahara », 1993, Paris.
- [38]. <http://www.desert-marocain.com/fr/phototheque.php> ; Consulté le 06/05/2016.
- [39]. <http://www.futura-sciences.com/photos/d/botanica-581/flore-maroc-cotula-cinerea-2255/> ; Consulté le 06/05/2016.
- [40]. S. Seghir, H. Dendougui, S. Benayache, F. Benayache., 2011, « Des substances bioactives de *Cotula cinerea* (Del.) », *Int. Les Plantes Médicinaes*, 2^{ème} séminaire.
- [41]. H. Dendougui, S. seghir, M. jay, F. benayache., 2012, « flavonoids from *Cotula cinerea* (Del.) », *Int. J. Med. Arom Plant*, 2 (4), p: 589-595.
- [42]. M. Markouk, H. B. Lazrek, M. Jana., 1999, *J. Fitotherapy research*, 13(3), p: 229-230.
- [43]. A. Radwane, M. Markouk, H. B. Lazrek, H. Amarouch, M. Jana., 1998, *J. Ann. Pharm.* 56(6), p: 314-316.
- [44]. M. Djellouli, A. Moussaoui, M. Benmahdi, L. ziane, A. Belbbes M. badraoui., 2013, « Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae Family) from the région of south-west Algéria», *J. Naturel Et Applied Sciences*, 2 (02), p: 159-165.
- [45]. A. A. El sayed, N. H. El Negoumy., 1987, *J. Nat. prod.*, 50, p: 519-520.
- [46]. G.H. Mahran., 1975, *Bull.Fac.Farm*, Cairo Univ, 14(1), p: 237-246.
- [47]. M. Tadrent, A. Kabouche, R. Touzani. Z. Kabouche., 2014, « Chemo types inestigation of essential oils of “Guertoufa” herbs», *J. Mater Environ Si*, 5(4), p: 1200-1205.
- [48]. M. Larhsini, M. Markouk, J. T. Jaouhari, K. Bekkouche, H. B. Lazrek, M. Jana., 1999, *J. Therapie*, 54 (6), p : 759-761.

- [49]. S.Mahdjar., « Contribution à l'étude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydant », 2013, mémoire Master, Univ. Kasdi Marbeh, Ouargla.
- [50]. <http://www.sahara-nature.com/plantes.php?aff=nom&plante=matricaria%20pubescens> ; Consulté 06/05/2016.
- [51]. N. Benkiki., « Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Mataricaria pubescens* et *Hyperium perforiatum* », 2006, Univ. Batana.
- [52]. M. Boudjouref., « Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* (L.) », 2011, thèse de Magister, Univ. Ferhat Abbes, Sétif.
- [53]. A. Makhloufi, A. Bonyahyaoui, N. Seddiki, L. Benlarbi, L. Mebarki., 2014, « phytochemical screening and anti-listerial activity of essential oil and crude extracts from some medicinal plants growing wild in béchar. », *J.of phto. therapy.*, 4(2), p: 95-100.
- [54]. M. Ould El Hadj Didi, M. Hadj-Mahammed, H. Zabeirou., 2003, « Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la region d'ouargla », *Courrier du Savoir*, 03, p : 50.
- [55]. R. R. Paris, H. Moyse., 1971, *Précis de matière Médicale*, Tome III. Paris.
- [56]. Poletti A., 1982, « Fleurs et Plantes Médicinales », De la chaux Nestle'S.A., Neuchâtel Suisse, p : 116.
- [57]. A.Makhloufi, H.Moussaoui, H.A.Lazouni « Antibacterial activité of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar ,south west of Algeria», 2012, *J. Medicinal Plants Research*, 6 (16), p: 3124-3128.
- [58]. Cours Des Méthodes Chromatographies, Site : Http://Www.Sciences-En Ligne.Com/DIST/Data/Ressources/Lic2/Chimie/Chi_Exp/Chromatographie/Meth_Chromato.Htm Consulté le 05/05/2016.
- [59]. N. Zeghad., « Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne », 2009, mémoire de Magister, Univ. Constantine.
- [60] K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, D. Hawkins Byrne, 2006, *J. Food Composition And Analysis*, 19, p: 669-675.

Résumé

Au cours de ce travail, les polyphénols contenus dans les deux Asteraceae *Brocchia cinerea* (Del.) et *Matricaria pubescens* (Desf.) ont été ciblés par deux méthodes d'extraction en utilisant différents solvants. Les extraits obtenus par l'acétate d'éthyle ont été choisis pour le fractionnement sur colonne. En effet, quatre fractions sont obtenues de *M. pubescens* et cinq de *B. cinerea*.

Les analyses chromatographiques CP et CCM effectuées sur les extraits et leurs fractions ont montré, qualitativement, leur richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes de différentes classes.

La mise en évidence et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces échantillons, ont été réalisées par deux tests, couramment utilisés dans ce domaine. Le premier qui utilise le radical libre 2, 2-diphényl-2 - picrylhydrazyle (DPPH) et le FRAP a été le deuxième en utilisant 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ).

Le test DPPH a révélé que *B. cinerea* avec %IP équivalent à 16.1% est moins efficace à piéger les radicaux libres que *M. pubescens* dont le %IP égale à 39.82%. Pareillement, le test FRAP a montré que *B. cinerea* possède une capacité à réduire le fer plus faible avec 50µg EAA/ml par rapport à celle d'extrait de *M. pubescens* avec 170 µgEAA/ml.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, *Brocchia cinerea*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

ملخص

خلال هذا العمل استهدفت الفينولات المتعددة الموجودة في الجنسين النباتيين: *Matricaria pubescens* (Desf.) و *Brocchia cinerea* (Del.) وذلك باستخدام طريقتين مختلفتين للاستخلاص بمختلف المذيبات. تم تجزئة المستخلصات المحصلة عليها بواسطة المذيب AcOEt باستخدام كروماتوغرافيا العمود (CC) وذلك للحصول على أربعة اجزاء ل *M. pubescens* و خمسة اجزاء ل *B. cinerea*. نتائج كل من الكروماتوغرافيا الطبقة رقيقة CCM والورقية CP التي أجريت على المستخلصات أظهرت كسورا, نوعيا , غنية بالمركبات الفينولية بما في ذلك الفلافونيدات من فئات مختلفة. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للعينات باستخدام اثنين من الاختبارات الشائع استخدامها في هذا المجال , الأول(DPPH) باستخدام الجذور الحرة 2, 2-diphényl-1- picrylhydrazyle والثاني FRAP المستخدم ل : 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ). كشف اختبار DPPH أن مستخلص *B.cinerea* بنسبة 16.1%, ضعيف القدرة على تثبيت الجذور مقارنة بمستخلص *M. pubescens* (39.82%). و بالمثل فإن اختبار ال FRAP أظهر أن مستخلص *M. pubescens* بكمية 170 µg EAA/ ml أكثر فعالية على ارجاع الحديد مقارنة ب مستخلص *B. cinerea* الذي لم يظهر سوى 50 µg EAA/ ml.

الكلمات المفتاحية: *Matricaria pubescens*, *Brocchia cinerea* بوليفينولات، الفلافونيدات، نشاط مضادة للأكسدة.